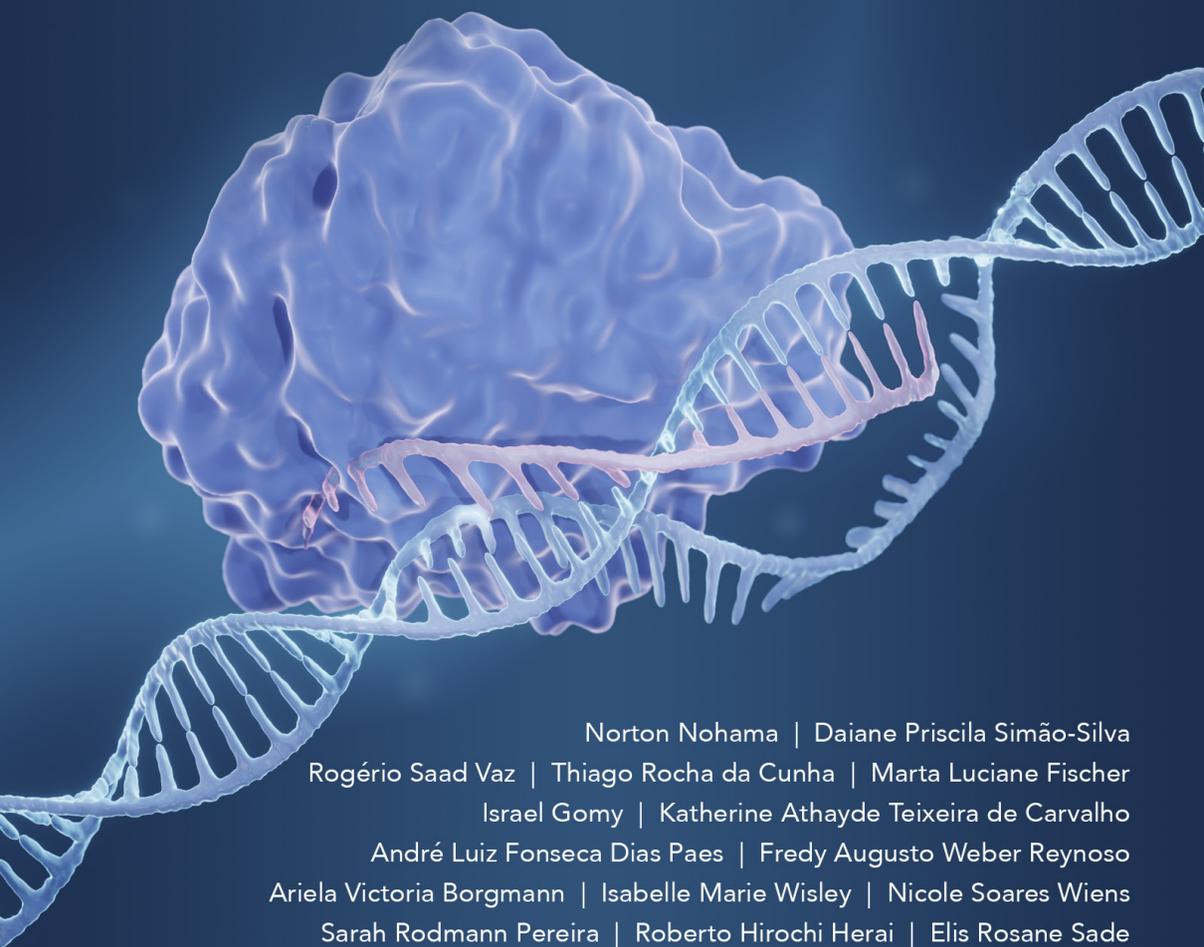


CRISPR

E EDIÇÃO GENÔMICA:

Técnica, **bioética** e controvérsias



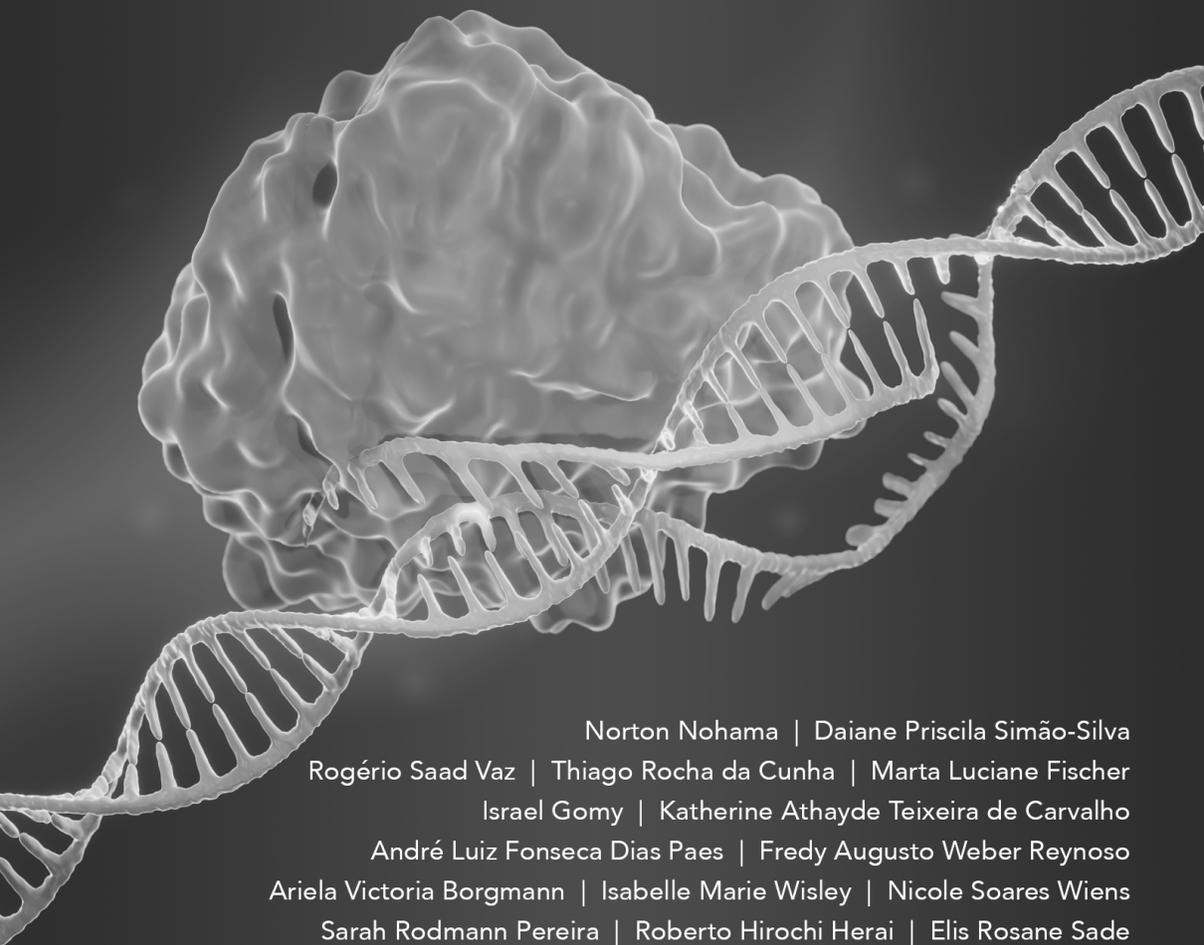
Norton Nohama | Daiane Priscila Simão-Silva
Rogério Saad Vaz | Thiago Rocha da Cunha | Marta Luciane Fischer
Israel Gomy | Katherine Athayde Teixeira de Carvalho
André Luiz Fonseca Dias Paes | Fredy Augusto Weber Reynoso
Ariela Victoria Borgmann | Isabelle Marie Wisley | Nicole Soares Wiens
Sarah Rodmann Pereira | Roberto Hirochi Herai | Elis Rosane Sade


Ano 2023

CRISPR

E EDIÇÃO GENÔMICA:

— Técnica, **bioética** e controvérsias



Norton Nohama | Daiane Priscila Simão-Silva
Rogério Saad Vaz | Thiago Rocha da Cunha | Marta Luciane Fischer
Israel Gomy | Katherine Athayde Teixeira de Carvalho
André Luiz Fonseca Dias Paes | Fredy Augusto Weber Reynoso
Ariela Victoria Borgmann | Isabelle Marie Wisley | Nicole Soares Wiens
Sarah Rodmann Pereira | Roberto Hirochi Herai | Elis Rosane Sade


Ano 2023

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Biológicas e da Saúde

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina
 Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
 Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
 Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
 Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
 Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
 Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
 Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
 Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
 Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
 Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
 Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
 Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
 Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
 Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
 Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
 Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
 Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr
 Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
 Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
 Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
 Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
 Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
 Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
 Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
 Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio
 Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
 Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
 Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
 Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará

Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria

Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

CRISPR e edição genômica: técnica, bioética e controvérsias

Diagramação: Nataly Evilin Gayde
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
S588	<p>Nohama, Norton CRISPR e edição genômica: técnica, bioética e controvérsias / Norton Nohama, Daiane Priscila Simão-Silva, Rogério Saad Vaz – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.</p> <p>Outros autores Thiago Rocha da Cunha Marta Luciane Fischer Israel Gomy Katherine Athayde Teixeira de Carvalho André Luiz Fonseca Dias Paes Fredy Augusto Weber Reynoso Ariela Victoria Borgmann Isabelle Marie Wisley Nicole Soares Wiens Sarah Rodmann Pereira Roberto Hirochi Herai Elis Rosane Sade</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-0684-6 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.846232605</p> <p>1. DNA. 2. Bioética. 3. Técnica. I. Nohama, Norton. II. Silva, Daiane Priscila Simão. III. Vaz, Rogério Saad. IV. Título. CDD 572.86</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

Publicizada como “a ferramenta para a reescrita do código da vida”, a edição genética por meio da CRISPR conferiu as pesquisadoras, Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna o título de “decodificadoras”, vislumbrando a edição do genoma como um marco para o futuro da espécie humana. Neste campo, surgem inúmeros questionamentos, de abrangência complexa, assim como controvérsias em relação aos reais impactos e avanços possíveis com a biotecnologia em questão. Este livro emerge do intento de abordar o tema da edição genética de forma abrangente, e um dos maiores desafios com que nos deparamos nessa empreitada foi trazer termos técnicos, conceitos e o conhecimento acumulado no campo das ciências da vida que habitualmente não são dominados no campo das ciências humanas e, no sentido inverso, trazer para aqueles primeiros, conceitos, princípios éticos e perspectivas que habitualmente não fazem parte do seu universo de debate.

Caro Leitor,

Este livro navega em um mundo incrível, misturando descobertas do mundo da genética e o poder que ela tem em modificar o meio ambiente, e de impactar em nossas vidas. Imagine então o quão extraordinário é se você misturar organismos diferentes num só, criando algo só com o uso da genética? Tudo começou a mais de 100 anos, em meados do ano de 1865, com Gregor Mendel, que é conhecido até hoje como o “pai da genética”. Neste livro, apresentamos que, a partir dos experimentos e observações de Mendel, foram criadas as primeiras teorias de herança genética e do impacto que a ancestralidade tem na definição das características dos seres vivos. Hoje, sabemos que a genética tem papel fundamental na definição das características dos seres vivos, e inclusive na causa de doenças humanas. Isso foi o principal combustível para que um dos maiores projetos da história da sociedade humana fosse executado: o sequenciamento completo do genoma humano. A partir do genoma humano, estamos continuamente descobrindo, até os dias de hoje, quais partes desempenham funções específicas em nosso corpo, como no funcionamento do coração e do pulmão, e quais partes estão relacionadas com diversas doenças, como câncer e anemia falciforme. Mas você consegue imaginar que o genoma humano e de outros organismos possuem diversas informações que ainda não conhecemos? Além das 4 bases nitrogenadas (A, T, C, G) que compõem nosso genoma, há outras variações epigenéticas que regulam seu funcionamento, determinando nossas características e inclusive doenças que acometem o nosso corpo? Todas as descobertas a respeito do genoma humano geraram ferramentas para estudar de forma similar todos os outros organismos vivos, desde animais, plantas, aves e até microorganismos. Portanto, destacamos neste livro a forma com que a genética passou a fazer parte, cada vez mais, das nossas vidas, e de que forma isso motivou e acelerou o desenvolvimento de diversas ferramentas de biologia molecular, principalmente as técnicas de engenharia genética que permitem alterar partes do DNA, exatamente da forma com que queremos. É isso mesmo que estou dizendo! Sim, já é possível alterar o DNA de um organismo vivo! Podemos, por exemplo, fazer com que uma planta desenvolva alta resistência contra patógenos através da incorporação em seu genoma de uma sequência genética que produza uma toxina contra patógenos. Já existem, a mais de uma década, ferramentas de engenharia genética que permitem alterar o genoma de organismos vivos, porém são ferramentas de difícil aplicação, as quais motivaram o desenvolvimento da técnica chamada CRISPR. Essa técnica de edição genética gerou tanto impacto na sociedade mundial que, em menos de 10 anos após sua divulgação como ferramenta de engenharia genética, rendeu o prêmio nobel a duas cientistas

geniais, as doutoras Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna. Ao longo dos anos, o crescimento de uso da técnica CRISPR aumentou de forma exponencial, em todos os tipos de organismos vivos, inclusive em seres humanos. Porém, conforme discutimos no livro, será que a alteração forçada do genoma de um organismo pode causar algum impacto negativo na sociedade? Qual o tipo de impacto, tanto a médio ou longo prazo, que os organismos geneticamente modificados podem causar no ecossistema do planeta, que vão desde a extinção incontrolável de espécies de organismos até o surgimento de novas doenças? Como relatamos no livro, no ano de 2018, um pesquisador da China utilizou a técnica CRISPR para editar embriões humanos para que se tornassem imunes ao vírus HIV, causador da AIDS. Os embriões não só tiveram seu DNA alterado, mas também foram implantados no útero de uma mulher, até que ela desse à luz gêmeos. Isso amedrontou o mundo inteiro por conta do poder da ferramenta CRISPR, e principalmente dos usos indiscriminados da técnica na geração de organismos com conteúdo genético controlado. Portanto, além de discutir o impacto da técnica CRISPR no mundo, discutimos no livro quais os caminhos e implicações éticas dessa técnica no mundo. Que tipo de controle devemos impor para o uso controlado da técnica CRISPR? Queremos produzir em laboratório as próximas gerações de nossos descendentes e também de outros organismos, incluindo dos nossos alimentos? Sem controle algum, iremos direcionar e forçar a composição do conteúdo genético dos seres vivos da nossa natureza. Sem um controle adequado, viveremos em um mundo de seleção genética dirigida e forçada, sem saber quais serão os impactos que ela pode causar ao longo dos anos. Portanto, a leitura desta obra vai permitir que você reflita, de forma profunda, sobre os limites éticos do uso da edição genética no presente e no futuro, e de que maneiras devemos controlar seu uso para que as próximas gerações da humanidade e de todo o ecossistema mantenham seu equilíbrio.

