

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa

Atena
Editora

Ano 2019

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Lorena Prestes
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^a Dr^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof^a Dr^a Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^a Dr^a Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	<p>Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa / Organizadora Renata Mendes de Freitas. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Ciências Biológicas. Campo Promissor em Pesquisa; v. 1)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-781-9 DOI 10.22533/at.ed.819191311</p> <p>1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Freitas, Renata Mendes de. II. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa” é uma obra composta de dois volumes que tem como foco principal a discussão científica atual através de trabalhos categorizados e interdisciplinares abordando pesquisas, relatos de casos, resumos ou revisões que transitam nas diversas áreas das Ciências Biológicas.

A grande diversidade de seres vivos e a grande especialização das áreas de estudo da biologia, a tornam uma ciência muito envolvente, que consegue abranger todas as relações interpessoais e uma grande interdisciplinaridade com outras áreas.

O primeiro volume foi organizado com trabalhos e pesquisas que envolvem a área da Saúde em diferentes Instituições de Ensino e Pesquisa do País. Logo, neste volume poderá ser encontrado pesquisas relacionadas a anatomia humana, plantas medicinais, arboviroses, atividades antimicrobianas e antifúngicas, biotecnologia e tópicos relacionados à segurança alimentar e cuidados em saúde. O destaque desse volume é para compostos naturais que podem ser utilizados no combate e controle de diversos microorganismos.

Já o volume dois, é composto por trabalhos que envolvem o Ensino de Ciências e pesquisas científicas em Biologia, tendo destaque os trabalhos relacionados à Ecologia e Conservação ambiental, e também a divulgação da Educação Especial.

A crescente preocupação com o meio ambiente e o consumo sustentável trazem reflexões que atingem nossa fauna e flora; os atuais processos de ensino e aprendizagem oferecem um plano de fundo às discussões referentes ao melhoramento das abordagens educacionais nas diferentes esperas de ensino.

Conteúdos relevantes são, deste modo, apresentados e discutidos com a proposta de fundamentar e apoiar o conhecimento de acadêmicos, mestres e doutores das amplas áreas das Ciências Biológicas.

Renata Mendes de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A FISIOTERAPIA NA REABILITAÇÃO FUNCIONAL DO PORTADOR DE MALFORMAÇÃO ARTERIOVENOSA CEREBRAL	
Camila Ferreira Alves Natália Ramalho Figueredo Diana Marrocos de Oliveira Lara Beluzzo e Souza Priscila Andrade da Costa Sting Ray Gouveia Moura Patrícia Cordeiro Oliveira Rodrigo Canto Moreira	
DOI 10.22533/at.ed.8191913111	
CAPÍTULO 2	8
ANÁLISE DAS TÉCNICAS DE CONSERVAÇÃO DE CADÁVERES PARA O ESTUDO EM ANATOMIA HUMANA	
Rodrigo Montenegro Barreira Natália Stefani de Assunção Ferreira Alan Hílame Diniz Gomes Afrânio Almeida Barroso Filho João Rocha de Lucena Neto	
DOI 10.22533/at.ed.8191913112	
CAPÍTULO 3	13
ACUPUNTURA COMO TERAPIA PARA O ESTRESSE	
Ricardo Morad Bassetto Isabel Cristina Céspedes Regina Celia Spadari	
DOI 10.22533/at.ed.8191913113	
CAPÍTULO 4	26
ATENÇÃO FARMACÊUTICA AOS PACIENTES COM GLAUCOMA: UMA REVISÃO DE LITERATURA	
Jeane Cristina Viotti Hidalgo Simone Aparecida Biazzi de Lapena Fernanda Malagutti Tomé	
DOI 10.22533/at.ed.8191913114	
CAPÍTULO 5	34
ATUAÇÃO DA VITAMINA D E SEU RECEPTOR SOBRE PROCESSOS IMUNOLÓGICOS E PERFIS IMUNOGENÉTICOS RELACIONADOS À HANSENÍASE	
Jasna Leticia Pinto Paz Letícia Siqueira Moura Karla Valéria Batista Lima Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima	
DOI 10.22533/at.ed.8191913115	

CAPÍTULO 6 44

AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS TRATADOS COM EXTRATO METANÓLICO DE PLANTA MEDICINAL

Dayane de Melo Barros
Priscilla Gregorio de Oliveira Sousa
Danielle Feijó de Moura
Marton Kaique de Andrade Cavalcante
Merielly Saeli de Santana
Marllyn Marques da Silva
Silvio Assis de Oliveira Ferreira
Laryssa Rebeca de Souza Melo
Gisele Priscilla de Barros Alves Silva
José André Carneiro da Silva
Ana Cláudia Barbosa da Silva Padilha
Isla Ariadny Amaral de Souza Gonzaga
Roberta de Albuquerque Bento da Fonte
Tamiris Alves Rocha

DOI 10.22533/at.ed.8191913116

CAPÍTULO 7 52

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Moringa oleifera*: APLICAÇÕES NA SAÚDE E POTENCIAL TECNOLÓGICO

João Xavier da Silva Neto
Ana Paula Apolinário da Silva
João Paulo Apolinário da Silva
Luciana Freitas Oliveira
Thiago Fernandes Martins
Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves Moura
Guilherme Angelo Lobo
Lucas Pinheiro Dias
Bruno Bezerra da Silva
José Ytalo Gomes da Silva
Ana Cláudia Marinho da Silva
Arnaldo Solheiro Bezerra

DOI 10.22533/at.ed.8191913117

CAPÍTULO 8 59

AVALIAÇÃO *IN VITRO* e *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS SOBRE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Amanda Pohlmann Bonfim
Andressa Gimenes Braga
Karina Mayumi Sakita
Daniella Renata Faria
Glaucia Sayuri Arita
Franciele Abigail Vilugron Rodrigues Vendramini
Isis Regina Grenier Capoci
Marcos Luciano Bruschi
Érika Seki Kioshima
Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

DOI 10.22533/at.ed.8191913118

CAPÍTULO 9	72
BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE EM MOSQUITOS ADULTOS	
Fabíola da Cruz Nunes	
Maria de Fátima Vanderlei de Souza	
Diégina Araújo Fernandes	
Maria Denise Leite Ferreira	
Louise Helena Guimarães de Oliveira	
Gustavo De Figueiredo	
Hyago Luiz Rique	
DOI 10.22533/at.ed.81919131119	
CAPÍTULO 10	86
DIAGNÓSTICO, IMPLANTAÇÃO E AVALIAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO EM UMA CANTINA UNIVERSITÁRIA DE RIBEIRÃO PRETO – SP	
Raphael Petrorossi Pita	
Luciano Menezes Ferreira	
DOI 10.22533/at.ed.81919131110	
CAPÍTULO 11	98
EDIÇÃO GENÉTICA ATRAVÉS DO CRISPR PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS	
Jonas Ribeiro da Rosa	
Fernanda Marconi Roversi	
Lucas de Souza Ramalhaes Feitosa	
DOI 10.22533/at.ed.81919131111	
CAPÍTULO 12	117
ESTRATÉGIAS CIRÚRGICAS QUE PROMOVEM A REGENERAÇÃO DO NERVO PERIFÉRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
Pedro Walisson Gomes Feitosa	
Tatianne Régia Gomes Ribeiro	
Estelita Lima Cândido	
João Antônio da Silva Neto	
Esther Barbosa Gonçalves Felix	
Janaina Carneiro Lima	
Hellen Karen Almeida Pereira	
Iago Sávyo Duarte Santiago	
Yasmin de Alencar Grangeiro	
Maria Stella Batista de Freitas Neta	
Maria Andrezza Gomes Maia	
DOI 10.22533/at.ed.81919131112	
CAPÍTULO 13	134
MATURAÇÃO DE BIOFILME, DISPERSÃO CELULAR E RESISTÊNCIA À ANFOTERICINA B DE UMA CEPA DO COMPLEXO <i>Fusarium solani</i> SOBRE CATETER VENOSO	
Alana Fernanda Luzia Salvador	
Flavia Franco Veiga	
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski	
Melyssa Fernanda Norman Negri Grassi	
DOI 10.22533/at.ed.81919131113	

CAPÍTULO 14 140

NOTIFICAÇÃO DOS EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO EM CRIANÇAS DE 0 A 5 ANOS