Roberto Hirochi Herai

“Precisamos refletir sobre as implicações mais amplas de uma tecnologia poderosa e a maneira de desenvolvê-la de forma responsável.”

Jennifer A. Doudna

Figura 1 - Desenho esquemático de um plasmídeo com resistências a antibióticos (1" e 2" e um ori 3").	47
Figura 2 - Desenho esquemático da conjugação bacteriana.	47
Figura 3 - Diagrama de mitocôndria humana.	49
Figura 4 - Regiões alélicas do mtDNA relacionadas a síndromes e atividades dos Complexos I, II, III e IV.	52
Figura 5 - Doenças e síndromes mitocondriais segundo a origem x relação genômica.	53
Figura 6 - Pontes de hidrogênio e ligações fosfodiester.	56
Figura 7 - Forma compacta da molécula de DNA com os sulcos onde ocorrem as interações com proteínas.	57
Figura 8 - DNA, replicação semiconservativa.	58
Figura 9 - Replicação do DNA.	60
Figura 10 - Comparação entre diferentes formas da cromatina.	66
Figura 11 - Palíndromo em estrutura de DNA.	77
Figura 12 - Esquema dos mecanismos de ação de CRISPR-Cas9.	80
Figura 13 - Resumo esquemático: herança padrão (Mendeliana) e herança por gene drives.	83
Figura 14 - Linha do tempo: eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma.	101
Figura 15 - A história de vinte anos de CRISPR desdobrada em doze cidades e em nove países*.	146
Figura 16 - Dimensões para análise bioética dos riscos e benefícios de CRISPR.	158
Figura 17. Frequência relativa das referências às categorias do posicionamento favorável ao procedimento da técnica da edição gênica considerando as variáveis idade, sexo, ensino, área e religião	173
Figura 18. Frequência relativa das referências às categorias do posicionamento desfavorável ao procedimento da técnica da edição gênica considerando as variáveis idade, sexo, ensino, área e religião.	173
Figura 19 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR – síntese.	187
Figura 20 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe oportunidades.	188

Figura 21 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 1 – ameaças.....189

Figura 22 - Mapa das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 2 - ameaças.....190

Figura 23 - Mapa das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 3 - ameaças.....191

Figura 24 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR – quadro geral.192

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>
ATCG	Adenina, Timina, Citosina, Guanina
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>

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

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, também conhecido como vetor não integrativo (integrase-deficient lentiviral vectors) e retrovírus)
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, latic 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

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (em português <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina)
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)
<i>NICKASES</i>	<i>quebra em apenas uma das duas fitas de DNA</i>
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	Recombinant Adeno-associated Vírus (em português Vetor recombinante adenoassociado)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (em português Ácido Ribonucleico -ARN)
RNA _m	RNA mensageiro
RNA _r	RNA ribossômico
RNA _t	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>

A ideia deste livro surgiu da necessidade de aprofundar e ampliar o debate em curso acerca das questões éticas que envolvem a edição de genes com a técnica molecular denominada CRISPR-Cas9, sobretudo a partir da divulgação, no final do ano de 2018 de que um pesquisador, He Jiankui, havia promovido a geração de dois bebês gêmeos, cujos genes *CCR5* teriam sido editados com a nova técnica, com o propósito de imunizá-los contra o vírus HIV.

Talvez um dos maiores desafios com que nos deparamos nessa empreitada foi trazer termos técnicos, conceitos e o conhecimento acumulado no campo das ciências da vida que habitualmente não são dominados no campo das ciências humanas e, no sentido inverso, trazer para aqueles primeiros, conceitos, princípios éticos e perspectivas que habitualmente não fazem parte do seu universo de debate. Não se trata apenas de uma dificuldade de linguagem, o que por si só já não seria pouca coisa, mas sobretudo de buscar superar o *Aufklärung* de que fala Jonas em “**O PRINCÍPIO RESPONSABILIDADE - Ensaio de uma ética para a civilização tecnológica**”. Sob essa perspectiva, este livro é também um esforço no sentido de estabelecer a ponte de que fala Potter em “**Bioethics: bridge to the future**” entre as ciências e as humanidades, ou, de uma forma muito particular, entre a genética e a ética.

Esperamos que este livro possa ser uma contribuição singular para este debate, tão urgente quanto necessário e, ao mesmo tempo, sirva também como um guia para auxiliar à reflexão, tanto de pesquisadores, especialistas e estudantes da área quanto daqueles que não estão familiarizados com o tema e a linguagem que lhe são próprias, mas que necessitam ou desejam aprofundar-se no mesmo a partir da genética e a bioética.

Desejamos a todas e a todos uma boa leitura e que ela possa ser-lhes tão interessante e estimulante, quanto o foi para nós escrevê-lo.

Os Autores.

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1	4
DEMARCANDO O PROBLEMA	
CAPÍTULO 2	7
EM BUSCA DO CONHECIMENTO MAIS AMPLO	
2.1 A VIDA E O CONHECIMENTO CIENTÍFICO QUE SE TEM SOBRE ELA: EVOLUÇÃO, GENÉTICA, EDIÇÃO GÊNICA E CRISPR	8
2.1.1 Evolução: o caminho da vida	9
2.1.2 Teoria dos Caracteres Adquiridos	11
2.1.3 Biologia e genética: tentando entender a vida	17
2.1.4 DNA, RNA e outros elementos móveis	44
CAPÍTULO 3	69
FERRAMENTAS MOLECULARES PARA EDIÇÃO DE GENES	
3.1 CRISPR	77
3.1.1 CRISPR – alguns antecedentes históricos	77
3.1.2 CRISPR - atualidades	82
3.1.3 Editores de Base - BE	89
3.1.4 Avanços e perspectivas da pesquisa com CRISPR	90
3.1.5 CRISPR e as pesquisas não institucionalizadas	92
3.2 OUTRAS TÉCNICAS DE EDIÇÃO	93
3.2.1 Zinc-Finger nucleases	93
3.2.2 TALENs	94
3.2.3 Meganuclease	94
3.3 EDIÇÃO GÊNICA: A SOCIEDADE FALA	95
CAPÍTULO 4	97
BIOSSEGURANÇA, BIOPROTEÇÃO E EDIÇÃO DE GENES	
4.1 CLASSIFICAÇÃO DE RISCOS DOS AGENTES BIOLÓGICOS E NÍVEIS DE SEGURANÇA EM LABORATÓRIOS DE PESQUISA & DESENVOLVIMENTO	105

4.1.1 Principais parâmetros norteadores, critérios e especificidades para avaliação de riscos por classes de risco	110
4.2 A BANCADA DO LABORATÓRIO	114
4.3 CIÊNCIA E SOCIEDADE: EM BUSCA DE UM CAMINHO SEGURO	119
4.4 TIMP E A RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 16-CTNBIO.....	124
CAPÍTULO 5	130
AS DETERMINANTES SOCIAIS, GEOPOLÍTICAS E ECONÔMICAS EM UM MUNDO GLOBALIZADO, DESIGUAL, EXCLUDENTE E EM CONFLITO	
5.1 A POBREZA EXTREMA E A EXCLUSÃO COMO FENÔMENO GLOBAL	132
5.2 DA POLÍTICA DO TERROR À GEOPOLÍTICA DA EXPLORAÇÃO ECONÔMICA DOS VULNERÁVEIS	135
5.3 ALGUNS ASPECTOS DA SAÚDE GLOBAL	137
5.4 MEIO AMBIENTE E GLOBALIZAÇÃO.....	139
5.5 REGULAÇÃO INTERNACIONAL E ACOMPANHAMENTO DAS PESQUISAS DE EDIÇÃO GENÉTICA	140
CAPÍTULO 6	154
FUNDAMENTOS DE UMA ÉTICA PARA A EDIÇÃO DE GENES	
6.1 EM BUSCA DE UMA ÉTICA	154
6.2 O PROGRESSO E A EDIÇÃO DE GENES: DO CONHECIMENTO PERIGOSO AO TEMOR.....	160
6.3 UMA PESQUISA DE CAMPO SOBRE O POSICIONAMENTO SOCIAL EM RELAÇÃO À EDIÇÃO GÊNICA NA PRÁTICA.....	170
CONDICIONANTES DO POSCIONAMENTO SOCIAL.....	174
CONFLITOS ÉTICOS ADVINDOS DA EDIÇÃO GENÉTICA EM ADULTOS E EMBRIÕES PORTADORES DA DOENÇA DE HUNTINGTON	174
6.4 DA TÉCNICA À SABEDORIA E À RESPONSABILIDADE: UM DEVER INCONDICIONAL PARA COM O FUTURO.....	177
CAPÍTULO 7	183
REVISITANDO CONCEITOS E PARADIGMAS	
7.1 EDIÇÃO EM LINHAGEM SOMÁTICA X LINHAGEM GERMINATIVA	205

7.2 CURA X MELHORAMENTO: RECOLOCANDO O DEBATE.	206
7.3 BIOSSEGURANÇA E BIOPROTEÇÃO E A REGULAÇÃO INTERNACIONAL...	212
CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO	215
REFERÊNCIAS	226
SOBRE OS AUTORES	265

INTRODUÇÃO

Uma das grandes novidades biotecnológicas que, assim como os temas “transgenia” e “clonagem”, alçou repercussão pública e científica, diz respeito à 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; SGANZERLA et al., 2021).

Nos campos da profilaxia e da terapêutica, as expectativas no potencial de edição do genoma são grandes, estima-se que entre 420 a 560 milhões de pessoas (6% a 8% da população mundial) são afetados por alguma das 7 mil doenças raras. Destas, 80% tem origem genética e 96% não tem qualquer tipo de tratamento (Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa - Brasil). Ainda no contexto da saúde, as infecções com microrganismos multirresistentes a drogas são a causa de mais de 700 mil óbitos todos os anos (ONU MEIO AMBIENTE, 2017; UN ENVIRONMENT, 2017a). Os carcinomas, eventos essencialmente mutagênicos, atingem 32 milhões de pessoas e fazem 8,8 milhões de óbitos todos os anos. A velocidade com que surgem novos casos é surpreendente, são 14 milhões atualmente e estima-se que chegará a 21 milhões/ano até 2030 (OPAS/OMS, 2017a). Some-se a esta casuística, a imensa lista das demais doenças, sobretudo as crônicas e/ou degenerativas, e para as quais CRISPR representa a promessa de materialização de soluções reais num espaço de tempo muito curto, talvez até mesmo de apenas algumas décadas (BARRANGOU et al., 2007).

Mas não é apenas no campo da saúde humana que a ferramenta molecular tem destaque. As inúmeras promessas de melhorias genéticas em espécimes de interesse, nas mais variadas áreas da atuação humana, sobretudo agropecuária, indústria e meio ambiente, talvez sejam ainda maiores. CRISPR-Cas9 representa ainda a capacidade técnica para efetivação da utopia de enquadrar em laboratório o genoma das espécies e comprimir milhões de anos de evolução em projetos exequíveis em poucos anos, e que em algum momento poderão ser traduzidos em expressões fenotípicas parciais ou integrais baseadas em genótipos modelo.

Com efeito, CRISPR é parte do conjunto de ferramentas para edição do genoma atualmente disponível, entre elas meganucleases, ZFNs (“zinc-finger nucleases”) e TALENs (“transcription activator-like effector nucleases”), que se somam inclusive no uso combinado de técnicas e que materializam uma capacidade, ao menos em tese, de intervenção ilimitada no nível do genoma de qualquer espécie.

Este poder, potencializado pela maior simplicidade e rapidez na construção de projetos, pela alta especificidade da ferramenta e facilidade de aplicação em qualquer organismo, associados a baixos custos, constituem as vantagens diferenciais que fizeram com que CRISPR rapidamente ultrapassasse os limites da pesquisa básica para se tornar no que tem sido denominado “a mina de ouro da biotecnologia”. O mercado projetado

com aplicações baseadas em CRISPR, somente entre 2013 e 2015, representou em investimentos de capital de risco em empresas tradicionais, startups e gigantes de setores farmacêutico, agrícola, biomédico e fornecedores de insumos para pesquisa atingissem a cifra de US\$ 600 milhões. Isto se refletiu também no registro de patentes, que até 2015 já ultrapassava mais de uma dezena patentes novas e mais uma centena de pedidos (SHERKOW, 2015; THE HINXTON GROUP, 2015; VAN ERP et al., 2015). O processo vai para além da discussão técnica, pois envolve setores econômicos, geopolíticos, sociais, legais, científicos, etc., e cada um deles envolve questões éticas emergentes (LACADENA, 2017).

Em pouco tempo a técnica já alcançou o nível de “aceitável” de “manipulação precisa e segura do genoma”, contrasta com a realidade de fato. Edições *off-target*, mosaicismos e deleções extensas distantes do ponto de clivagem, com danos genômicos potencialmente patogênicos imprevisíveis, associados a dificuldades no controle do processo de edição, sobretudo *in vivo* (KOSICKI; TOMBERG; BRADLEY, 2018; MAEDER; GERSBACH, 2016), constituem parte dos desafios por superar e que põe em dúvida se a sua adoção é segura para projetos de pesquisa aplicada, tais como aqueles que tem por propósito a geração de *gene drive* (impulsos genéticos), embriões humanos viáveis e terapia gênica (COHEN, 2019; DZAU; MCNUTT; BAI, 2018; LIANG et al., 2017; GANTZ; BIER, 2015). Entre um e outro, diante do aumento exponencial das pesquisas de aplicação com CRISPR, um movimento crescente reivindicando a necessidade urgente do debate sobre as implicações éticas envolvidas e a necessidade de adoção de regulamentação internacional sobre o uso da técnica, que incluem até mesmo propostas de moratória, começaram a surgir a partir de 2015 (EDITORIAL NATURE, 2018; NORMILE, 2018; LANPHIER et al., 2015; REGALADO, 2015).

O norteamento sobre as questões éticas da aplicação prática da CRISPR não são assumidas pela comunidade científica, que na literatura reconhecem ou indicam que existam implicações éticas, sem, contudo, aprofundá-las (SAVI; SCHWANK, 2016; LIANG et al., 2015^a; LANDER; CHIURILLO e DOCAMPO, 2016; ZENG et al., 2018; GANTZ et al., 2015; MA et al., 2017; DOUDNA, 2015a;). Outras tantas, acrescentam a necessidade de regulamentação das pesquisas com base nos problemas relacionados à técnica (BOSLEY et al., 2015). No entanto, são ainda poucas as publicações que discutem o uso de CRISPR a partir da bioética e menos ainda aquelas que aprofundam e correlacionam aspectos técnicos e éticos (HEITMAN, SAWYER e COLLINS, 2016; CHARO et al., 2017). Um aspecto que é comum na maioria destas publicações é que, ao tratar de riscos e benefícios, a perspectiva antropocêntrica de propósito utilitarista é predominante.

Em âmbito social, como trazer o cidadão comum para o interior do debate que costumeiramente lhe é hermético e transformá-lo em ator ativo da reflexão e do debater sobre o fazer ciência, já que ele é ao mesmo tempo, ao menos em tese, a razão e o propósito de toda ciência e de toda ética? Como ter um vislumbre de alguma clareza

razoável acerca dos riscos e benefício da técnica (no sentido restrito da ciência) e das ameaças e oportunidades (no sentido amplo da sociedade) e ao mesmo tempo, como conciliar uns e outros, de modo que o sentimento de pertencimento e cooperação entre ciência e sociedade encontrem na sabedoria e na compaixão sentido?

Para tanto, recorreremos ao pensamento de Van Rensselaer Potter (1911-2001) e Hans Jonas (1903-1993), precursores dos fundamentos da Bioética Global. 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 ela mesma uma fragmentação do conhecimento. Por via de consequência, isto nos impõe um método de trabalho que se compatibilize com a crítica, de modo a evitar que esta reproduza o criticado, que de partida seria uma violação grave dos princípios e fundamentos defendidos pelos autores (POTTER, 1998).

Por fim, este livro intenta ser uma contribuição ao debate público iniciado muito recentemente e ainda em curso acerca do conhecimento sobre a técnica CRISPR-Cas9 e o que ela 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 conceituados especialistas, tanto em manifestações individuais e coletiva. (CHARO *et al.*, 2017; ONU - UNESCO, 2015a; LANPHIER *et al.*, 2015; BALTIMORE, BAYLIS, *et al.*, 2015; MATHEWS *et al.*, 2015; DOUDNA, 2015a).

DEMARCANDO O PROBLEMA

“Reescrever o código da vida”

Para Sherkow, o limite do CRISPR “é a imaginação humana”. A ferramenta molecular de edição genética CRISPR-Cas9 é uma oportunidade (talvez a melhor e a mais factível produzida até o momento) para resolução de uma infinidade de problemas de saúde, para a cura de doenças adquiridas ou hereditárias e para o aperfeiçoamento das espécies, sobretudo a humana. Mas qual é o ponto de controvérsia? Como poderia representar 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 aqui 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 o Conhecimento (a episteme, elemento estruturante da razão e do arbítrio) é possível de ser alcançado. O que remete a reflexão acerca da existência ou não da Verdade, e se uma vez existindo, 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 tangíveis, 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. Aliás, antecipando o debate que faremos mais adiante, escolhas, porque fazem parte do agir, 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. Claro que ainda restariam aquelas circunstâncias em que todos os caminhos são bons, mas neste caso, não se trata de um dilema no sentido aqui adotado, mas tão somente da escolha por resultados ou benefícios dentro de uma escala de preferências em razão de suas vantagens. 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 ou neutralidade 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 doravante iremos tratar neste livro.

Ao debater a edição de genes, em especial aquelas mediadas por CRISPR, convém à prudência que reconheçamos desde logo que algumas das escolhas que precisarão ser feitas pelo nosso tempo estão permeadas de conflitos de interesses. Na sua base, nos deparamos com questionamentos de fundo, dos quais destacamos alguns: quais as consequências e custos sociais e ambientais decorrem da escolha de cada escolha, 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 autorregulação, 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 situações que envolvam acidentes ou incidentes biológicos em escalas regionais ou globais, 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, emergem questionamentos necessários 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.

A abordagem será conduzida com o intuito de 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 de tais fatores de riscos e benefícios, levando em consideração as determinantes

socioculturais, econômicas e geopolíticas em um mundo globalizado.

Para analisar as implicações éticas envolvidas faremos três abordagens distintas, mas interligadas: descritiva, prescritiva e analítica. Para tanto veremos alguns dos principais elementos de uma pesquisa bibliográfica exploratória narrativa interdisciplinar e transversal que realizamos para este fim, 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, separaremos 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.

Dito isto, 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 et al., 2015a).

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 advertiam: “As modificações genéticas hereditárias humanas representam sérios riscos e os benefícios são tênues”. Nele, também consta singular proposta de moratória voluntária (Lanphier *et al.*, 2015, tradução nossa). Especialmente relevante foi a manifestação apresentada pela 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 a mesma levantou importantes e necessárias reflexões sobre os riscos e impactos decorrentes do uso da técnica (DOUDNA, 2015b).

EM BUSCA DO CONHECIMENTO MAIS AMPLO

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).

Se CRISPR é um tema tão recente da biotecnologia, que na sua raiz como ferramenta de 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 o é.

A vida como fenômeno da natureza, a complexidade da molécula de DNA, o papel das mutações no intrincado processo da evolução, a multifacetada interação entre as espécies e o frágil equilíbrio dos ecossistemas que suportam e sustentam a vida no planeta parecem estar intangivelmente muito além do conhecimento até agora acumulado. Mora e associados (2011) olhando a surpreendente variedade desta vida, se propuseram a calcular quantas espécies existem em nosso planeta. A conclusão que chegaram é de que atualmente somasse algo em torno de 8,7 milhões de espécies, admitindo uma variação de 1,3 milhões para mais ou para menos. Isto contrasta com a quantidade de espécimes conhecidas de fato, aquelas que já foram identificadas, descritas, classificadas e catalogadas¹, que é de apenas 1,2 milhões, ou 13,8% da estimativa. Significa dizer que não sabemos nada sobre a maioria absoluta (86,2%) das espécies que coabitam este nosso pequeno planeta. Aliás, mesmo daquela parcela conhecida, apenas uma pequena parte tem seu código 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 em 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%, codificam 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 para a ciência, quiçá tão grande ou até maior

1. Consta que outras 700 mil espécies estão classificadas aguardando publicação. (AGÊNCIA FAPESP, 2011).

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 todo ser vivo.

A primeira edição gênica realizada em laboratório com sucesso² tem menos de 50 anos e apenas uma década nos separa 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 Boeing 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 mesma 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.

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.

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

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 afinilamento fragmentador do conhecimento no sentido tradicionalmente atribuído à alta especialização. Trata-se, em verdade, de uma ampliação pela via da incorporação interdisciplinar de conhecimentos especializados diferentes sobre um mesmo objeto de estudo. Tal conhecimento deve vir acompanhado de um esforço no sentido de

2. 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.

estabelecer transversalmente conexões entre os mesmos, de modo a que invariavelmente sejam capazes de construir saberes novos, que não seriam possíveis da maneira isolada como normalmente se dá na 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 e talvez até totalmente nova 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. Para darmos conta dessa tarefa, 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).

Estima-se que a primeira forma de vida 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 homínido (LEAKEY, 1997). Os primeiros *Homo sapiens sapiens*, 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 não é uma escala de tempo com utilidade científica propriamente dita, mas uma linha crítica de reflexão sobre o quanto de fato conhecemos de todo este processo.

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).

Dentre as várias teorias explicativas para o surgimento da vida em nosso planeta e para a evolução das espécies, dada a importância que vários conceitos próprios da área têm para a nossa discussão, bem como da especificidade da sua linguagem corrente nas pesquisas a que doravante faremos referência: a *Teoria Sintética da Evolução* ou *Neodarwinismo* – que tem como base a *Teoria da Evolução das Espécies através da Seleção Natural* de Darwin³ (DARWIN, 2009) -, 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 da Evolução (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. Três questões nortearão o texto: 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 escopo 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 delas nos dirão mais que as certezas que lhes são próprias., do que tratam essas teorias, para depois prosseguir em nosso debate.

3. *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).

2.1.2 Teoria dos Caracteres Adquiridos

Também conhecida como Teoria Pré-Darwiniana da Evolução ou Lamarckismo, 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. Lamarck 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).

Teoria da Evolução

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”. (FUTUYMA, 1992, p. 10). Esclarecedora é sua afirmação de que: “os principais dogmas 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 que são ainda um desafio não superado. Aliás, não apenas este, como assinalam também vários neodarwinistas. Dadas assertivas tão contundentes urge perguntar: quais são aqueles dogmas de que falava Futuyma (1992)?

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. 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 da Evolução 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.

Teoria Sintética da Evolução

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. Esta teoria afirma a transformação lenta e gradual das espécies, através do mecanismo de seleção natural atuando sobre os genes. (FELIZARDO, 2006).

Nesse esforço para superar as limitações iniciais da Teoria da Evolução, 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 haveria 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).

A partir de Mendel, segundo Felizardo (2006), a evolução das pesquisas no campo da genética, principalmente a respeito da hereditariedade, se soma 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, paleontologia, morfologia e 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. [...] 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”. (FELIZARDO, 2006, p. 31). Não entraremos nos detalhes dessa questão, 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 variabilidade genética dos organismos de determinada população". (FELIZARDO, 2006, p. 38).

Futuyma, ao tratar de biologia evolutiva, aponta que a confiança em tais princípios assume tal ordem de grandeza que passou a fundamentar 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 aqui discutimos:

"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 a ambos 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 melhor adaptado, não necessariamente do mais complexo ou do mais sofisticado, não tem caráter antropocêntrico e evidentemente não tem nenhuma relação com tecnologia.

Considerações adicionais à reflexão evolucionista

Futuyma faz a seguinte reflexão:

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, haveremos de resgatá-las quando tratarmos do uso de edição gênica para fins de melhoramento e principalmente nas conclusões.

Niles Eldredge e principalmente Stephen Jay Gould indicaram 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 propuseram a sua 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 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 desenvolveu a Teoria do Equilíbrio Pontuado, na qual a evolução não seria lenta e gradual, mas em saltos evolutivos⁴, 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 consideraram 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”⁵ ou “spandrels”⁶. (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

4. A idéia 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).

5. 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; VRBA, 1982).

6. 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.

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 pudessem ter-lhes dado 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 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 são importante, Hector Seuánez, traz um debate interessante sobre uma questão bastante específica, o paradoxo do crescimento rápido do cérebro humano, que ao mesmo 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 1×10^6 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. (Seuánez, 1979, p. 3, tradução nossa).

Logo em seguida Seuánez 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 36×10^6 e 23×10^6 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 cm^3 em *Australopithecus africanus*, [...] há 4,5 milhões de anos. Se considerarmos 1.400 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 11×10^6 e 7×10^6 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. (Seuáñez, 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 indicio de intercruzamento com a população pré-moderna. Todas as amostras de DNA mitocondrial⁷ ⁸ 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)

7. 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”.

8. 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).

2.1.3 Biologia e genética: tentando entender a vida

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).

Flexibilidade e diversidade são elementos importantes ao se considerar, por exemplo, uma das estratégias de biossegurança utilizada ao editar genes em determinados microrganismos consiste em implementar barreiras biológicas. Na biocontenção 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, de modo que, não sendo atendida, cause 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 morra; dessa forma ele se extinguirá 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, poderão alcançar os reservatórios naturais de petróleo, o resultado é óbvio. Evidentemente, aqueles que se apegam às estatísticas 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.

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^{9,10}". (Lewontin, 2001, p. 1, tradução nossa).

Todos os seres vivos existentes nesse nosso pequeno planeta têm uma estrutura básica comum (vide item 4.3.1): 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 ao mesmo tempo 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 distintas, num infundável processo de criação e extinção.

Somos apenas uma daquelas 8,7 milhões de espécies (MORA et al., 2011) que citamos anteriormente. 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 extraordinariamente 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 tampouco evolutivo: as lombrigas

9. 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.

10. 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). No texto original de Schrodinger lê-se: "*The chromosome structures are at the same time instrumental in bringing about the development they foreshadow. They are law-code and executive power, to use another simile, they are architect's plan and builder's craft 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).

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 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 dizem que a biologia molecular tinha um dogma: a síntese da vida seria $DNA \rightarrow RNA \rightarrow Proteína$, 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 incógnita¹¹, designado em certo momento de “lixo genético”¹² (GEE, 2001); possivelmente, diziam, “resíduo evolutivo” ou, como preferiam outros, “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 nucleicos¹³. Aliás, o próprio sistema CRISPR-Cas é um exemplo de transcrição reversa. Curiosidades à parte, um experimento com ratos identificou uma 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.

11. 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). Outra renomada revista, a 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. Desta forma, 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.

12. Em um dado momento da construção do conhecimento acerca do DNA, a parte não codificante, que se supunha não ter nenhuma função no contexto genômico, chegou a ser denominada de “lixo genético” (do inglês “*dark matter*” ou “junk DNA”), uma espécie de resíduo evolutivo. O termo parece ter sido empregado pela primeira vez em 1972 por Susumi Ohno (2012), em artigo publicado no *Simpósio Brookhaven* sobre Biologia.

13. A transcrição reversa começou a ser proposta a partir da descoberta de que Prions, uma proteína infectante sem material genético poderia se ligar ao DNA. (ALPER et al., 1967; GRIFFITH, 1967; PRUSINER, 1982).