Zannety Conceição Silva do Nascimento Souza

Tuany Peixoto Ramos

Raquel Vieira Farias

Karine Emanuelle Peixoto de Souza

Juliana de Oliveira Freitas Miranda

Maricélia Maia de Lima

DOI 10.22533/at.ed.81919131114

CAPÍTULO 15 153

NOVAS TERAPIAS E ALTERNATIVAS PARA O MELANOMA EM ESTÁGIOS AVANÇADOS

Layene Caetano Ireno

Karina Furlani Zoccal

Cristiane Tefé-Silva

DOI 10.22533/at.ed.81919131115

CAPÍTULO 16 160

OS BENEFÍCIOS DO USO DAS FOLHAS DE *M. EMARGINATA* (ACEROLEIRA) PARA A SAÚDE ORGÂNICA

Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Bárbara Rafaela da Silva Barros

Dayane Kelly Dias do Nascimento

Ricardo Sérgio da Silva

Lethícia Maria de Souza Aguiar

Georon Ferreira de Sousa

Iranildo José da Cruz Filho

DOI 10.22533/at.ed.81919131116

CAPÍTULO 17 175

PROTEÍNA $MO-CBP_2$ EXERCE ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE *CANDIDA* E OCASIONA INIBIÇÃO DE H^+ -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA

João Xavier da Silva Neto

Larissa Alves Lopes

Eva Gomes Moraes

Francisco Bruno Silva Freire

Ana Paula Apolinário da Silva

Bruno Bezerra da Silva

João Paulo Apolinário da Silva

Luciana Freitas Oliveira

Thiago Fernandes Martins

Claudia Johana Pérez Cardozo

Johny de Souza Silva

Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa

DOI 10.22533/at.ed.81919131117

CAPÍTULO 18 182

OS EFEITOS DA MICROCORRENTE E DO OLIGOELEMENTO SELÊNIO NAS DISFUNÇÕES TECIDUAIS DA FACE DO TABAGISTA

Cristiane Rissatto Jettar Lima

Anne Dryelle De Souza Silva

Isabela Mayara Souza Santos

Edneia Nunes Macedo

Jovira Maria Sarraceni

Luciana Marcatto Fernandes Lhamas

Suelen Moura Zanquim Silva
DOI 10.22533/at.ed.81919131118

CAPÍTULO 19 194

PLANTAS MEDICINAIS COM POTENCIAL LEISHMANICIDA NA AMAZÔNIA

Arnold Patrick de Mesquita Maia
Beatriz dos Reis Marcelino
Daniely Alves Almada
Tainá Soares Martins
Taís Amaral Pires dos Santos
Josiane do Socorro Vieira
Sebastião Ribeiro Xavier Júnior
Silvane Tavares Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.81919131119

CAPÍTULO 20 207

REABILITAÇÃO NEUROMOTORA PARA O PACIENTE COM TRAUMA RAQUIMEDULAR - SÍNDROME DE BROWN SÉQUARD

Diana Marrocos de Oliveira
Natália Ramalho Figueredo
Camila Ferreira Alves
Priscila Andrade da Costa
Sting Ray Gouveia Moura
Patrícia Cordeiro Oliveira
Rodrigo Canto Moreira

DOI 10.22533/at.ed.81919131120

CAPÍTULO 21 215

TÉCNICAS DE CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE INSETÁRIOS DE MOSQUITOS *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: CULICIDAE)

Fabiola da Cruz Nunes
Louise Helena Guimarães de Oliveira
Hyago Luiz Rique
Gabriel Joventino do Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.81919131121

CAPÍTULO 22 225

TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Mansoa difficilis* E *Hippocratea volubilis*

Mayara Cristina Neves Abel
Letícia Pezenti
Nathani Fernandes Alves Silva
Bruno Henrique Feitosa
Ana Francisca Gomes da Silva

DOI 10.22533/at.ed.81919131122

CAPÍTULO 23 232

UTILIZAÇÃO DE TÍBIAS SECAS DE ADULTOS NA ESTIMATIVA DO SEXO E IDADE POR MEIO DE MEDIDAS LINEARES

Rinaldo Alves da Silva Rolim Junior
Amanda Santos Meneses Barreto
Bruna Maria Barros de Jesus
Gabrielle Souza Silveira Teles
Kellyn Mariane Souza Sales
Mylla Crislley Trindade Carvalho
Renata Queiroz Corrêa

ErasmO de Almeida Júnior

DOI 10.22533/at.ed.81919131123

SOBRE A ORGANIZADORA.....	234
ÍNDICE REMISSIVO	235

EDIÇÃO GENÉTICA ATRAVÉS DO CRISPR PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS

Jonas Ribeiro da Rosa

Universidade São Francisco
Bragança Paulista-SP

Fernanda Marconi Roversi

Universidade São Francisco
Bragança Paulista-SP

Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP)
Campinas-SP

Lucas de Souza Ramalhaes Feitosa

Universidade São Francisco
Bragança Paulista-SP

RESUMO: A descoberta dos genes, da molécula de DNA e a compreensão das suas funções (coordenação do desenvolvimento, funcionamento do metabolismo dos seres vivos) estimularam o meio científico a buscar, compreender e manipular o código fundamental da vida. Desse modo, o desenvolvimento de técnicas de edição de genes está possibilitando a modificação de mutações genéticas, auxiliando na identificação de possíveis tratamentos que resultariam na cura permanentemente de certas patologias, trazendo benefícios à saúde pública. Uma dessas técnicas de edição é a nuclease programável CRISPR/cas9 que possui como função a alteração de um determinado gene anômalo e, conseqüentemente, permitindo a correção de mutações gênicas, a modulação da

expressão gênica, a caracterização fenotípica de uma doença, o tratamento de doenças infecciosas, o desenvolvimento de culturas agrícolas resistentes a pragas ou a infecções, o aumento da imunidade viral em bactérias utilizadas na produção de alimentos, entre outras aplicabilidades. Alguns estudos com a CRISPR/cas9 mostram resultados promissores no tratamento de doenças monogênicas, como na acondroplasia, hemofilia e talassemia beta. Todavia, o desenvolvimento dessa metodologia propiciou o surgimento de diversos misticismos e debates éticos / filosóficos devido a associação com possíveis manipulação do genoma humano. As filosofias transumanistas, movimento intelectual com a premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar as limitações humanas tem incentivado o estudo da técnica CRISPR/cas9. Vale salientar a necessidade da desmistificação da edição genética, buscando informar o seu funcionamento e os impactos socioeconômicos associados.

PALAVRAS-CHAVE: (1) Edição-gênica 1; (2) CRISPR/Cas9 2; (3) Tratamento.

ABSTRACT: The gene and DNA molecule discovery as well as the their functions comprehension highlighted the importance of scientific understanding and manipulation of the

live fundamental code. Thus, the development of gene editing techniques enabled the modification of genetic mutations the identification of possible treatments that possible results in some pathologies cure, bringing benefits to Public health. One of these editing techniques is the programmable nuclease CRISPR/Cas9, which can alter mutated gene and, consequently, allowing the correction of these gene mutations, the modulation of gene expression, the phenotypic disease characterization, the treatment of infectious diseases, the development of agricultural crops resistant to pests or infections, the increase of viral immunity in bacteria used in the production of food, among other explicabilities. Some studies with CRISPR/Cas9 show promising results in the treatment of monogenic diseases, such as achondroplasia, haemophilia and beta thalassemia. Although, the development of CRISPR methodology led to the emergence of several ethical and philosophical debates due to the association with possible manipulation of the human genome. The transumanist philosophies, intellectual movements that analyze and improve the human condition from the use of science and technology to optimize cognitive capacity and overcome human limitations has encouraged the study of the technique CRISPR/Cas9. It is very important the demystification of genetic edition, seeking to inform the functionality and associated socioeconomic impacts.

KEY WORDS: (1) Gene-Editing 1; (2) CRISPR / Cas9 2; (3) Treatment.

1 | INTRODUÇÃO

Os aspectos da vida humana foram, em algum grau, reformulados pelo desenvolvimentotecnológico, incluindo amaneiradelocomoção, buscadeinformações, comunicação e o tratamento de doenças. Inicialmente, esse desenvolvimento tecnológico, através de ações que modificam o curso natural de uma doença, atenuou o ciclo celular dos microrganismos, que poderia levar a invalidez, incapacitação, recuperação ou óbito (CLARK & LEAVELL, 1976). A evolução tecnológica auxiliou na utilização de seres vivos em processos industriais (biotecnologia), possibilitando o manuseio de agentes biológicos ou de seus derivados para otimizar processos (MALAJOVICH, 2016). O desenvolvimento de tecnologia destinada à fabricação de medicamentos reduziu o processo de seleção natural de micróbios e humanos, em que o mais apto sobrevive (CLARK, 2010). A interação entre um agente biológico e o ser humano, era potencialmente letal. Em 1941, ocorre à síntese e comercialização da penicilina, marco para o tratamento de doenças e diminuição na mortalidade decorrente da seleção natural.