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.

Tão surpreendente e insólito quanto o tamanho do desafio que o PGH se propôs a superar foi a conclusão a que chegou. Se a proposta inicial era conhecer e dominar o intrincado e indecifrável genoma humano, e com isso alcançar um novo status evolutivo para a nossa espécie, a conclusão lacônica a que se chegou, treze anos depois e com 99% do genoma mapeado, foi de que este é um livro no qual ler e compreender não são a mesma coisa. Se por um lado apenas um terço da quantidade de genes que se imagina existirem foram mapeados, em torno de 25 mil genes¹⁴, e que apenas 3% de todo o DNA é codificante, por outro, 97% se revelaram uma incógnita para a qual o PGH não encontrou nem resposta e nem explicação (FERREIRA, 2016). Caiu por terra aquela visão mecanicista que equiparava o código genético a um programa de computador, no qual seria possível corrigir erros no genoma, tal qual erros de programação e até mesmo criar novos genes e novos programas para um novo futuro de uma nova humanidade (CORRÊA, 2002).

Leite(2006) traça um interessante mapa do pós PGH, não apenas para dar sentido a tamanho 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 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 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

14. Atualmente estima-se que o total de genes codificantes de proteínas no DNA humano seja algo próximo de 19 e 20 mil genes. (EZKURDIA et al., 2014).

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 nesse debate, embora seja ele talvez um dos mais importantes que cientistas e sociedade precisem e devam fazer.

Casos emblemáticos e atuais de evolução

Trataremos a seguir 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 humanos¹⁵ nos últimos dois 2.500 anos,

15. 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.

em vários eventos epidêmicos e pandêmicos, é exemplificativo 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 considerada extinta¹⁶, 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 prófago¹⁷ (*YpfPhi*) no biovar¹⁸ *Microtus*, mutações nos genes de virulência, como *yopM* e *pla*, e distribuição de pseudogenes podem explicar avirulência do mesmo em humanos. A transmissão se dá pela picada de 80-espécies diferentes de pulgas infectadas¹⁹, carreadas por 200 espécies de roedores, principal mecanismo de contágio, mas também por carcaças infectadas para outras localidades. As aves, embora imunes a peste, completam o ciclo epidemiológico servindo como meio de transporte dos insetos infectados de uma região para outra (tema que iremos tratar logo a seguir). 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. A formação de aerossóis, que facilitam o contágio pelas vias respiratórias é uma característica propícia ao desencadeamento de epidemias e ao desenvolvimento de armas biológicas (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

(BARROS, 2012).

16. 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-sentinelas (99.1% cães) soropositivos, distribuídos nos Estados de Pernambuco, Minas Gerais e Rio Grande do Norte". (BARROS, 2012)

17. 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.

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

19. 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).

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 enteropatogênicas²⁰, 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 essa passagem se deu ao acaso, darwiniano ou não, o fato é que além do ferramental evolutivo nato, os recursos de edição do genoma atualmente disponíveis possibilitam, proposital ou acidentalmente, reproduzir equivalente façanha de *Yersinia pestis*. Isto se torna ainda mais assustador se levarmos em conta o fato de que uma edição acidental possa gerar como consequência uma mutação adaptativa que pode ser considerada de início inerte, ou até mesmo nem 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

20. Se referem a bactérias que tem capacidade de provocar infecção intestinal em humanos.

simbiótica, se expostos a outros ambientes (outros órgãos do corpo), podem se revelar patogênicos, com variados graus de morbidade e letalidade²¹. O referido trabalho chama também a atenção para o surgimento de variantes patogênicas 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) buscaram mapear a dispersão pelo continente americano de parasitas *haemosporidiano*s²² (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) através das aves migratórias, algo especialmente relevante visto que elas podem reter infecções parasitárias por todo o ciclo anual de vida e até mesmo por anos. O estudo intitulado “*Avian migration and the distribution of malaria parasites in New World passerine birds*” permitiu estabelecer, a partir da análise dos genomas coletados, as conexões entre faunas distantes (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, 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).

21. “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 patogêna, causando agravos como pneumonia e meningite, entre outros. (LANGELIER, 2018).

22. “Parasitas hemosporidiano 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).

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).

Moon (2017) realizou trabalho semelhante nos continentes euro-africanos, envolvendo “259 linhagens de parasitas aviários e demonstrou que 31 linhagens carregadas por aves migratórias podem infectar aves residentes locais”.

Do que vimos até aqui, parece claro que, se por um lado, microrganismos como vírus e bactérias se adaptam para suplantar os desafios do meio ambiente e sobreviver (no sentido Darwinista de evolução), a mobilidade obtida por eles cria as oportunidades de exposição a ambientes distintos e a novos desafios, gerando com isso, novas possibilidades de adaptação e ampliando as chances de sobrevivência. No entanto, estas circunstâncias, que por milhões de anos era prerrogativa exclusiva da natureza, que o faz a passos lentos e por isso mesmo se permite muitos erros para poucos acertos, vem sendo rapidamente modificadas pela interferência humana no meio ambiente, impondo desafios não naturais e forçando a que tais microrganismos evoluam e os suplante em ciclos de tempo cada vez mais curtos, o que eles têm feito, para nosso azar, com sucesso.

Um desses 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.

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 as atividades pecuária e piscicultura. As moléculas que compõem tais medicamentos possuem uma característica quimicamente interessante, parte delas não sofre degradação no processo digestivo dos animais que as consomem, passando inalteradas pelos sistemas de tratamento de água potável e de esgoto²³ e acabam sendo carregadas para o meio ambiente. A conclusão óbvia segue duas vias: a primeira é de que o meio ambiente alterado quimicamente pela sobrecarga de selecionadores de resistência amplia substancialmente as oportunidades evolutivas de patógenos de interesse (incluindo aqui as aves migratórias e seus hospedeiros), e segundo, que seres humanos consomem tais substâncias não apenas quando necessitam, mas também quando consomem carnes, derivados e água. Não causa surpresa o surgimento já na década de 1960 das primeiras bactérias resistentes aos betalactâmicos (penicilina) (CERDEIRA *et al.*, 2016, 2017; FACHIN, 2016; MOURA *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2017; TURANO *et al.*, 2016).

23. 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).

Para que se tenha uma dimensão mais clara do problema em termos de escala global, somente na Europa, estima-se que o volume de antimicrobianos destinado ao consumo humano seja de 5 mil toneladas e multiplica-se por 10 para não humano, chegando a 50 mil toneladas. Com base nesses números, a projeção em termos globais, que inclui grandes produtores como EUA e Brasil, ultrapassa 200 mil toneladas (FACHIN, 2016). E já que estamos tratando de edição de genes, vale registrar o interessante estudo de Weinberger e Gilmore (2012) no qual sugerem que em algumas bactérias, o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos pode estar associado a presença de cassetes CRISPR-Cas.

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 nanomateriais²⁴ - 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 e climáticas, mas de outra ordem nada natural (NOHAMA; SILVA; SIMÃO-SILVA, 2021). Dito isto, mais adiante iremos retomar algumas questões ligadas ao meio ambiente quando formos discutir epigenética.

Relatório da ONU Meio Ambiente já em 2017 estimava que “700 mil pessoas morrem todos os anos de infecções por bactérias muito fortes²⁵, que não são debeladas com os

24. A definição de nanomateriais não está plenamente convencionada. 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., glutatíon). [...] 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 2). 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, 2013b).

25. 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

remédios atualmente disponíveis”. (ONU MEIO AMBIENTE, 2017; UN ENVIRONMENT, 2017a, 2017b). A persistir a lógica de consumo atual, até 2050 a resistência bacteriana será de tal ordem que nenhuma classe de antimicrobianos será eficiente²⁶. Apenas para se ter uma ideia, a tuberculose, umas das chamadas doenças reemergentes, que até bem pouco tempo vinha sendo debelada com antimicrobianos de primeira geração, reapareceu recentemente como bactéria multirresistente:

“O fato é que, devido à resistência cruzada²⁷, 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 enrofloxacina, de uso expressivo na produção animal, inclusive para animais de companhia, que, ao ser quebrada pelo fígado do animal, libera como metabólito a 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*,

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 meticilina, 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.

26 “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 decompor matéria orgânica, incorporam DNA (genes) de outras bactérias, tornam-se multirresistentes”. (FACHIN, 2016).

27. “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 meticilina (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).

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 Lincopan:

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 comercial²⁸. (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. Não por acaso, as novas gerações de patógenos tem alcançado êxito em evoluir e se tornar progressivamente mais infectantes, virulentos e letais, típico caso disto é a penicilina.

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 biofilmes, 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 suplantam 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 os desafios em termos de a complexidade, amplitude e dificuldades a serem superadas.

28. “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 desenvolvimento do PGH, 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, na atual conjuntura de insuficiência, e até mesmo de ausência desses conhecimentos e de outros que iremos abordar adiante, parece necessário uma reflexão mais detida e aprofundada para se saber se a pesquisa aplicada pode avançar e em quais áreas.

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 adentar. Desta forma, nos será suficiente indicar a sua necessidade.

Diversidade, variabilidade, imprevisibilidade e determinismo genético

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

Convém, desde logo, especificar o entendimento que aqui adotaremos acerca destes conceitos: assumiremos que *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 do ambiente e eventualmente, tornar possível a sobrevivência e a evolução. Dito isto, sigamos em frente.

A base da imensa diversidade de todos os organismos procariontes e eucariontes está contida nos nucleotídeos: DNA nuclear e 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 eventualmente alterados por 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 (trataremos mais detidamente a este respeito mais adiante). A complexidade do funcionamento e das interações que este conjunto de elementos genéticos estabelece entre si, endogenamente (enquanto unidade celular e organismo) e com o meio ambiente, representa, senão um novo desafio, ao menos uma escalada substantiva de demanda por mais conhecimento, sobretudo para a pesquisa gênica que, como dito anteriormente, apesar do esforço científico empreendido até aqui, muito ainda há por desvelar.

As mitocôndrias, ainda que restritas a apenas uma parte dos eucariotos, são um exemplo interessante dessa complexidade: apesar de serem organelas compostas por pequenas cadeias de nucleotídeos e realizar tarefas aparentemente bastante específicas, o seu funcionamento e/ou eventuais interações erráticas com o DNA nuclear ocasionam uma variabilidade de situações cujos limiares de expressão fenotípica podem ou não caracterizar doenças genéticas, que variam de pouca ou nenhuma relevância clínica a gravíssimas e letais. Dada a singularidade do material genético mitocondrial e visto que o mesmo tem sido alvo específico de projetos de edição gênica, dedicamos um tópico especial para este tema mais adiante.

A epigenética parece ser outro daqueles fatores chave para a compreensão desses

fenômenos. Embora não tenhamos o propósito de adentrar com profundidade nos seus mecanismos, dedicamos um item específico para este tema (vide item 2.1.4) que auxilia o debate sobre edição gênica e amplia as perspectivas sobre ameaças e oportunidades. Desde logo, porém, convém observar que se situa aqui, de maneira muito especial, parte do 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.

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”, mesmo porque, 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.

Fazendo um parêntese, o trágico sobre a imensa diversidade existente na natureza, é que segundo consta na *Lista Vermelha* da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais, de uma amostra de 59.508 espécies, 19.625 estavam ameaçadas de extinção. Isso representa apenas 1% daquelas 8,7 milhões de espécies que se estima existirem, o que significa que “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). Embora a lista já tenha uma década, não há notícias de melhoras significativas nesse quadro. Se por um lado, parece óbvia a relação *extinção x progresso humano*, incorporar este imenso desconhecido em termos de espécies e de genomas e entender como a edição de genes interfere nessa equação para fins de estudos de biossegurança e de impacto ambiental certamente se constitui em um grande desafio que o conhecimento atual não tem o alcance necessário para superar.

Essa inimaginável e ainda intangível diversidade está em todo lugar e de maneiras que até bem pouco tempo sequer imaginávamos, ou para sermos mais honestos, ainda não conseguimos imaginar. Só para se ter uma ideia, 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 pode ser vista em nossa própria espécie. Em nossa microbiota, 38 trilhões de bactérias e outros microrganismos que coabitam, convivem, compartilham e participam de funções de imunidade, reprodução, tarefas metabólicas e outros benefícios com o nosso organismo²⁹, que é composto pela mesma quantidade de células (SENDER; FUCHS; MILO, 2016). São 500 milhões de anos de evolução baseada na cooperação co-adaptativa³⁰ a determinar a sobrevivência compartilhada nossa e de nossos hospedeiros. Cho e Blaser (2012), calculam que ao longo de uma vida humana, tenhamos 1 milhão de gerações de bactérias e que toda essa diversidade genética, levadas em conta as interações epigenéticas, deve ter efeitos evolutivos sobre o metagenoma e os fenótipos de ambos. Isso nos diz que se em termos de vida em nosso planeta, diversidade é a regra, conviver, compartilhar, coabitar devem ser uma contingência primária, um imperativo no qual os termos, adaptação, evolução, sobrevivência e extinção não possam ser conjugados no singular.

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 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 seria o ferramental biológico dessa façanha? Fundamentalmente, mutação, que Futuyama 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

29. O cálculo foi baseado em um organismo modelo, que como referência, é um espécime do sexo masculino, que difere do organismo feminino em termos de microbiota relacionada ao sexo. (CHO; BLASER, 2012; SENDER; FUCHS; MILO, 2016).

30. Dos 50 filós conhecidos, 10 compõem a microbiota humana, havendo uma prevalência de apenas 6 delas. Cho e Blaser (2012) consideram que essa restrição decorra da existência de organismos e genes de contingência que estabeleçam nível de compatibilidade ou afinidade genética e portanto, limites permitidos pelo genoma humano.

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 delas decorrem. As diversas doenças de origem mitocondrial, a 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) são uma pequena parte do imenso universo de doenças genéticas cujas expressões fenotípicas são em grande parte, um processo longo e de muito sofrimento para seus portadores e que afeta profundamente todos os que participam dos seus cuidados e padecimento. A impressionante trajetória de vida do físico Stephen Hawking, acometido de ELA, bem como os casos dos bebês Charlie Gard, vítima de Síndrome de Miopatia Mitocondrial e Alfie Evans, vítima de doença neurodegenerativa severa associada com epilepsia (que o levou a permanecer em estado semivegetativo por mais de um ano), são três exemplos famosos do itinerário dramático porque passam diariamente aquelas milhões de pessoas e famílias de que falamos no início. Grande parte destas doenças são poligênicas e multifatoriais, dois aspectos que, dado o atual estágio do conhecimento da ciência, representam um desafio imenso e cujos avanços dependem de muito investimento em pesquisa, algo escasso numa área em que elevados custos no desenvolvimento de uma cura ou tratamento não coaduna com perspectivas de retorno e viabilidade econômica. 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 ao 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 em “A Origem da Espécie Humana”, 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, sem desprestígio à importância capital dos genes e das mutações na base da imensa diversidade experimentada pelas espécies, incluindo a humana, tem se tornado cada vez mais necessário entender que há algo além dos genes a interferir na variabilidade dos fenótipos, capaz de concorrer em favor de uma imprevisibilidade surpreendente, o que torna cediço argumentos que de alguma maneira persistem na metáfora do organismo como uma máquina, cujo resultado pudesse 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 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 à 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?

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, e 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 perpassa em boa medida a bancada do laboratório.

Transladando essa 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.

Mutações

Pois bem, parece que não é possível falar em diversidade sem falar de duas outras coisas: mutação e recombinação. Tratemos da primeira: 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 do indivíduo 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 Tabelas 10 e 11). 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 livro.

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 microRNAs. Estas modificações podem ocorrer na sequência de nucleotídeos ou na estrutura do cromossomo de uma célula, não na sua expressão³¹, 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). De outro modo, 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 neste sentido, poderia ser traduzida como um não erro. Todas as células de um organismo estão sujeitas a mutações, sejam elas de 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 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

31. 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 à herança transgeracional.

adentram também no campo da epigenética, que discutimos 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 suscetível às mutações e a expressões fenotípicas diferenciais ou indesejadas ajuda a discutir sobre qual material genético, quais processos e qual expressão gênica se está mirando 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 Tabela 1). Já as cromossômicas podem ser numéricas ou estruturais, podendo afetar uma determinada região do cromossomo, um cromossomo inteiro ou todo o conjunto (vide Tabela 1). Convém lembrar que não se incluem aqui, em princípio, as mudanças estruturais da cromatina, que tratamos mais adiante, quando falamos de epigenética.

Mutações Gênicas		
Substituição (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
Deleção (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.	
Inserção (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.	

Tabela 1 - Tipos de mutações gênicas.

Fonte: adaptado de Martins (2016).

Mutações Numéricas ou Estruturais				
Numéricas	Euploidia ^(a)	Ocorrência de alteração completa do genoma	Haploidia	Perda de metade do material genético.
			Poliploidia ^(b)	Ganho de material genético (x.2n).
	Aneuploidia ^(c)	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 extras.	
Estruturais	Deleção ^(d)		Falta uma porção de um cromossoma.	
	Duplicação ^(e)		Existência de duas cópias de uma dada região cromossômica, frequentemente associada à deleção no correspondente cromossomo homólogo.	
	Translocação	Transferência de segmentos entre cromossomos não homólogos	Simple ^(f)	Transferência de um segmento de um cromossomo para outro não homólogo.
			Recíproca ^(f)	Troca de partes entre dois cromossomos.
			Robertsoniana ^(g)	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 ^(h)	Remoção de um e inserção num outro local do	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.

(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 mosaicismos (associado a síndrome de Down, síndrome de Klinefelter e síndrome de Turner). Mosaicismos 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 numéricas 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.

Tabela 2 - Tipos de mutações numéricas ou estruturais.

Fonte: adaptado de Martins (2016).

Vale ressaltar que em geral as pesquisas com edição gênica tratam de modificações na seqüência 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 referiremos a alguns destes conceitos ao tratar da técnica CRISPR e, de passagem, também outras técnicas de edição, motivo pelo qual recomendamos revisar esse tópico sempre que necessário.

Determinismo genético e a perfeição

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 imunidade a todas as patologias, talvez até da senescência, quiçá da própria finitude. (CORRÊA, 2002; FIORAVANTI; 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 de se postar diante do futuro. Traduzida principalmente na estética, na lógica, matemática, geometria, física, cosmologia, na ética e na epistemologia, a ideia da perfeição via de regra está associada a outra ideia “iluminista”: a de conhecer para controlar e dominar a natureza³² através das ciências³³ (KESSELRING,

32. 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).

33. 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

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. Isto posto, como cultura é herança histórica, 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 ambição humana.

Mas o que dessa discussão nos interessa? 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. Uma delas está contida desde logo no seu pressuposto, o determinismo genético, que está implícito na ideia, no propósito de um código genético perfeito, fonte e fundamento do ser perfeito. Afinal, parece que não faria muito sentido perseguir a perfeição se ela não fosse tangível, se não pudesse ser alcançada. Mas para alcançá-la são 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).

Se por um lado, do ponto de vista da sociedade em geral, o Projeto Genoma Humano não logrou sequer chegar perto desse objetivo, a engenharia genética não raras vezes, parece ter servido, ainda que involuntariamente, 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 e 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 inscrita no DNA, 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 assumimos como verdade que sem as mutações, nos moldes Darwinianos ou pós-Darwinianos³⁴ – inclusive incorporando a ampliação da janela explicativa de

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).

34. 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

Gould, de que tratamos ao debater evolução –, não há evolução e sem evolução, não há sobrevivência, corremos o risco de nos vermos diante da contingência de ter que assumir que sem a previsibilidade da genética, ao menos sob uma certa perspectiva, não é possível entender a vida e explicar como ela funciona. Ao enveredarmos pelo julgo da previsibilidade, forçosamente assumimos que para tal vida há padrão, segue um modelo e, portanto, é determinista. Este parece ser o fundamento sem o qual não é possível conceber a viabilidade de editar genes. Vários estudos têm 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 nos é suficiente demarcar a antinomia.

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 conseqüências 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. Evidentemente que as implicações disto sob o ponto de vista da ideia de 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 têm 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. Por outro lado, parece haver dúvidas razoáveis sobre se a realidade da vida, dos genes, dos organismos mais simples aos mais complexos se conformam plenamente a este modelo.

Considerados tais elementos, 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

certamente muito diferentes.

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 seja delas que urge nosso interesse, mas das implicações no campo da pesquisa. Apenas para citar um exemplo, ao discutir o PGH, Leite 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 agora 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 dirige 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.

2.1.4 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 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.

Conceitos importantes

Plasmídeos

Uma das organelas que compõe a estrutura intracelular de bactérias, de especial interesse para a nossa discussão, são os chamados plasmídeos, dentre eles o nosso já conhecido *IncX4*, que carrega o gene de resistência *mcr-1*. Por definição, plasmídeos 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 ORI³⁵ (vide figura 1) 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*³⁶. 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

35. 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. (GRIFFTHS et al., 2002).

36. *Saccharomyces cerevisiae*, eucariota unicelular, é uma levedura utilizada como fermento biológico na produção de pão, cerveja e etanol.

produzir enzimas degradativas (vide na Tabela 3 alguns exemplos de fenótipos conferidos por plasmídeos a organismos procariontes). Alguns tipos de plasmídeos produzem enzimas que formam PILI³⁷, estrutura necessária para a transferência de plasmídeos entre células, (vide figura 2). 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 de nucleotídeos específicas.

Os primeiros usos desse 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 iniciam o processo de duplicação e ao mesmo tempo é adicionado o antimicrobiano que eliminará os vetores que não contêm 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 imunológicas 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 ADDGENE³⁸, 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

37 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.

38. 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).

desenvolvimento possam utilizá-lo para iniciar seus 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 seletor 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.

Classe fenotípica/função	Organismo
Produção de antimicrobianos	<i>Streptomyces</i>
Conjugação	Ampla gama de bactérias
Funções metabólicas	
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, Staphylococcus</i>
Resistência	
Resistência a antimicrobianos	Ampla gama de bactérias
Resistência a metais tóxicos	Ampla gama de bactérias
Virulência	
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>

Tabela 3 - Exemplos de fenótipos conferidos por plasmídeos em procaríotos.

Fonte: adaptado de (SILVA; MEDEIROS, 2018)

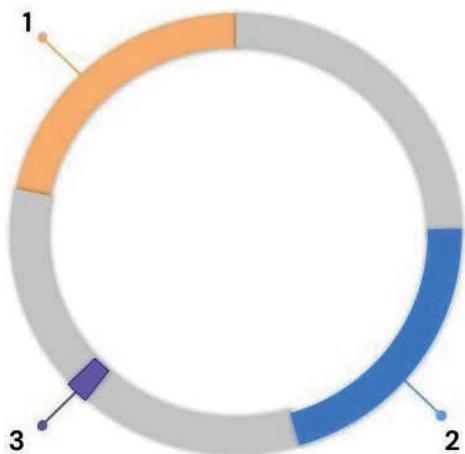
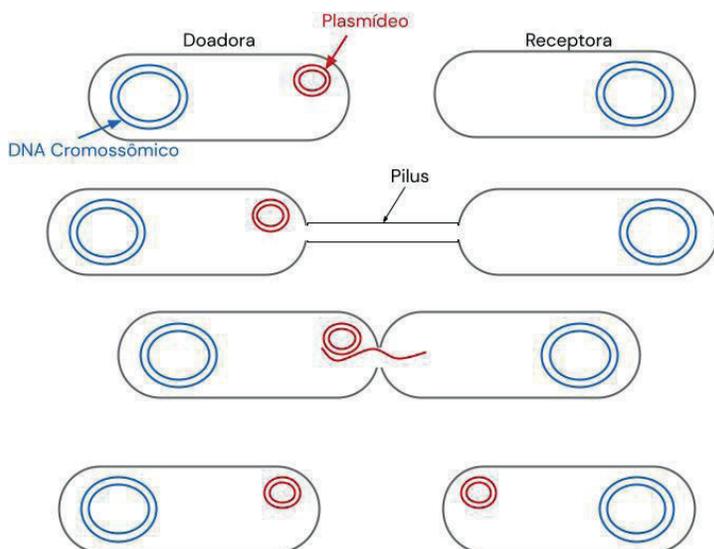


Figura 1 - Desenho esquemático de um plasmídeo com resistências a antibióticos (1^o e 2^o e um ori 3^o).
 Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Magnus Manske 248x242 (1,921 bytes) (Copied from Nupedia)



Legenda: (1) DNA cromossômico. (2) Plasmídeos. (3) Pilus.

Figura 2 - Desenho esquemático da conjugação bacteriana.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Magnus Manske 365x253 (2,092 bytes). (Copied from Nupedia).

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^{39, 40} (BE): as mitocôndrias (*mito* = filamento, *chondrion* = partícula ou grânulo), a que nos referimos algumas páginas atrás quando tratamos de evolução, (vide figura 3). 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 mãe⁴¹ e diferente do DNA contido no núcleo da célula - que é o resultado da fusão de 50% de material genético de cada um dos pais⁴². Transmitido de geração em geração, permite não 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 eucariontes⁴³. 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 mais⁴⁴ que o DNA nuclear, podendo coexistir mtDNA normal e mutado em uma

39. 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 3.1.3.

40. 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.

41. 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 Ariane *et al.* (2002) publicaram artigos.

42. Na fecundação, como regra, 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 contidas no espermatozoide, concentradas principalmente na região da cauda, para fornecer energia para a mobilidade do mesmo, em tese seriam degradadas pelas enzimas proteolíticas.

43. 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).

44. Conforme Souza (2005), tais mutações no mtDNA decorrem da ausência da enzima DNA polimerase, que no DNA nuclear, atua como corretora de erros.

mesma organela⁴⁵ - 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 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).

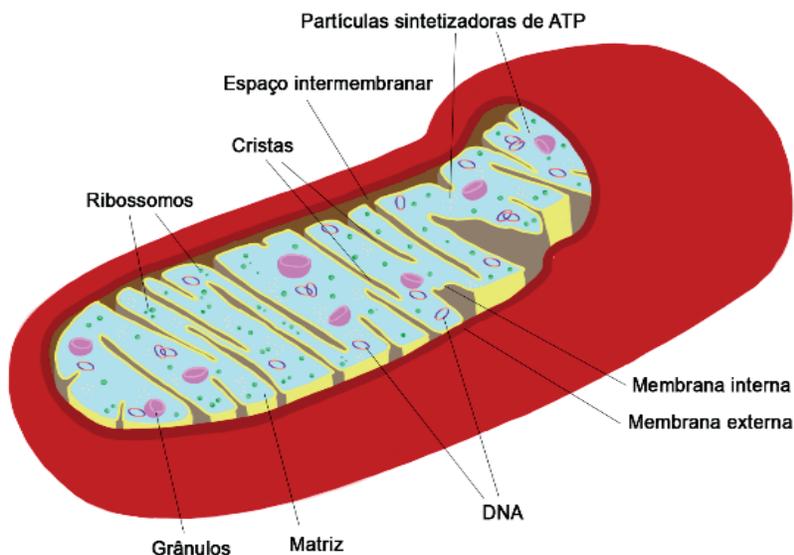


Figura 3 - Diagrama de mitocôndria humana.

Fonte: Nicole S. Wiens, baseado na imagem de Mariana Ruiz, traduzido por Felipe Fontoura - Arquivo: mitochondrion animal <diagrama en.svg> mitocôndria.

45. 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).

Na Tabela 4 relacionamos as principais características do mtDNA e que o diferenciam do nDNA.

1	Circular e compacto
2	Possui seu próprio aparato para replicação, transcrição e tradução
3	Ausência de íntrons ⁴⁶
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)

Tabela 4 - Particularidades do mtDNA.

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; 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 na 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

46. 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.

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 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)⁴⁷, a oftalmoplegia externa crônica progressiva (OECP)⁴⁸ 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 4). 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 A3243G⁴⁹, a A8344G e a T8996G (vide Figura 4 e Figura 5) tem sido relatadas como as principais causadoras de doenças de herança materna⁵⁰ e incluem:

1. Epilepsia mioclônica e miopatia com RRF (MERRF⁵¹ - *myoclocic epilepsy and ragged-red fiber*);
2. Encefalomiopatias mitocondriais, acidose láctica e episódios similares a acidentes vasculares cerebrais (MELAS⁵² - *mitochondrial encephalomyopathy, latic acidosis and stroke-like episodes*);
3. Doença de Leigh e NARP⁵³ (neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa);

47. 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, hiperproteïnorrquia 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).