A descoberta do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e a posterior compreensão da sua função na coordenação, no desenvolvimento e no funcionamento do metabolismo dos seres vivos estimularam o meio científico a buscar, compreender e manipular a código fundamental da vida. A capacidade de editar tal código está relacionado à capacidade de corrigir defeitos, prevenir e curar permanentemente doenças. Antes do anos 2000, as ferramentas de manipulação e edição genética existentes, embora viáveis, eram pouco eficientes ou muito laboriosas (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014).

No início da década de 2000, estudos sobre o sistema de defesa de bactérias contra bacteriófagos levou a descoberta das Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Inter espaçadas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) ou CRISPR, sistema de defesa adaptativo de bactérias e arqueias, em que sequências de material genético viral ou plasmidial, tornando-se análogo a uma espécie de “memória” de invasões anteriores. As CRISPRs podem ser traduzidas em pequenas sequências de Ácido Ribonucleico (RNA) que se associam a enzimas denominadas *CRISPR associated proteins* (Cas). O sistema CRISPR identifica sequências de DNA complementares ao material genético previamente modificado por infecções anteriores e a enzima nuclease associada, Cas9, faz a clivagem do DNA (BARRANGOU & HORVATH, 2012). Embora apresentem mecanismos de atuação semelhantes, existe uma imensa variedade nos sistemas CRISPR/Cas com especificidades e características distintas. Isso se deve a vasta variabilidade genéticas de bactérias e arqueias e a constante coevolução delas e seus nêmeses, os bacteriófagos (ROSSI & ALMEIDA, 2010).

Em decorrência das grandes mudanças tecnológicas, surgiram, principalmente no final do século XX, movimentos filosóficos que buscam entender os impactos e estimular ou conter a implementação desses avanços. Dentre as ramificações desses pensamentos, está o transumanismo, movimento intelectual que tem como premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar limitações físicas e psicológicas humanas, defendendo alterações nas estruturas biológicas que permitam reduzir o sofrimento, não só entre humanos, mas entre todos os seres vivos (MORE, 1990).

O presente trabalho teve como principal descrever o tratamento de doenças por meio da edição genica através do sistema CRISPR/Cas, os seus possíveis desdobramentos filosóficos e consequências para saúde pública, tentando desmistificar a edição genica e seu uso.

2 | OS ÁCIDOS NUCLEICOS E A INFORMAÇÃO GENÉTICA

2.1 O material genético e a hereditariedade

Por muito tempo, acreditou-se que as informações hereditárias eram transmitidas através das proteínas, uma vez que apresentavam estruturas complexas quando comparadas aos ácidos nucleicos. Na década de 1940, alguns experimentos foram realizados, gerando questionamentos sobre a teoria das proteínas como propagadoras das informações genéticas. Com o teste realizado com a bactéria da espécie *Pneumococos* foi possível identificar mecanismos e moléculas relacionados ao processo de transformação bacteriana, isto é, capacidade em assimilar características de outras bactérias mortas. Com a cepa específica de *Pneumococos* que sintetizava uma cápsula bacteriana, foi realizado a separação de seu extrato

celular em proteínas, DNA, RNA, lipídeos e carboidratos. Cada uma desses produtos foi adicionada a culturas de outra cepa de Pneumococos que não produzia a cápsula. O resultado mostrou que apenas a fração contendo DNA possibilitou a recuperação da capacidade bacteriana em formarem a cápsula, inferindo-se que o DNA desempenhava um papel imprescindível na formação e transmissão de características (WATSON *et al.*, 2015).

A estrutura química da molécula de DNA é composta por uma dupla fita, antiparalela, helicoidal formada por um extenso polímero de nucleotídeos. A cadeia principal é formada por moléculas de pentose (desoxirribose) e fosfato intercalados e unidos por ligações covalentes do tipo fosfodiéster. A molécula da pentose está ligada aos compostos cíclicos contendo nitrogênio, as chamadas bases nitrogenadas, as quais fazem a ligação entre uma fita e sua fita complementar através de pontes de hidrogênio (Figura 1). Existem quatro tipos de bases nitrogenadas na molécula de DNA a Timina (T), Adenina (A), Guanina (G) e Citosina (C).

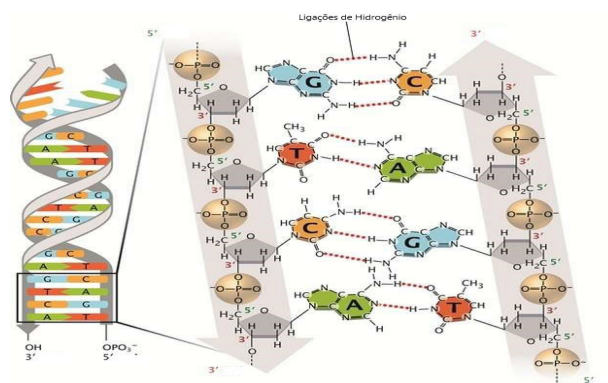


Figura 1: A estrutura bioquímica da molécula de DNA. O DNA é composto por unidades fundamentais denominadas nucleotídeos, estrutura composta por um grupamento fosfato, uma pentose e uma base nitrogenada. É uma molécula dupla fita, antiparalela, helicoidal, ligadas entre si por pontes de hidrogênio.

Fonte: imagem adaptada a partir do site Biophilia: <https://bit.ly/2rfPGYV>

O DNA é uma molécula muito longa que se associa a proteínas, histonas, gerando um complexo DNA-Proteína chamado de cromatina, com diferentes estados de compactação. A cromatina em seu estado mais compactado é chamada de cromossomo (DE ROBERTIS & HIB, 2006). O DNA é uma estrutura replicante e também capaz de ser transcrito em fita de RNA que, por sua vez é traduzida em cadeias polipeptídicas que darão origem às proteínas (dogma central da biologia molecular) (WATSON *et al.*, 2015). Assim, o DNA é uma molécula que contém o código de síntese para as estruturas que direta ou indiretamente compõe os seres vivos (Figura 2).

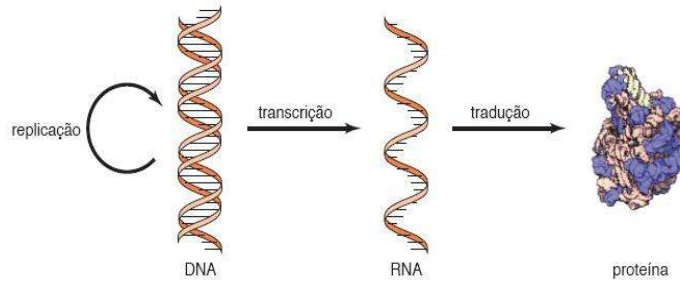


Figura 2: Dogma central da biologia molecular. O fluxo das informações genéticas: uma molécula de DNA pode se replicar gerando cópias idênticas de si mesma, pode ser transcrita em uma molécula de RNA que por sua vez é traduzida em uma proteína.

Fonte: imagem adaptada a partir do site <https://bit.ly/2QcjcT>

A replicação é a capacidade de duplicação do DNA sintetizando cópias de si mesma. Para que ocorra a duplicação do DNA é necessária a separação das duas fitas originais, chamadas de fitas parentais e a síntese de duas novas fitas, tendo as parentais como molde. O processo de replicação é, um processo semiconservativo, uma vez que cada nova fita de DNA contém uma fita parental e uma fita recém-sintetizada (WATSON et al., 2015).

O processo de transcrição corresponde ao DNA como molde para a síntese de uma fita de RNA, . O RNA também é polímero de nucleotídeos que tem sua cadeia principal composta por moléculas de pentose ribose e fosfato intercaladas e unidos por ligações fosfodiéster, além de bases nitrogenadas ligadas a molécula de pentose. A base nitrogenada uracila (U) substitui a timina (T) presente no DNA (DE ROBERTIS & HIB, 2006). Nos eucariotos, o RNA geralmente tem uma estrutura em forma de fita simples, enquanto que em alguns vírus essa molécula pode apresentar estrutura de dupla fita. Existem 3 tipos principais de RNA, o RNA ribossômico (RNAr) que origina os ribossomos, organelas citoplasmáticas que atuam na síntese de proteínas, o RNA transportador (RNAt), que transportam os aminoácidos até o ribossomo e o RNA mensageiro (RNAm) que guia na ordem de encaixe dos aminoácidos para a síntese de proteína. A síntese de proteína, tradução, corresponde a última etapa de transferência da informação contida no DNA (WATSON *et al.*, 2015).

Nos eucariotos a molécula de RNA é inicialmente sintetizada em um estado “imaturo” que é processado para gerar uma sequência de códons que sintetizam proteínas funcionais. O processamento da molécula de RNA é composto por três etapas, a adição de CAP, o splicing e a adição da cauda poliA (Figura 3). A adição do CAP ocorre após o início da síntese do RNAm e tem como funções a proteção contra a ação de enzimas que clivam o RNA, a interação com complexos proteicos que exportam esse RNAm para o citosol da célula e o acoplamento da molécula de RNAm no ribossomo. O processo de *splicing* consiste na retirada de sequências de nucleotídeos não codificadores, os introns, e a ligação de sequências codificadoras, os exons. A adição da cauda poliA corresponde a incorporação de uma sequência

de nucleotídeos de adenina na porção 3' do RNA, que, apesar de sua função ainda ser pouco compreendida, especula-se que possivelmente atue no aumento da estabilidade da molécula e evite sua degradação precoce. Após o processamento, o RNAm maduro atravessa os poros nucleares, deslocando-se para o citoplasma, onde desempenha a função de síntese proteica.

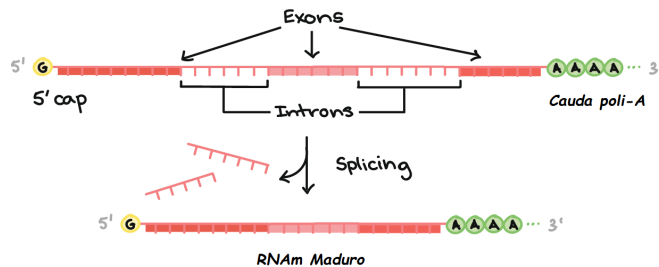


Figura 3: Processo de Splicing. Processamento do RNAm após sua transcrição, com a retirada que regiões não codificantes, os introns e a união das regiões codificantes, os exons, para a produção de um RNAm funcional.

Fonte: imagem adaptada a partir do site Medical Xpress <https://bit.ly/2Qz5Af2>

2.2 Danos e os mecanismos de reparo do material genético

Como o DNA é código fundamental da vida e contém todas as informações necessárias para o desenvolvimento de organismos, a manutenção da sua integridade é fundamental para o perfeito funcionamento do metabolismo dos seres vivos. Entretanto, modificações e danos ao DNA, relativamente comuns durante o ciclo celular, são capazes de ocasionar mutações ou disfunções, gerando alterações metabólicas e estruturais que comprometem o funcionamento do organismo. Os danos ao material genético são causados por diversos fatores como radiações, substâncias químicas, radicais livres, infecções virais, fatores endógenos, entre outros. Os danos induzem mecanismos de resposta celular que visam a correção do erro e reparo do material genético, ou a ativação de mecanismos apoptóticos, caso a lesão seja irreversível ou potencialmente maléfica (SANCAR *et al.*, 2004).

As lesões no DNA ocorrem por danos a uma única fita do DNA, denominadas de danos à fita simples (*single strand break* – SSB) ou por danos à dupla fita de DNA (*double strand break* – DSB). Os mecanismos de reparo de SSB usam a fita complementar como molde para correção da fita danificada e podem ser feitos pela excisão da base nitrogenada (BER – *Base excision repair*) ou do nucleotídeo (NER – *Nucleotide excision repair*) (LISTIK & CARMO, 2016). Os DSB possuem maior potencial de comprometer a estabilidade celular e podem ocorrer por a união de extremidade não-homóloga (NHEJ – *Non-homologous end joining*) ou por recombinação homóloga (HDR – *homologous recombination*). No NHEJ, principal mecanismo de reparação de DSB em mamíferos, as extremidades de quebra são ligadas diretamente, sem a necessidade de molde da região homóloga ao DNA, tornando o processo mais rápido. Entretanto, a região de ligação tem a sequência de

nucleotídeos alteradas, o que pode causar deleções ou inserções de nucleotídeos (MOORE & HABER, 1996). A HDR é mais precisa, pois utiliza uma sequência idêntica ou similar localizada no cromossomo homólogo para o reparo da quebra, diminuindo a ocorrência de mutações (Figura 4).

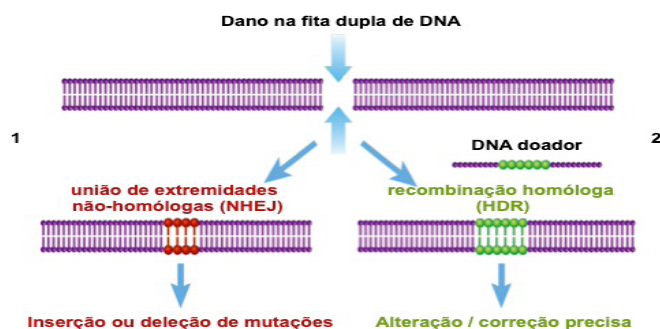


Figura 4: Mecanismos de Reparo a Danos da Fita Dupla do DNA. O dano na fita dupla de DNA pode ser reparado pela (1) união de extremidade não-homóloga (NHEJ), onde as extremidades de quebra são ligadas diretamente sem a necessidade de molde da região homóloga ao DNA, podendo causar deleções ou inserções de nucleotídeos ou (2) pela recombinação homóloga (HDR), que utiliza uma sequência idêntica ou similar de DNA (DNA doador) como direcionamento para o reparo da quebra, diminuindo a ocorrência de mutações.

Fonte: imagem adaptada a partir do site Medical Xpress <https://bit.ly/2Go1111>

2.3 Expressão Gênica

Um gene, sequência específica de nucleotídeos na molécula de DNA, contém as informações necessárias para a produção do RNA e conseqüentemente para a síntese de uma proteína. O processamento de um gene para a síntese de um composto funcional é chamado expressão gênica. O gene é a unidade fundamental da hereditariedade e o conjunto deles em uma espécie é chamado de genoma. A expressão desse genoma sob a influência o meio ambiente é chamado de fenótipo (WATSON *et al.*, 2015).

Em um mesmo organismo, embora todas as células possuísse o mesmo genoma, a sua expressão não ocorre de modo homogêneo, possibilitando que células de diferentes linhagens expressem distintas proteínas, gerando diversas morfologias e especializações. A regulação da expressão dos genes possibilita o ajuste das células às alterações ambientais e adequarem seu metabolismo às necessidades geradas pelo meio onde se encontram, permitindo que uma célula gere respostas diferentes a um mesmo estímulo, ou ainda expresse determinados genes e não outros. Dessa forma, uma célula consegue controlar as proteínas que produz controlando como e quando um determinado gene deve ser expresso (WATSON *et al.*, 2015). O controle e regulação da expressão dos genes podem ocorrer por diferentes processos, como o grau de compactação da cromatina. Quando a cromatina está pouco condensada (eucromatina), o DNA está frouxo e pode ser facilmente transcrito. A cromatina condensada (heterocromatina), não pode ser transcrita e os eucariotos têm proteínas que conseguem facilitar ou bloquear o acesso de enzimas a essa região, modulando o processo de transcrição (WATSON *et al.*, 2015). O *splicing* também é um processo

que auxilia na regulação da expressão gênica. Um mesmo gene pode gerar proteínas distintas de acordo com o tipo de célula que se encontra, pois no momento do *splicing* remove-se introns e exons diversos, produzindo proteínas diferentes. Outro fator que regula a expressão dos genes é a translocação do RNAm do núcleo para o citoplasma, influenciando a tradução de proteínas. A regulação gênica pode ocorrer através de alguns processos que inibem ou estimulam o acoplamento do RNAm ao ribossomo, podendo impossibilitar a tradução ou produzir de substâncias que degradem e inativem o RNAm antes que ele seja traduzido (WATSON *et al.*, 2015).

2.4 Epigenética

Todas as células do organismo humano se desenvolvem de uma única célula primordial, o zigoto, que contém toda a informação que dará origem aos diferentes tipos celulares que compõe tecidos, órgão e sistemas. O controle e modulação da expressão dessas informações desde a concepção até a maturação do organismo é muito importante. Como a variação e a especialização das expressões do genoma não são inteiramente explicadas pelos processos genéticos devido a não há alteração no DNA, surgiu, em 1942, o conceito de epigenética, por Conrad H. Waddington (VIEIRA, 2017). A epigenética, “acima do genoma”, estuda as mudanças na expressão de genes e as possíveis alterações na funcionalidade de uma célula que não envolvem a alteração da sequência nucleotídeos da molécula de DNA, mas que envolvem modificações na estrutura da cromatina decorrentes da interação do indivíduo com fatores externos a ele, como o ambiente, a alimentação, o estresse, as infecções, entre outros. Tais alterações são suscetíveis a reversão e mesmo sem alterar o DNA, as características epigenéticas podem ser herdáveis (ELSNER & SIQUEIRA, 2016).