48. 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).

49. A mutação em A3243G e rearranjos do mtDNA, podem também estar relacionadas à ocorrência de diabetes mellitus. (NASSEH et al., 2001).

50. 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 síndrômica, 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.

51. Entre as principais manifestações clínicas de MERRF estão: epilepsia, a ataxia cerebelar e a miopatia, demência, atrofia óptica, degeneração dos tratos corticoespinhais, neuropatia periférica, surdez, disfunção tubular proximal, cardiomiopatia, acidose láctica e hiperalaninemia. (NASSEH et al., 2001).

52. 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).

53. Mutações em T8993G ou T8993 no gene da ATPase 6 do mtDNA, quando ocorre em mais de 60% a 70% do tecido

4. Neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON⁵⁴ - Leber's hereditary optic neuropathy). (NASSEH et al., 2001).

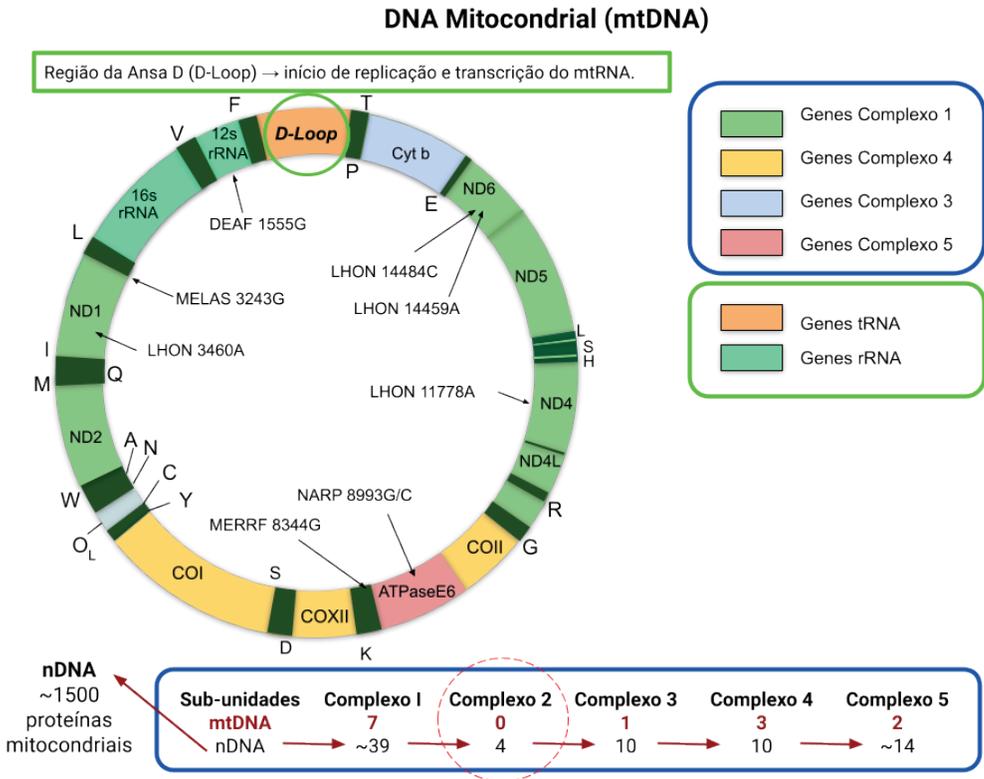


Figura 4 - Regiões alélicas do mtDNA relacionadas a síndromes e atividades dos Complexos I, II, III e IV.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em D'Oliveira (2014).

As doenças classificadas como de Herança Mendeliana (que relacionam alguma disfunção entre o DNA mitocondrial e o DNA nuclear) são⁵⁵:

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).

54. 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).

55. 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 Kear-

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).

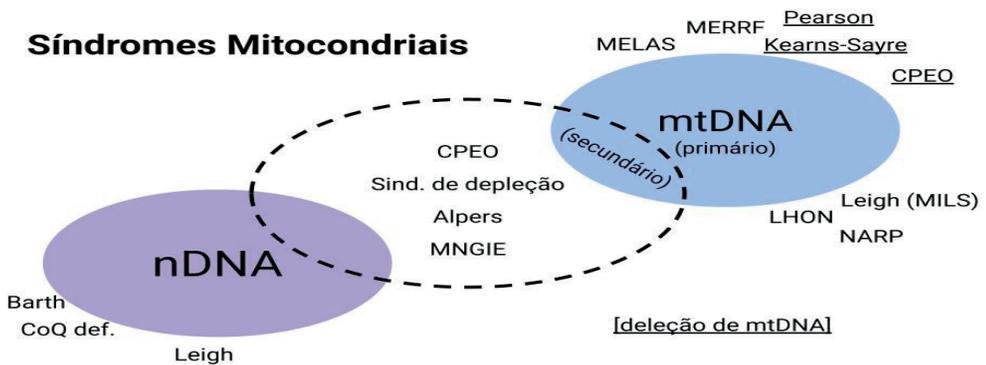


Figura 5 - Doenças e síndromes mitocondriais segundo a origem x relação genômica.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em 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 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 5* listamos as principais manifestações clínicas relatadas e que

ns-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).

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 interpretação⁵⁶. 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.

Tecidos	Sinais/sintomas
Sistema nervoso central	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.
Nervos periféricos	Miopatia, neuropatia sensorio-motora.
Muscular	Fraqueza, dor muscular, intolerância aos exercícios, mioglobínúria, câimbras.
Medula óssea	Anemia, neutropenia, trombocitopenia, síndrome mielodisplásica.
Oftalmológico	Ptose palpebral, oftalmoplegia externa progressiva, limitação da movimentação ocular, catarata, atrofia óptica, degeneração pigmentar da retina.
Auditivo	Surdez neurosensorial, ototoxicidade por aminoglicosídeo.
Craniofacial	Microcefalia, face arredondada, fronte ampla, pescoço curto.
Hematopoiético	Anemia sideroblástica.
Endócrino	Baixa estatura, deficiência de GH, diabetes mérito insulino dependente ou não insulino dependente, hipotireoidismo, hipoparatiroidismo, hipopituitarismo, falência gonadal.
Cardíaco	Cardiomiopatia hipertrófica, dilatada, bloqueio cardíaco completo, bloqueio da condução ventricular, síndrome de pré-excitação.
Gastrointestinal	Diarreia crônica, vômitos recorrentes, anorexia, pseudo-obstrução intestinal, constipação, disfunção hepatocelular, falência hepática, acidose láctica.
Renal	Tubulopatia proximal, síndrome nefrótica, síndrome de Fanconi, falência renal.

Nota: AVC: acidente vascular cerebral, TC: tomografia de crânio, RNM: Ressonância nuclear magnética, GH: hormônio de crescimento

Tabela 5 - Principais manifestações clínicas das doenças mitocondriais.

Fonte: adaptado de Nasseh *et al.* (2001, p. 66) e Souza (2005, p. 102).

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

56. 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".

a tão esperada terapia gênica. Conforme citamos no item 3.1.2 e 3.1.4, 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).

DNA Nuclear, RNA e micro-RNA

Visto que já tratamos de duas organelas importante (plasmídeos e mitocôndrias) - para a compreensão de que quando falamos genericamente 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 (DEL CONT, 2008; VOGEL; 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 fosfodiéster 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 6). 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.

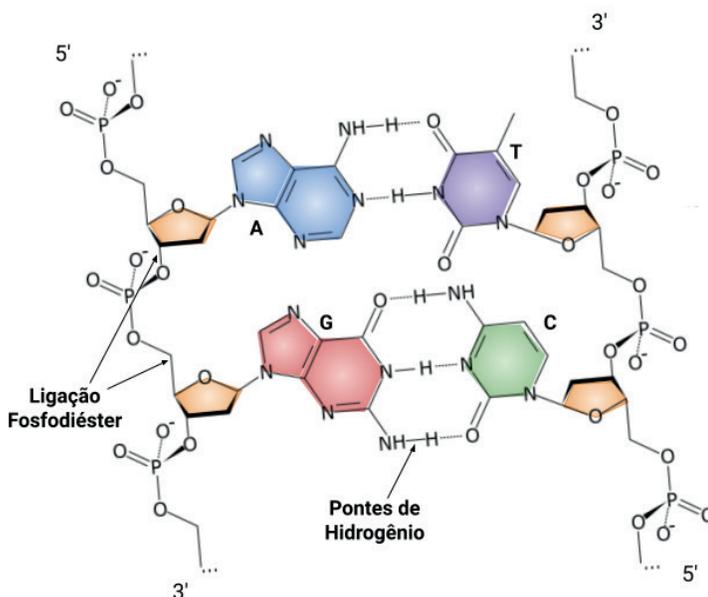


Figura 6 - Pontes de hidrogênio e ligações fosfodiéster.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em <<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 (CRUZ, 2011), representados na figura 7. São também a partir destes sulcos que ocorrerão as interações CRISPR-Cas9.

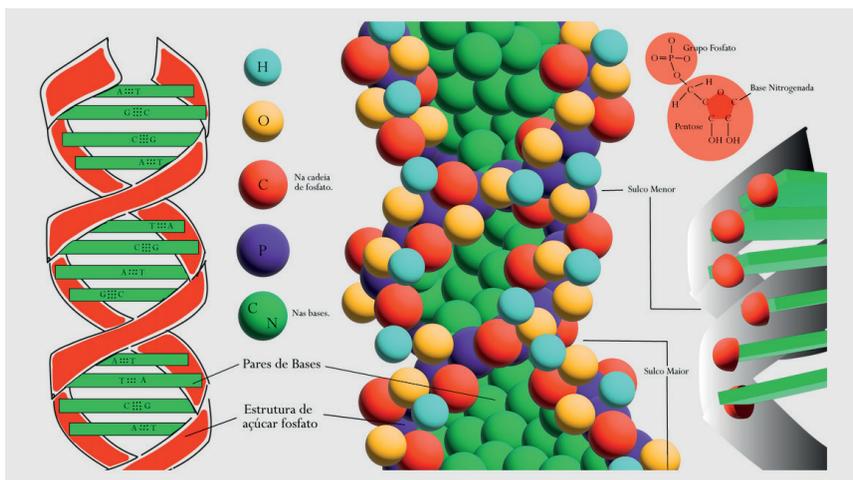


Figura 7 - Forma compacta da molécula de DNA com os sulcos onde ocorrem as interações com proteínas.

Fonte: Sarah R. Pereira, baseado em <<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 8). 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 9) (CRUZ, 2011).

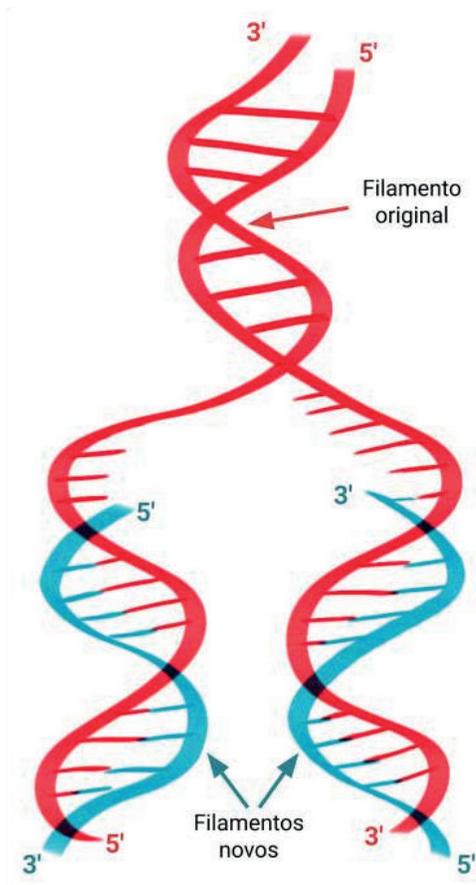


Figura 8 - DNA, replicação semiconservativa.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em <<https://biologiamolecular14.wordpress.com/2015/09/03/replicacao-do-dna/>>

Do ponto de vista físico-químico, em 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 seqüências 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 seqüência de alelos cujo par homólogo se situa da noutra 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 locus 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 RNA (vide Figura 9). (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.

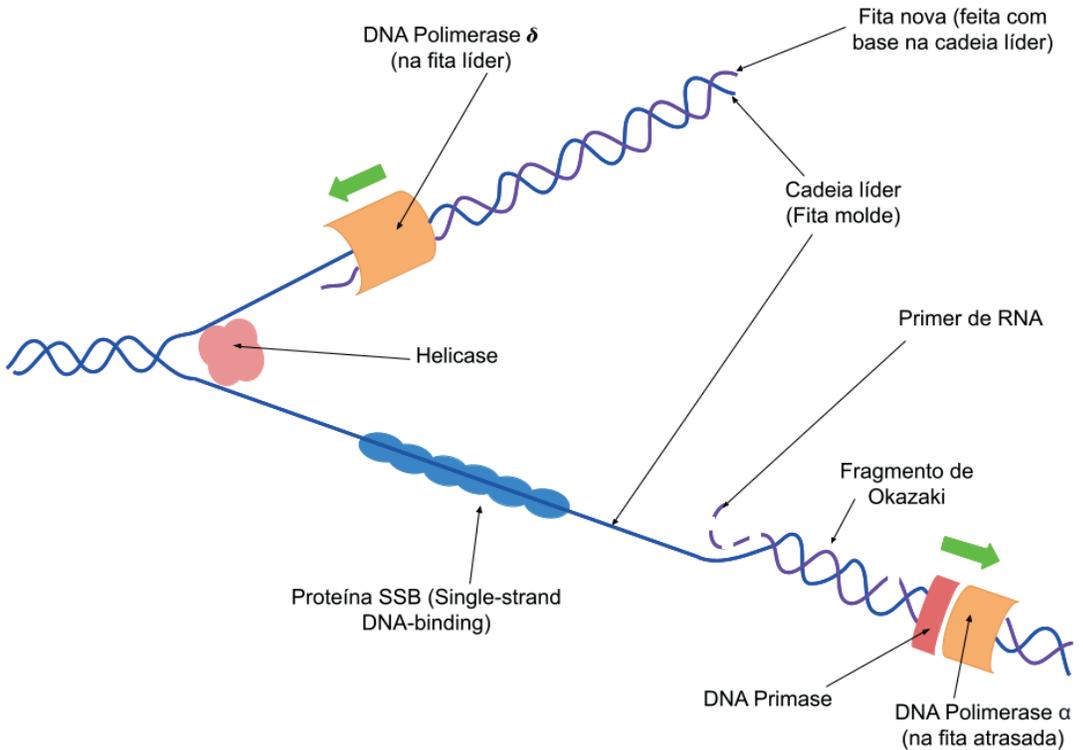


Figura 9 - Replicação do DNA.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica de Portugal - <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 microRNAs⁵⁷ (miRNAs), exossomas (*exosomal shuttle RNA*) formados a partir de vesículas intracelulares que contém pequenas cadeias de RNA, entre 17 e 25 nucleotídeos⁵⁸, 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

57. 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).