A regulação epigenética está associada principalmente a três mecanismos são eles a metilação do DNA, as modificações nas histonas e a atuação de RNA's não codificantes. A metilação do DNA consiste na substituição de um átomo de hidrogênio na molécula de citosina, por um grupo metil. Essa substituição ocorre em regiões promotoras do DNA e impossibilita a atuação de fatores de transcrição e enzimas que polimerizam as moléculas de RNA (VIEIRA, 2017). As histonas, proteínas nas quais o DNA se enovela, são de cinco tipos, H1, H2A, H2B, H3 e H4 e associam-se em pares formando um octâmero. As histonas ligam-se a cada 147 pares de bases de DNA, formando um nucleossomo. As histonas têm uma região terminal, conhecida também como cauda, rica em lisina e arginina, apresentando carga oposta ao DNA o que possibilita o seu enovelamento. Mecanismos epigenéticos podem promover alterações na cauda dessas proteínas, modulando a condensação da cromatina e por consequência, a acessibilidade ao DNA, implicando em uma maior ou menor transcrição de regiões gênicas (MULLER & PRADO, 2009). A produção de RNAs não codificantes envolve a síntese de pequenas moléculas de RNA que não codificam proteínas, também conhecidos como microRNAs (miRNA).

Essas moléculas são capazes de reprimir o processo de tradução, ou em caso de homologia e complementariedade das fitas, parear-se com moléculas de RNAm resultando em sua degradação precoce, processo conhecido como silenciamento gênico (VIEIRA, 2017).

3 | OS MECANISMOS MOLECULARES DE EDIÇÃO DO GENOMA

As ferramentas de edição genética utilizam nucleases, enzimas capazes de romper as ligações entre os nucleotídeos, que possam ser programadas para cortar trechos específicos do material genético (HOTTA & YAMANAKA, 2015). Tais ferramentas realizam quebras na dupla fita de DNA, ativando mecanismos de reparo como HDR, reparo por homologia ou por NHEJ, junção de extremidades não homologas.

O HDR utiliza um molde de DNA pré-existente para reparar a fita danificada. Dessa forma a introdução de uma molécula de DNA com transgenes específicos pode ser empregada na DSB alvo para corrigir a funcionalidade de um gene mutado (Figura 5).

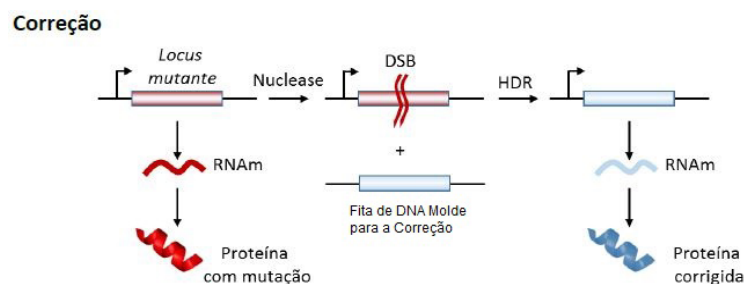


Figura 5. Correção de um gene mutante utilizando Recombinação Homóloga Direcionada (HDR) e uma fita de DNA molde. Em uma célula que possui o Locus mutante há a transcrição de um RNAm alterado e consequentemente uma proteína com mutação. Para a correção desse gene mutante é realizada uma quebra na dupla fita de DNA (DSB) e inserido uma fita de DNA molde para correção.

Fonte: adaptado de LISTIK & CARMO, 2016.

O reparo por NHEJ está associado à ligação direta da região de DSB. Esse tipo de reparo é altamente mutagênico, gerando principalmente deleções e inserções, os chamados indels (LIEBER *et al.*, 2003). As características do NHEJ podem ser utilizadas para indução das mutações pontuais, deleção de sequências indesejáveis, adição de códons específicos, como códons de parada, possibilitando o *knock out* de tais genes (LISTIK & CARMO, 2016).

3.1 Sistema CRISPR/Cas

O sistema CRISPR/Cas9 é um mecanismo de defesa das bactérias e Archaea contra elementos genéticos invasores de bacteriófagos e outros plasmídeos (Figura 6). O material genético exógeno é clivado, fragmentado em pequenas frações e incorporado a locus do CRISPR (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014). Quando há

novamente contato com o material genético exógeno, o sistema CRISPR identifica trechos de DNA de infecções anteriores. Assim a endonuclease associada, Cas9, cliva o material genético invasor impedindo sua replicação (BARRANGOU & HORVATH, 2012).

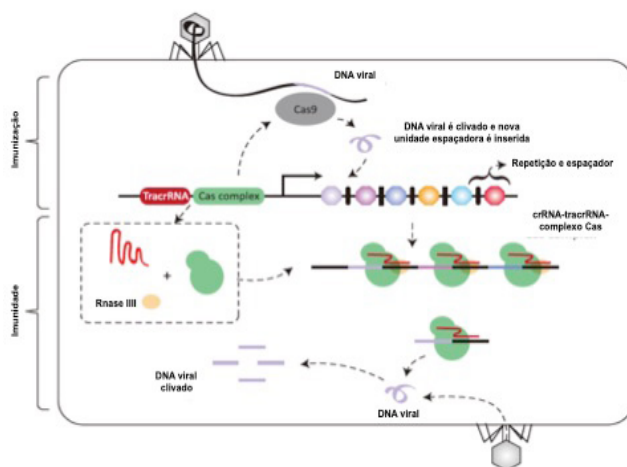


Figura 6: Mecanismo de Atuação do sistema CRISPR em bactérias e Arqueas. 1) Imunização: reconhecimento e clivagem de elementos genéticos invasores (DNA viral) e incorporação de novas unidades espaçadoras ao locus do CRISPR. 2) Imunidade: Os espaçadores podem ser traduzidos em pequenas sequências de RNA (TracrRNA) que se associam ao complexo de enzimas Cas. Assim, o sistema CRISPR identifica trechos de DNA complementares ao material genético previamente integrado, de infecções anteriores, e a enzima nucleasa associada Cas9 faz a clivagem do DNA viral em uma sequência precisa impedindo a propagação do DNA exógeno.

Fonte: GENSCRIPT, 2015.

4 | CRISPR NO TRATAMENTO DE DOENÇAS GENÉTICAS E EPIGENÉTICAS

A medicina define patologia ou doença os distúrbios, alterações ou desajustes na funcionalidade de um grupo celular, tecido, órgão ou sistema do organismo, associados a sinais e sintomas definíveis e específicos. As doenças genéticas são um grupo de disfunções que resultam da modificação de uma sequência de nucleotídeos em uma parte do DNA que, direta ou indiretamente, causam alterações fisiológicas ou anatômicas, trazendo prejuízo ao organismo. Esse grupo de doenças pode estar associado a um gene, um grupo de genes ou ainda na forma de expressão de determinados genes ao longo da vida. Vale salientar que nem toda doença genética é herdada, podendo ser causada por diversos fatores como radiação, infecção, má alimentação, estresse entre outros (ZAHA, FERREIRA & PASSAGLIA, 2014).

A tecnologia CRISPR-Cas9 vem sendo amplamente estudada e utilizada em terapias genicas e consiste na introdução deleção ou modificação de genes prejudiciais, tendo, em testes em modelo animal e em cultura de células, mostrado resultados bastante positivos no tratamento e cura de várias doenças relacionadas com alterações genicas.

4.1 Acondroplasia

A Acondroplasia (ACH) é um distúrbio genético autossômico dominante que gera um desenvolvimento anormal dos tecidos ósseos afetando a ossificação endocondral, processo que acelera a ossificação das cartilagens, impossibilitando o crescimento normal dos ossos longos. A ACH caracteriza-se fenotipicamente por um nanismo desproporcional, membros curtos, tronco normal, macrocefalia, as mãos são pequenas e largas, e os dedos curtos com separação entre a terceira e quartas falanges, podendo apresentar inúmeras complicações (CERVAN *et al.*, 2008). A ACH é o tipo mais comum de nanismo no mundo e sua incidência é estimada em 1 a cada 25.000 nascidos vivos (HORIE *et al.*, 2017). A maior parte dos indivíduos com essa disfunção apresenta mutação no gene *FGFR3*, que leva a substituição do aminoácido glicina pelo aminoácido arginina no receptor de crescimento fibroblástico 3, gerando uma superatividade dessa enzima e resultando em uma condrodisplasia, em geral em cartilagens epifisárias, que alteram, por consequência, o crescimento linear dos ossos (DENG *et al.*, 1996).

Na tentativa de identificar possíveis tratamentos para a ACH, fibroblastos de indivíduos acondroplásicos adultos foram induzidas para se tornassem células troncos pluripotentes induzidas (iPS). Essas células iPS foram separadas em 2 grupos, um sem nenhuma alteração genética (grupo controle), e outro com a edição no gene *FGFR3* usando a CRISPR/Cas9. Após a introdução das iPS modificadas com o CRISPR, houve a eliminação do alelo dominante *FGFR3* e a redução da hiperatividade das enzimas *FGFR3*, quando comparados com o grupo controle o que possibilitou o desenvolvimento normal do tecido (HORIE *et al.*, 2017). Esse estudo provou que é possível impedir que o gene mutante *FGFR3* se manifeste.

4.2 Distrofia de Duchenne

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma alteração genética hereditária ligada ao cromossomo sexual X. Esse distúrbio impede a produção de uma proteína muscular chamada distrofina cuja função exata ainda é desconhecida. Porém, a hipótese mais aceita é que ela tenha um papel relacionado à integridade, estabilidade e alinhamento da membrana plasmática e das miofibrilas durante a contração e relaxamento muscular. A ausência da distrofina possivelmente gera alterações no sarcolema, provocando aberturas que possibilitam a livre passagem de cálcio para o interior da célula muscular levando a necrose e perda da capacidade contrátil da fibra (MORAES, FERNANDES & ACOSTA, 2011).

A DMD, doença recessiva localizada no braço curto do cromossomo X, afeta principalmente homens, pois neles há apenas uma cópia do cromossomo X. A incidência é de um com a síndrome a cada 3.500 meninos nascidos vivos. As manifestações clínicas, em geral, só são observadas quando a criança começa a andar. As alterações iniciam-se com o gradual enfraquecimento muscular, que se

torna evidente por volta dos cinco anos de idade, resultando em uma dificuldade de manutenção da marcha, quedas recorrentes e um andar característico de acentuado balanço do corpo durante o caminhar, devido a atrofia da musculatura do quadril impedindo o nivelamento da pelve (SANTOS *et al.*, 2006). A progressão da DMD, por volta dos 10 a 13 anos de idade, leva a impossibilidade de o paciente andar sendo necessário o uso de cadeira de rodas para a locomoção. À medida que a doença avança surge insuficiência respiratória e a dificuldade na ventilação, sendo necessário o uso de aparelhos para o restabelecimento dessa função. Nesse estágio, tornam-se comuns infecções respiratórias, principais causa de morte de paciente nesse estado (SANTOS *et al.*, 2006). Os pacientes com sobrevida maior acabam tendo a musculatura cardíaca acometida. Os pacientes com DMD acabam evoluindo a óbito por volta dos 18 a 25 anos pelo comprometimento cardíaco ou insuficiência respiratória (MORAES, FERNANDES, & ACOSTA, 2011).

Utilizando a técnica de edição genica CRISPR/Cas9 foi possível, em modelo canino, impossibilitar a progressão da DMD, restabelecendo a produção de distrofina cardíaca a níveis superiores a 90% (AMOASII, 2018), além disso, obteve resultados similares com distrofina produzida pela musculatura esquelética. A pesquisa levanta grandes expectativas com relação a futuros tratamentos para a doença (GONÇALVES *et al.*, 2017).

4.3 Talassemia beta

A talassemia beta é uma doença sanguínea, de origem genética, caracterizada por uma anormalidade na produção de hemoglobina (Hb), uma proteína globular quaternária que atua na captação e transportes de moléculas gasosas, principalmente o oxigênio. A talassemia ocorre em variados graus com alterações na síntese das cadeias de globina betas e as alterações podem resultar em pacientes completamente assintomáticos até pacientes com severas complicações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). O desequilíbrio entre a quantidade de globinas alfas e betas, devido a menor produção das globinas do tipo beta, faz com que o excesso de globinas alfa livres se precipite formando agregados proteicos que causam alterações morfo-fisiológicas, levando a lesões na membrana plasmática da hemácia. Quando essas células atingem o sangue periférico essas alterações sinalizam para que ocorra o sequestro e destruição dessas células pelo baço, podendo desencadear um quadro de anemia hemolítica e a evolução para uma crise aplásica da medula (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Através da utilização do CRISPR em células iPS de pacientes beta talassemicos, foi possível corrigir de forma eficiente as mutações nos genes da globina beta, restaurando a sua expressão. Nenhuma alteração fora do alvo (*off-target*) foi observada e as iPS alteradas exibiam o cariótipo normal (XIE *et al.*, 2014). Os resultados obtidos mostraram a possibilidade de tratamento da β -talassemia utilizando terapias

baseadas no CRISPR. Outra possibilidade é a modificação de culturas celulares do próprio paciente fornecendo uma fonte de células para transplante ou transfusões sanguíneas, que não gerariam os efeitos adversos das transfusões normais (XIE *et al.*, 2014).

4.4 Hepatite

A hepatite, caracterizada pela inflamação de hepatócitos, pode ser causada por diferentes fatores etiológicos como infecções virais ou substâncias tóxicas (álcool, drogas, medicamentos). As hepatites virais, principalmente HBV e HCV, são um grave problema de saúde pública brasileira e em seu curso natural a doença pode levar ao surgimento de cirrose e câncer hepático, sendo muito comum a necessidade de transplante (FERREIRA, 2000).

A hepatite B (HBV) é causada por um vírus com genoma de DNA e envelopado, dificultando a sua remoção utilizando as terapias convencionais. Além disso, o vírus pode ficar longos períodos latentes e se reativar. Estudos recentes com o sistema CRISPR-Cas9 alterando o DNA viral mostraram a diminuição da expressão de antígenos marcadores da replicação viral do HBV (AgHBe) (SEEGER & SOHN, 2014). Testes utilizando iPS e edição genética mostraram a possibilidade de restabelecer a função hepática repovoando o fígado com hepatócitos saudáveis, através da utilização do CRISPR para modificar sequências de genes de iPS, convertendo-as em hepatócitos. Essas células, além de saudáveis, possuíam ainda um RNA de interferência específico contra o HBV o que gerou uma resistência dessa população celular contra a hepatite B. O estudo se mostrou promissor e em poucos testes foi possível restabelecer a função hepática a níveis normais (KAY, 2011).

4.5 HIV

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus com genoma de RNA, que possui a enzima, a transcriptase reversa capaz de transcreever a molécula de RNA viral em DNA para permitir a integração ao genoma do hospedeiro. Sua principal forma de transmissão é sexual, embora possa ser transmitido por via sanguínea e congênita. O vírus tem tropismo por linfócitos T CD4+, grupo de linfócitos capaz de mediar, modular e regular a resposta imune, podendo atuar na ativação e no recrutamento de células fagocíticas e induzir a troca de classes e a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B. Dessa forma o aumento da destruição desse tipo celular leva a maior vulnerabilidade do sistema imune e o surgimento de infecções oportunistas que podem levar o paciente a óbito. A principal forma de tratamento do HIV é a administração conjunta de vários antirretrovirais, no intuito de diminuir ou retardar a replicação e propagação viral, limitar o surgimento de cepas resistentes aos medicamentos e impedir a redução dos linfócitos auxiliares. Apesar da eficácia dos agentes antirretrovirais de impedir a replicação do vírus em diferentes fases do

seu ciclo, o HIV é capaz de gerar reservatórios latentes através de sua integração ao genoma celular. Dessa forma, mesmo que a carga viral do paciente seja extremamente baixa, o tratamento com antirretrovirais deve ser mantido por toda a vida. Entretanto, a terapia antirretroviral apresenta efeitos adversos que estimulam a desistência do regime terapêutico, como náusea, vômito, diarreia, cefaleia, alterações cardiovasculares, hematológicas e metabólicas.

Vários avanços foram mostrados com o CRISPR, levantando a possibilidade de novas formas de tratamento. Vários estudos em modelo animal e células humanas mostraram que utilizando o CRISPR é possível remover o DNA viral do HIV do genoma do hospedeiro com extrema precisão (KAMINSKI *et al.*, 2016). Alguns estudos demonstraram a possibilidade de modificar os genes codificantes do receptor quimiocina tipo 5, proteína da membrana celular que contém o principal sítio de ligação do vírus HIV com os linfócitos T, sem a produção dessa proteína o vírus não consegue infectar as células T (DENG *et al.*, 2018). A edição gênica usando o CRISPR Cas9 para modificar as células possibilitou que de duas crianças tornassem-se imune ao Vírus da Imunodeficiência Humana (NUNES & BATISTA, 2019). O uso do sistema CRISPR/Cas9 para clivar o HIV do genoma removeu os reservatórios latentes do vírus e impediu a reinfecção.