58. Diferentes autores referem tamanhos diferentes das cadeias nucleotídeas do miRNAs. (COSTA; PACHECO, 2012; DELELLA et al., 2012; RICARTE FILHO; KIMURA, 2006).

no genoma humano e estima-se que sejam mais de 1000⁵⁹. 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 sua ampla capacidade de cumprir funções totalmente diferentes. (COSTA; PACHECO, 2012; RICARTE FILHO; KIMURA, 2006).

Estudos relacionam estas moléculas a uma grande variedade de processos fisiológicos e patológicos (vide alguns exemplos na Tabela 6), 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, dependendo 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 nível de hereditariedade. (COSTA; 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”⁶⁰, bem como de que informações em células não germinativas não seriam transferidas para as gerações futuras. Alguns pesquisadores têm 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.

59. Existe um interessante Banco de Dados denominado miRBase para pesquisa disponível em <<http://www.mirbase.org/index.shtml>>, no qual estão listados 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/>>.

60. 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).

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

Tabela 6 - Exemplos de MicroRNAs associados à biologia endócrina e câncer.

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; KIMURA, 2006).

Delella *et al.* (2012) indica que a maioria dos miRNAs humanos tem origem em íntrons - aquela região genômica do DNA que 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 ambos⁶¹. 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

61. 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; KIMURA, 2006, p. 1105).

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.

Epigenética

Com o Projeto Genoma Humano (PGH) 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, um desses desafios é a chamada epigenética⁶².

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; WHITELAW, 2008). Segundo Bonduriansky e Day (2009, p. 106, tradução nossa):

Numerosos termos têm sido usados para se referir à herança não baseada em DNA, incluindo herança suave, herança Lamarckista, efeitos epigenéticos transgeracionais, herança não-mendeliana, efeitos parentais, programação fetal, efeitos de transferência e memória celular.

Dado que se trata de uma área de estudo muito recente, carece de uma maior precisão 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), Deans e Maggert (2015), entre outros tantos, são esforços necessários e revelam duas qualidades interessantes em comum: ajudam-nos a refletir acerca do que

62. 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).

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 têm 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 parece 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, a exemplo da 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; DAY, 2009; JABLONKA, 2011).

Bonduriansky e Day apresentam 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).

Acrescentam eles 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; 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 metilação⁶³ [do DNA], em que se altere a expressividade do gene sem modificar a sequência dos nucleotídeos.

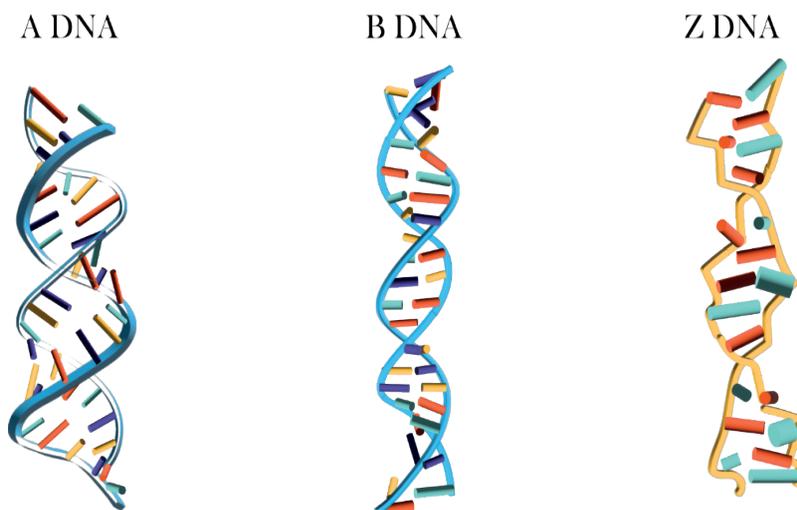
Essa alteração ocorreria porque “a ligação do grupo metil à base nitrogenada citocina pode silenciar o gene”. (CUNHA *et al.*, 2016, p. 2). Ou seja, a metilação altera a estrutura da cromatina, fazendo com que a espiral do cromossoma fique mais densa, o que dificulta o processo de transcrição, ocasionando 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 metil à molécula de DNA, em determinado 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

63. 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).

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 10. Além da regulação da expressão gênica, esta forma conformacional estaria associada a outras atividades do DNA, como transcrição gênica, recombinação homóloga e mutagênese, incluindo ainda patologias como Lúpus eritematoso sistêmico, leucemias, linfomas e Doença de Alzheimer, vide Tabela 7.



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).

Figura 10 - Comparação entre diferentes formas da cromatina.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Ricci (2007).

Grupo de atividade evidenciada	Especificidade evidenciada na forma A-DNA	Especificidade evidenciada na forma Z-DNA
Envolvimento em processos celulares	<ul style="list-style-type: none"> • Transcrição gênica (híbridos RNA-DNA) • Proteção contra radiação UV 	<ul style="list-style-type: none"> • Transcrição gênica • Regulação da transcrição gênica • Recombinação genética • Mutagênese
Moléculas capazes de reconhecer especificamente e/ou induzir as conformações	<ul style="list-style-type: none"> • Poliaminas • SASP (Small Soluble-Acid Protein) • TBP (TATA-box Binding Protein) • CRP (Cyclic AMP Receptor Protein) • Neomicina • Sac7d 	<ul style="list-style-type: none"> • Poliaminas • Anticorpos • RecA • Rec1 • ADAR1 (double-stranded RNA adenosine deaminase) • DML1 • E3L
Participação em estados patológicos		<ul style="list-style-type: none"> • Lúpus eritematoso sistêmico • Doenças associadas a instabilidades cromossomais (leucemias e linfomas) • Doença de Alzheimer

Tabela 7 - Atividades biológicas relacionadas a forma conformacional A-DNA e Z-DNA.

Fonte: adaptado de Ricci (2007).

Fantappie (2013, p.1) chama a atenção no sentido de 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.)”. Para entender as diferenças entre gêmeos monozigotos, cujas características fenotípicas em regra deveriam ser de início, idênticas entre si – há várias diferenças antropomórficas, de suscetibilidades a doenças, entre outras –, Fraga e colaboradores, partindo de estudo de diferenças nos padrões epigenéticos relacionados à metilação global e lócus-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 das 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):

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. Bonduriansky e Day; (2009b, p. 119, tradução nossa).

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.

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; 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 lineares consecutivas 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, limitações, tanto metodológicas como operacionais, e resultados específicos bastante diferenciais que lhes conferem possibilidades às vezes únicas em relação às demais, de modo que associar técnicas se tornou uma maneira não apenas conveniente, mas até mesmo necessária, para se 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 mais adiante um pequeno resumo das demais técnicas” 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 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 nuclease e a terceira é uma proteína combinada a uma nuclease. Já no caso de CRISPR, um RNA guia é utilizado como base 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. Todas efetivam o processo de edição por meio dos mecanismos endógenos de reparo da maquinaria celular: *reparo direcionado por homologia* (HDR) ou reparo através de *junção por união terminal não-homóloga* (NHEJ)¹. A reparação por NHEJ está sujeita a ocorrência de maior número de erros de edição, uma 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; ZHANG, 2015; GUERRERO, 2018; LIANG et al., 2017; LISTIK; CARMO; VIEGAS, 2017; MAEDER; 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 em vários momentos. A escolha de qual vetor será utilizado depende do tipo de cadeia nucleotídica (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 têm 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 e mecanismo de contágio. 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 requerendo múltiplos tratamentos para se alcançar máxima eficácia da terapêutica; b) o

1. HDR (*homology-directed repair*) é o mecanismo através do qual o reparo no loci clivado é feito por homologia a uma sequência modelo, seja ela endógena ou exógena. No caso de NHEJ (*non-homologous end-joining*) ocorre apenas a religação direta das extremidades clivadas, sem uso de um modelo para reconstrução do segmento editado. Por esta razão o mecanismo de reparo por HDR é mais comumente utilizado para edição/correção de sequências em apenas uma das duas fitas. Por outro lado, NHEJ, tem sido utilizado com mais frequência para exclusão ou *knockout* gênico, uma vez que é mais propenso a gerar mutagênese resultante de inserções e/ou exclusões (indels) no loci onde se dá a clivagem. (MAEDER; GERSBACH, 2016).

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, 2015a).

Todas as técnicas partem de um esquema básico de edição: 1º localização do loci alvo na cadeia nucleotídica; 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 uma das fitas); 4º implementação do propósito da edição (ativação, silenciamento, inclusão ou deleção de genes) e, 5º indução do processo de reparo da cadeia nucleotídica 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 nucleotídica 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 ou à própria ferramenta, compõem 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, 2015b). A edição *in vivo* envolve um conjunto de desafios próprios adicionais à técnica, ainda por serem superados. (MAEDER; GERSBACH, 2016). Outras variáveis, de natureza diversa da experimentação e relacionados aos demais aspectos da biologia e do ambiente, incluindo os que tratamos neste nos demais capítulos, 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 vêm sendo realizadas no sentido de restringir a duração da atividade das nucleases com mRNA ou proteínas de vida curta, têm 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 supostamente 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; ZETSCHKE et al., 2015).

Na Tabela 8 apresentamos um panorama com as principais características de cada técnica de edição gênica. Não é um quadro que se pretenda completo ou definitivo, mas apenas uma síntese destinada ao nosso propósito de apresentar uma visão geral das ferramentas de edição. De mais a mais, novos conhecimentos vem sendo acrescentados muito rapidamente e mudam o panorama geral, 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, permite que se tenha uma visão comparativa geral das técnicas.

Técnica	Mediação	Domínio de ligação	Atividade	Objetivo	Organismos alvo (<i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> , <i>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"> • Deleções • Inserções • Inversões • Duplicações • Translocações • <i>Knockout</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs • Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs • Plantas • Fungos • Protozoários 	<ul style="list-style-type: none"> • Vírus** • Plasmídeos • Microinjeção 	<ul style="list-style-type: none"> • DSBs originadas podem ser usadas para reparar o genoma por NHEJ ou HDR. 	<ul style="list-style-type: none"> • Desenho é caro, trabalhoso e mais complexo. • Necessidade de construir uma sequência de ZFs para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione. • Requer o uso de regiões ricas em guanina (GNN), que raramente ocorrem na maioria dos alvos desejados. • Região de DNA alvo deve ser altamente específico. • Cada ZF reconhece uma sequência de apenas cerca de 3pb. • Ocorrência de mutações fora do alvo. • Risco de taxas elevadas de toxicidade no uso de proteínas para introduzir DSB no genoma, causadas por efeitos fora do alvo e por níveis de expressão elevados. • Pode desencadear reações do sistema imunológico. • Ocorrência de óbito de pacientes em ensaios clínicos.

Meganucleases	<p>Proteína:DNA</p> <p>Técnica de reengenharia baseada na forma natural como ocorrem as ligações das endonucleases no DNA.</p>	<p>naturais de clivagem e recombinação por HDR ou NHEJ.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Deleções • Inserções • Inversões • Duplicações • Translocações • <i>Knockout</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs • Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs, • Plantas • Fungos • Protozoários 	<ul style="list-style-type: none"> • Vírus** • Bactérias • Plasmídeos 	<ul style="list-style-type: none"> • Menor classe de nucleases sintéticas, permite o empacotamento de múltiplos monômeros, inclusive para múltiplos DSBs em um único vetor viral. • DSB resultante produz uma saliência 3' que pode ser mais acessível para HDR do que a 5' gerada por FokI. 	<ul style="list-style-type: none"> • Difícil de separar os domínios de clivagem das DBDs. • Difícil de projetar proteínas com novas especificidades. • Necessidade de construir uma proteína para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione. • Funcionalidade está mais associada com correção de genes mutados.
TALENS	<p>Proteína:DNA</p> <p>Utiliza fusão de domínio de repetições TALE e domínio de endonucleases de FokI, mas com domínios de ligação ao DNA derivados de proteínas TAL</p>	<p>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.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Deleções • Inserções • Duplicações • Translocações • <i>Knockout</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs • Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs, • Plantas • Fungos • Protozoários 	<ul style="list-style-type: none"> • Vírus** • Plasmídeos 	<ul style="list-style-type: none"> • Similar às ZFNs, porém mais fácil de projetar e utilizar e mais rápido. • As DSBs originadas podem ser usadas para reparar o genoma por NHEJ ou HDR. • DBD é mais customizável. • Capaz de localizar praticamente qualquer sequência de nucleotídeos, desde que exista uma terminação 5'. • Alta taxa de atividade de clivagem, quase ilimitada. • Correções em inversões cromossômicas de sequência longa. • Correções em mutações no mtDNA. • Taxas de mutações fora do alvo e toxicidade menor que ZFNs. • Menos restritivo que ZFNs no que se refere ao tipo de célula-alvo para edição. • Uma variante do sistema TALE, sistema optogênico LITE – <i>light-inducible transcriptional effectors</i>, possibilita regular a atividade de transcrição e direcionar modificações epigenéticas específicas da cromatina para o locus desejado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de construir uma proteína para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione. • 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.