4.6 Prevenção e tratamento de doenças infecciosas

Doenças infecciosas são causadas por vírus, fungos, bactérias ou parasitas e transmissíveis de uma pessoa para outra. A manipulação genica abre uma gama de perspectivas no que tange a esses tipos de doenças. Um dos principais problemas enfrentados atualmente no tratamento de infecções bacterianas é o desenvolvimento de microrganismos resistentes a antibióticos, denominadas superbactérias. Usando a adição da enzima Cas9 ao vírus, pesquisadores mostraram que é possível produzir bacteriófagos que atacam microrganismos super-resistentes. Dessa forma, durante a infecção bacteriana, a enzima Cas9 adicionada ao genoma viral é transcrita e cliva o DNA bacteriano em regiões pré-determinadas resultando na morte da bactéria (REARDON, 2017).

Ao utilizar o CRISPR, foi possível rastrear os genes responsáveis pela fertilidade em mosquitos *Anopheles* e desenvolver linhagens de mosquitos que podem suprimir e substituir a população natural de mosquitos, que são estéreis ou que gerem uma prole que não pode se reproduzir, controlando endemias e epidemias de dengue, zika e chikungunya.

4.7 Tratamento do Câncer

Organismos multicelulares precisam constantemente replicar suas células a fim de reparar lesões, renovar tecidos ou para o crescimento corpóreo. Dessa forma, o processo de proliferação celular deve ser contínuo, controlado e autolimitado, variando de acordo com a necessidade fisiológica do indivíduo. Existem diversos

mecanismos para a verificação de erros celulares, levando as células defeituosas a um processo de morte programada, denominada a apoptose (INCA, 2011). Quando a células não responde corretamente aos estímulos apoptóticos e perde seu potencial de autolimitação há o descontrole proliferativo que pode levar a diversas disfunções orgânicas, como as neoplasias malignas (câncer), que podem invadir outros tecidos (metástase). As causas podem ser diversos fatores, como ambientais (substâncias químicas, radiação, infecções, hábitos alimentares, tabagismo) e genéticos (alteração em genes responsáveis pela síntese de enzimas de variadas vias metabólicas que transformam uma substância nocivas ao organismo em outra substância menos tóxicas e levam ao acúmulo de metabólitos que lesionam o material genético celular, em genes que regulam a estabilidade do genoma e do ciclo celular, em genes de sinalização e controle do desenvolvimento celular, vias apoptóticas e proliferação das células) (WARD, 2002). O tratamentos mais usado no combate ao câncer é a quimioterapia, utilização de fármacos isolados ou combinados, que busca eliminar, inibir ou dificultar a proliferação das células cancerígenas. Os diversos quimioterápicos variam quanto sua a ação farmacológica, toxicidade e efeitos colaterais (RIUL & AGUILLAR, 1999).

O desenvolvimento de quimioterápicos necessita da compreensão e conhecimento da resposta celular frente a um fármaco. Por meio da tecnologia do CRISPR diversos estudos estão buscando inibir ou aumentar a expressão de genes específicos a fim de identificar como essa alteração genética modificaria ou modularia a atuação dos quimioterápicos, identificando proteínas, vias metabólicas ou receptores alvos que sejam relevantes para o tratamento da doença (OKAMOTO, 2017).

A inibiram *in vitro* e *in vivo* genes de células de adenocarcinoma pancreático identificaram que a deleção de alguns genes aumenta a citotoxicidade de quimioterápicos inibidores de ativação de MEK (grupo de proteínas quinase que respondem a estímulos extracelulares para regular a diferenciação, proliferação e morte celular). O estudo também mostrou a utilidade da edição genética para criar alterações pontuais no genoma de células neoplásicas, possibilitando a compreensão de como mutações genéticas desconhecidas afetarão positiva ou negativamente a resposta celular para um determinado quimioterápico (SZLACHTA *et al.*, 2018).

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de novas tecnologias e metodologias, principalmente na área da medicina, biotecnologia e informática, tem possibilitado grandes avanços no entendimento de certas condições e tem trazido muitos benefícios relacionados à vida.

Uma tecnologia inovadora e promissora que tem sido destaque é a CRISPR-

Cas9, naturalmente encontradas no sistema de defesa imunológica em bactérias. O CRISPR-Cas9 tem como princípio a edição genica e conseqüentemente, modificação proteica, metabólica e de algumas características do organismo de forma rápida, econômica e eficiente (poucos efeitos *off-target*), portanto, considerada precisa e pontual. A CRISPR-Cas9 possibilita a inserção, remoção e correção de uma sequência mutada em uma molécula DNA de uma determinada célula com precisão. Dessa forma, a CRISPR tem sido usada em alterações genéticas como a correção de genes com mutações gênicas, a modulação da expressão gênica, a caracterização fenotípica de uma doença, no tratamento de doenças infecciosas e patologias, no desenvolvimento de culturas agrícolas resistentes a pragas ou a infecções, no aumento da imunidade viral em bactérias utilizadas na produção de alimentos, entre outras. Dessa forma, alterações na funcionalidade celular, tecidual ou sistêmica relacionadas, direta ou indiretamente, aos genes e suas expressões podem auxiliar na prevenção, no tratamento ou na cura de certas patologias. Alguns estudos mostram resultados promissores no tratamento de doenças monogênicas. Um exemplo é o desenvolvimento normal de cartilagens na acondroplasia, distúrbio genético com alteração da ossificação endocondral, cuja utilização da técnica CRISPR-Cas9 possibilitou hiperatividade das enzimas FGFR3, responsáveis pela anormalidade dos tecidos ósseos. Também se pode citar o retardamento na progressão da distrofia muscular de Duchenne, através do restabelecimento da produção de distrofina no músculo esquelético e cardíaco. O CRISPR também se mostrou promissor no tratamento de doenças hematológicas, a talassemia beta e a hemofilia, por meio da correção da mutação gênica causadoras dessas patologias e também a modificação de culturas celulares do próprio paciente fornecendo uma fonte de células para transplante ou enxerto. Ademais, essa metodologia CRISPR-Cas9 tem possibilitado a criação de organismos geneticamente modificados capazes de atacar e destruir sequências gênicas essenciais de microrganismos com elevada resistência a antibióticos bem como a diminuição do potencial patogênico e dissimulativo de artrópodes transmissores de doenças endêmicas como zika, dengue, chagas entre outras.

Embora o nível tecnológico atual possibilite a manipulação do genoma, ainda há a necessidade da continuidade de pesquisas, do desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de edição genética principalmente devido ao surgimento de impactos associados com os avanços biotecnológicos a dessacralização do genoma e sua manipulação. Diversos debates éticos e filosóficos têm aparecido principalmente relacionados às filosofias transumanistas, movimento intelectual com a premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar as limitações humanas. Tais ramos filosóficos esperam que a evolução biotecnocientífica seja marcada pela superação dos limites físicos, psicológicos, comportamentais e pelo aprimoramento de capacidades orgânicas, visando à longevidade e o bem-estar humano.

REFERÊNCIAS

- AMOASII, L. et al. Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. **Science**. v. 362, n. 6410, p. 86-91, 2018.
- 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, 2012.
- BATISTA , F. C. C.; NUNES, C. P. ; **CRISPR CAS9: Atuais Aplicações No Tratamento Do HIV**. Revista de Medicina de Família e Saúde Mental, v. 1, n. 1, p. 89-94, 2019.
- CERVAN, M. P. et al. **Estudo comparativo do nível de qualidade de vida entre sujeitos acondroplásicos e não-acondroplásicos**. H Bras Psiquiatr, v. 57, n. 2, p. 105-111, 2008.
- CLARK, D. P. **Germs, Genes, & Civilization: How Epidemics Shaped Who We Are Today**. 1. ed. New Jersey: FT Press, 2010.
- CLARK, E.G; LEAVELL, H. R. **Medicina Preventiva**. 2. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1976. 744 p.
- DE ROBERTIS, E. D. P.; HIB, J. **Bases da biologia celular e molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 394 p.
- DENG, C. et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Is a Negative Regulator of Bone Growth. **Cell**, v. 84, n. 6, p. 911-921, 1996.
- DENG, Q. et al. **Developmental progress of CRISPR/Cas9 and its therapeutic applications for HIV-1 infection**. Reviews in Medical Virology v. 28, n. 5, p. e1998, 2018.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. **The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas**. Science, Washington, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.
- ELSNER, V. R.; SIQUEIRA, I. R. **Epigenética Aplicada À Saúde E À Doença**. Princípios Fundamentais Baseados Em Evidências Atuais. 1. ed. Porto Alegre: Editora Universitária Metodista, 2016. 136 p.
- FERREIRA, M. S. **Diagnóstico e tratamento da hepatite B**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v. 33, n. 4, p. 389-400, 2000.
- GENSCRIPT. **CRISPR Handbook**. Enabling Genome Editing and Transforming Life Science Research. 2015.
- GONÇALVES, N. J. N. et al. Generation of LIF-independent induced pluripotent stem cells from canine fetal fibroblasts. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 92, p. 75-82, 2017.
- HORIE, N. et al. **Impairment of the transition from proliferative stage to prehypertrophic stage in chondrogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells harboring the causative mutation of achondroplasia in fibroblast growth factor receptor 3**. Regenerative Therapy, v. 6, p. 15-20, 2017.
- HOTTA, A.; YAMANAKA, S. From Genomics to Gene Therapy: Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. **Annu Rev Genet**, v. 49, p. 47-70, 2015.
- INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro: Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica/CEDC, 2011.
- KAMINSKI, R. et al. **Elimination of HIV-1 Genomes from Human T-lymphoid Cells by CRISPR/**

Cas9 Gene Editing. Scientific Reports v. 6, p. 22555, 2016.

KAY, M. A. **State-of-the-art gene-based therapies:** the road ahead. Nature Reviews Genetics v.12, n. 5, p.316-328, 2011

LIEBER, M. R. et al. Mechanism and regulation of human non-homologous DNA end-joining. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 9, p. 712-720, 2003.

LISTIK, E.; CARMO, A. C. V. As características dos mecanismos e sistemas de edição genômica. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz.** v. 10, 2016.

MALAJOVICH, M. A. M. **BIOTECNOLOGIA.** 2. ed. Rio de Janeiro: Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (Brasil). **ORIENTAÇÕES PARA O DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS β -TALASSEMIAS.** 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/1swTLWM>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MOORE, J. K.; HABER, J. E. **Cell cycle and genetic requirements of two pathways of nonhomologous end-joining repair of double -strand breaks in *S. cerevisiae*.** Molecular and Cellular Biology . v. 16, n. 5, p. 2164-2173, 1996.

MORAES, F. M.; FERNANDES, R. C. S. C.; ACOSTA, E. M. Distrofia Muscular de Duchenne: Relato de caso. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos.** v. 6, n. 2, p. 11-15, 2011.

MORE, M. Transhumanism: toward a futurist Philosophy, 1990. Disponível em: < <http://www.metanexus.net/essay/h-true-transhumanism> >. Acesso em: 18 nov. 2018

MULLER, H. R.; PRADO, K. B. EPIGENETICS: A NEW GENETIC FIELD. **Revista Universitária de Biologia e Saúde**, v. 1, n. 3, p. 61-69, 2009.

NGUYEN, T. H. et al. Successful correction of hemophilia by CRISPR/Cas9 genome editing in vivo. **EMBO Molecular Medicine**, v. 8, n. 5, p. 439-441, 2016.

OKAMOTO, O.K. IMPACTOS DA NOVA TÉCNICA DE EDIÇÃO DE GENOMAS CRISPR-CAS9 NA CIÊNCIA E NA SOCIEDADE, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. **CRISPR- Cas9 e Tratamento de Tumores** 2017.

RIUL, S.; AGUILLAR , O. M. **QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA:** Revisão Da Literatura. Revista Mineira de Enfermagem. v. 3, n. 1/2, p. 60-67, 1999.

ROSSI, L. P. R.; ALMEIDA, R. C. C. Bacteriófagos para controle de bactérias patogênicas em alimentos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.** v. 69, n. 2, p. 151-156, 2010.

SANCAR, A. et al. **Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints.** Annual review of biochemistry. v. 73, n. 1, p. 39-85, 2004.

SANTOS, N. M. et al. Perfil clínico e funcional dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne assistidos na Associação Brasileira de Distrofia Muscular. **REVISTA NEUROCIÊNCIAS**, v. 14, n. 1, p. 15-22, 2006.

SEEGER , C.; SOHN , J.A. **Targeting Hepatitis B Virus With CRISPR/Cas9.** Molecular Therapy: Nucleic Acids , v.3. p.e216, 2014.

SZLACHTA, K. et al. **CRISPR knockout screening identifies combinatorial drug targets in pancreatic cancer and models cellular drug response.** Nature communications, v. 9: n. 1, p.4275, 2018.

VIEIRA, G. C. ADMIRÁVEL MUNDO NOVO: A EPIGENÉTICA. In: ARÁUJO, L. A. L. **Evolução Biológica**: da pesquisa ao ensino. Porto Alegre: Editora Fi, 2017.

WARD, L. S. **Entendendo o Processo Molecular da Tumorigênese**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. v. 46, n. 4, p. 351-360, 2002.

WATSON, J.D et al. **Biologia Molecular do Gene**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 917 p.

XIE, F. et al. **Seamless gene correction of b-thalassemia mutations in patient-specific iPSCs using CRISPR/Cas9 and piggyBac**. Genome Research, v. 24, n. 9, p. 1526-1533, 2014.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. (Org.). **Biologia molecular básica**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2014. 424 p.

SOBRE A ORGANIZADORA

RENATA MENDES DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, concluída em 2011; mestrado em Genética e Biotecnologia (2014) também pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). É Doutora em Ciências (2018) pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, na área temática de genética e epidemiologia. Atualmente é professora do ensino a distância na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), no curso de Ciências Biológicas, lecionando a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I (TCC1) e pós-docanda do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde desenvolve projetos de pesquisas relacionados à epidemiologia molecular do câncer de mama e tumores pediátricos, incluindo aconselhamento e rastreamento genético de grupos com predisposição ao câncer hereditário.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acidente vascular 1, 2, 6
Acupuntura 13, 14, 15, 16, 20, 21
Amazônia 34, 162, 171, 194, 201
Anatomia humana 8, 232
Antioxidante 46, 66, 157, 160, 165, 166, 167, 169, 182, 183, 186, 191, 193, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231
Antitumoral 66, 153, 155, 156, 157, 162
Arboviroses 72, 76, 81, 84, 85, 215, 224
Atenção farmacêutica 26, 27, 32
Atividade antibacteriana 50, 52, 54, 57, 157
Atividade antifúngica 59, 60, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 168, 177, 178, 179
Atividade repelente 72, 73, 75, 76

B

Biofilme 63, 134, 135, 136, 137, 138, 139
Biotecnologia 52, 72, 73, 80, 83, 84, 99, 112, 115, 175, 176, 215, 223, 234

C

Cantina universitária 86, 87, 94, 95
CRISPR/Cas9 98, 99, 106, 108, 109, 111, 114, 115, 116

D

Determinantes sociais da saúde 140
Dispositivo médico 134

E

Edição gênica 111
Estratégias cirúrgicas 117, 129
Etnobotânica 176

F

Fisioterapia 1, 3, 5, 6, 7, 133, 193, 207, 208, 209, 210, 213, 214

G

Glaucoma 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33

I

Infecções sistêmicas 135

L

Leishmanicida 194, 197, 200, 201, 202, 204, 205

M

Medidas lineares 232

Melanoma 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

Microcorrente 182, 183, 184, 185, 187, 188, 190, 191, 192

MO-CBP₂ 175, 176, 177

N

Nei Guan 13, 14, 16, 17, 20

O

Oligoelemento 182, 183, 186, 187, 191

P

Perfis imunogenéticos 34

Plantas medicinais 46, 50, 155, 161, 169, 173, 174, 194, 195, 197, 204, 205, 231

Processos imunológicos 34, 37

Programas de imunização 140

Protozoário 195, 196

R

Reabilitação 1, 3, 4, 5, 6, 207, 210, 211, 212, 213, 214

Regeneração do nervo periférico 117, 119, 128, 130

S

Saúde orgânica 160

Saúde única 86

Segurança alimentar 86

Síndrome Brown Séquard 207, 208, 209, 213

T

Tabagismo 112, 182, 183, 184, 192, 193

Tíbias secas 232

Tratamentos fitoterápicos 195

Trauma raquimedular 207, 208, 209, 213

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-781-9



9 788572 477819