CRISPR-Cas9	gRNA - Cas9: DNA	<p>O crRNA de 20 nucleotídeos é fundido com um tracrRNA e uma endonuclease Cas9 que reconhece uma sequência específica de nucleotídeos por complementariedade crRNA-DNA.</p> <p>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 extremidades de forma aleatória, podendo ocorrer a inserção ou deleção de sequências de nucleotídeos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Deleções • Inserções • Inversões • Duplicações • Translocações • <i>Knockout</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs • Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs, • Plantas • Fungos (levedura) • Protozoários • Bactéria • Arqueobactérias • Organismos sintéticos 	<ul style="list-style-type: none"> • Virus** • Bactérias • Plasmídeos/ DNA nu • Nanopartículas • Microinjeção • Transposon* 	<ul style="list-style-type: none"> • Sistema mais versátil, de simples confecção e escalonamento em relação às demais técnicas. • Custos substancialmente mais baixos. • Reparo por NHEJ e HDR. • Existindo uma sequência PAM no gene alvo, pode ser direcionado e clivar praticamente qualquer sequência de DNA. • Clivagem mais eficiente que outras técnicas. • Maior estabilidade do componente proteico Cas9 após promover DSBs. • Permite promover a edição de múltiplos loci simultaneamente. • Diagnóstico. • Maior eficácia na eliminação de vírus em células infetadas e células tumorais que outras técnicas. • A programação de novas sequências alvo é feita alterando apenas a região curta do gRNA que determina a especificidade. • Disponibilidade de grandes bibliotecas de gRNAs adaptáveis para quase todos os genes de um organismo hospedeiro. • Alternativamente, pode-se desenhar um gRNA por softwares a partir de sequências de referência disponíveis no banco de dados do <i>National Center for Biotechnology Information</i> (NCBI). • Alteração epigenética. • Regular a expressão de genes endógenos e marcar lócus específicos do cromossomo (dCas9 associada a outras enzimas e proteínas). *** 	<ul style="list-style-type: none"> • 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. • Melhor funcionamento em células com p53 não funcional o que pode levar seleção não intencional de células com potencial tumorigênico. • Erros de desemparelhamento na extremidade 5' podem ter efeitos indesejados • O mecanismo evolutivo do sistema CRISPR-Cas não é completamente conhecido. • O mecanismo de transferência horizontais ou laterais de pacotes CRISPR-Cas através de megaplasmídeos ou bacteriófagos não é completamente conhecido. • Reparo por NHEJ mais frequente que HDR, geralmente responsável por mutações indesejadas, erros no reparo de DNA e baixa taxa de HDR. • Mosaicismo
-------------	------------------	---	---	---	---	---	---

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"> Correções pontuais em pares de base (ACTG) 	<ul style="list-style-type: none"> Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs, Plantas Fungos (levedura) Protozoários Bactéria Arqueobactérias Organismos sintéticos 	<ul style="list-style-type: none"> Vírus** Bactérias Plasmídeos Microrinjeção 	<ul style="list-style-type: none"> Contém basicamente as vantagens de CRISPR-Cas9 com a diferença de que a clivagem e correções é feita em apenas um dos pares de base – nickases. Menor taxa de cortes fora do alvo (<i>off-target</i>) e de indels. Substituição mitocondrial, fusiforme ou pronuclear. 	<ul style="list-style-type: none"> Restrito a edição de apenas de pares de base (ACTG). 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. Preocupações quanto a sua aplicabilidade terapêutica. O mecanismo evolutivo do sistema CRISPR-Cas não é completamente conhecido. O mecanismo de transferência horizontal ou laterais de pacotes CRISPR-Cas através de megaplasmídeos ou bacteriófagos não é completamente conhecido.
---------------------------	----------------	--	--	--	---	--	---

* Eventualmente associado a 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, rAVV 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.

Tabela 8 - Comparativo das técnicas de edição gênica.

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).

3.1 CRISPR

Apresentamos a seguir um apanhado sobre antecedentes históricos de CRISPR, aspectos intrínsecos à técnica, atualidades e alguns avanços e perspectivas em relação ao futuro próximo. Várias das questões incluídas aqui serão importantes para os debates sobre biossegurança e bioproteção, bem como para a reflexão que faremos sobre CRISPR frente a realidade do mundo atual, de modo que recomendamos revisitar este tópico sempre que necessário.

3.1.1 CRISPR – alguns antecedentes históricos

No decorrer da evolução, *bactéria* e *archae*, 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 11, exemplo de estrutura palindrômica em DNA. (CHAKRABORTY et al., 2010; LIANG et al., 2015a; WOESE; FOX, 1977).

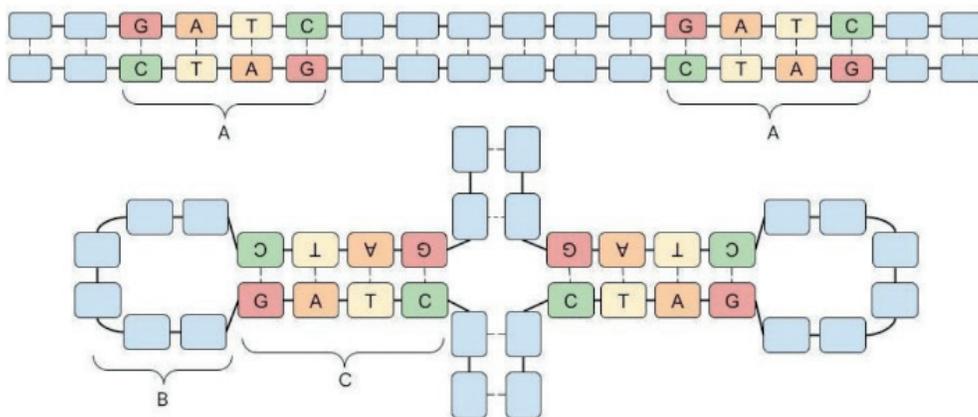


Figura 11 - Palíndromo em estrutura de DNA.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Tosaka - ISBN 9784758120029, <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/RNA dentro da bactéria - de maneira similar ocorre em eventos com plasmídeos, que tratamos no no item 2.1.2. 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 e que formam uma sequência palindrômica (CRISPR) suficiente para caracterizar o DNA viral. Este fragmento de código é incorporado pela bactéria ao seu DNA. Com isso, ao longo do tempo, a bactéria vai incorporando ao seu próprio material genético uma “biblioteca” de fragmentos de DNA exógeno que representam o registro de todos os ataques sofridos. (LIANG et al., 2015 a; NABAIS, 2015b). Quando da ocorrência de um novo ataque, a sequência CRISPR incorporada é transcrita em crRNA capaz de reconhecer o DNA invasor, pelo emparelhamento de bases e recrutar uma CAS (endonuclease endógena) capaz de fazer a clivagem da fita do DNA/RNA 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-Cas poderia ser adaptado em laboratório para fins de edição gênica (vide Figura 12):

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 guiada por RNA. (Cong *et al.*, 2013, p. 1, tradução nossa).

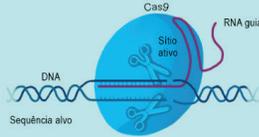
Como técnica de edição do genoma, CRISPR-Cas9 utiliza moléculas de RNA projetadas, capazes de reconhecer sequências específicas no DNA alvo. Tais RNAs têm a função de guiar a nuclease para a localização correspondente no genoma. Isso torna CRISPR-Cas9 o processo de edição mais simples porque se baseia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

HACKING CRISPR

Modificando a maquinaria molecular que alimenta a edição de genes da CRISPR-Cas9, os cientistas podem sondar as funções genes e de reguladores de genes com especificidade sem precedentes.

Tesoura ativa

Existem dois principais componentes da CRISPR-Cas9: a enzima Cas 9, a qual corta o DNA e um pedaço de RNA, que guia essas tesouras moleculares para a sequência que o cientista quer cortar.

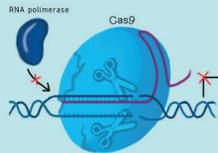


Tesoura quebrada

A enzima Cas9 pode ser quebrada para não continuar clivando o DNA, mas com o RNA guia certo, a enzima pode ainda se anexar à partes específicas do genoma.

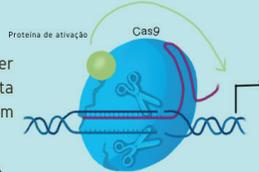
Inibição pela CRISPR

Uma enzima Cas9 quebrada ou "morta", irá bloquear o local de ligação de outras proteínas, como a RNA polimerase, que é necessária para a expressão de genes.



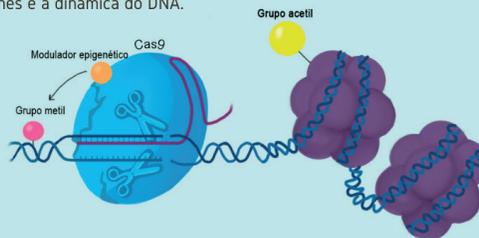
Ativação pela CRISPR

Uma proteína de ativação pode ser anexada a uma proteína Cas9 morta para estimular a expressão de um gene específico.



Epigenética da CRISPR

A enzima Cas9 quebrada pode ser acoplada a modificadores epigenéticos, como aqueles que adicionam grupos metil no DNA, ou grupos acetil nas histonas. Isso permite que pesquisadores estudem o quão preciso essas modificações colocadas afetam a expressão dos genes e a dinâmica do DNA.



CRISPR induzível

A enzima Cas9, tanto viva quanto morta, pode ser acoplada a interruptores, para que possa ser controlado por certos químicos, ou como mostrado, pela luz.

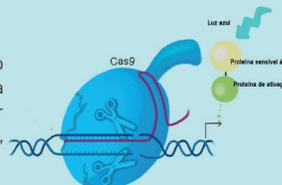


Figura 12 - Esquema dos mecanismos de ação de CRISPR-Cas9.

Fonte: Nicole S Wiens, com base em 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 em laboratório por Barrangou e Horvath (2012) e, mais tarde por Barrangou e Marraffini (2014), no qual se demonstrou a função da imunidade adaptativa no tipo II-A. Os estudos sobre CRISPR tipo II em *S. pyogenes*¹ são considerados um marco no estudo deste sistema. (CHARPENTIER, 2015). *Citomegalovírus*² e outros organismos bacterianos, tais como, *Staphylococcus aureus*³, *Neisseria meningitidis*⁴ e *Treponema denticola*⁵ são alguns dos vetores que tem sido utilizados em experimentos com 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; MAKAROVA, 2013; LISTIK; CARMO; VIEGAS, 2017; MAEDER; GERSBACH, 2016; NABAIS, 2015b).

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; SMYTH, 2015).

Eventualmente, edições altamente eficientes por HDR mediadas por CRISPR-Cas9, em conjunto com uma cadeia simples de oligonucleotídeos de DNA de fita 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; JOUNG, 2014).

Em resumo, como ferramenta de edição, basicamente o que o pesquisador precisa fazer é fornecer à Cas9 a sequência palindrômica correta, chamada RNA guia, para localizar o loci 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 inserção de um gene, seguido pelo processo de reconstrução (reparo) da fita por HDR ou NHEJ. Além disso, a edição pode ser realizada

1. A bactéria *S. pyogenes* está associada a patologias como faringite, escarlatina, fascite necrosante, celulite, erisipelas, impetigo, síndrome de choque tóxico e em raras vezes, psoríase gutata.

2. *Citomegalovírus* pertencente ao grupo dos *Herpes-vírus*.

3. *Staphylococcus aureus* é associada à síndrome de choque tóxico, gastroenterite estafilocócica, síndrome de pele escaldada estafilocócica, impetigo, foliculite, endocardite, osteomielite e pneumonia.

4. *Neisseria meningitidis* é associada a meningite sem bacteriemia, meningite com bacteriemia, meningococemia sem meningite, meningococemia com meningite ou meningite meningocócica, pneumonia, artrite e uretrite.

5. *Treponema denticola* é associado a periodontite.

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).

3.1.2 CRISPR - atualidades

Se por um lado CRISPR-Cas9 é uma ferramenta impressionante, não menos o são o prêmio de aproximadamente US\$ 3 milhões no Life Sciences de 2015 e um Nobel de Química em 2020 conferidos a Doudna e Charpentier pela descoberta (BRIN et al., 2015; DOUDNA; CHARPENTIER, 2014; THE NOBEL FOUNDATION, 2020). Disputando os direitos comerciais estão a Universidade da Califórnia contra o consórcio composto pelo Broad-Instituto de Tecnologia de Massachusetts e Harvard. A base da divergência está a publicação quase simultânea de um artigo de Feng Zhang (ACHENBACH; JOHNSON, 2017; COHEN, 2018b; UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE, 2017).

Acerca das motivações que desembocaram da criação de CRISPR-Cas9 Lacadena (2017, p. 7, tradução nossa) considera que a ferramenta é o resultado combinado 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 aplicação industrial (melhorar a produção de iogurte)”.

Sobre as características comparativa de CRISPR-Cas9 em relação a outras técnicas de edição do genoma que apresentamos na Tabela 8, vale destacar dois aspectos intrínsecos da técnica que ajudam a entender a sua rápida expansão no campo da pesquisa: 1º o uso de RNA-guia no lugar de proteína-sequência para localização dos loci pretendidos evita a necessidade de montagem de uma proteína específica para cada locus alvo; 2º alterações na região curta do RNA-guia, que são mais simples e de serem feitas que a montagem de uma proteína específica para cada locus alvo, é suficiente para determinar a especificidade e localização do locus alvo (GUERRERO, 2018; MAEDER; GERSBACH, 2016).

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*”⁶, utilizando exemplares de *Drosophila melanogaster*. Ledford explica como uma experiência deste tipo (imposição artificial de uma característica genética herdável sobre uma população inteira por meio de um mecanismo de edição genética em cadeia), que apenas um ano antes se considerava que levaria muito tempo para ser conseguida, funciona e como poderia impactar sobre uma população:

6. Segundo Heitman, Sawyer e Collins (2016) *gene drive* [impulso genético ou reação mutagênica em cadeia] 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.

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 13] 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 exterminada⁷, junto com qualquer parasita da malária que estivesse transportando. (Ledford, 2015a, p. 22, tradução nossa).

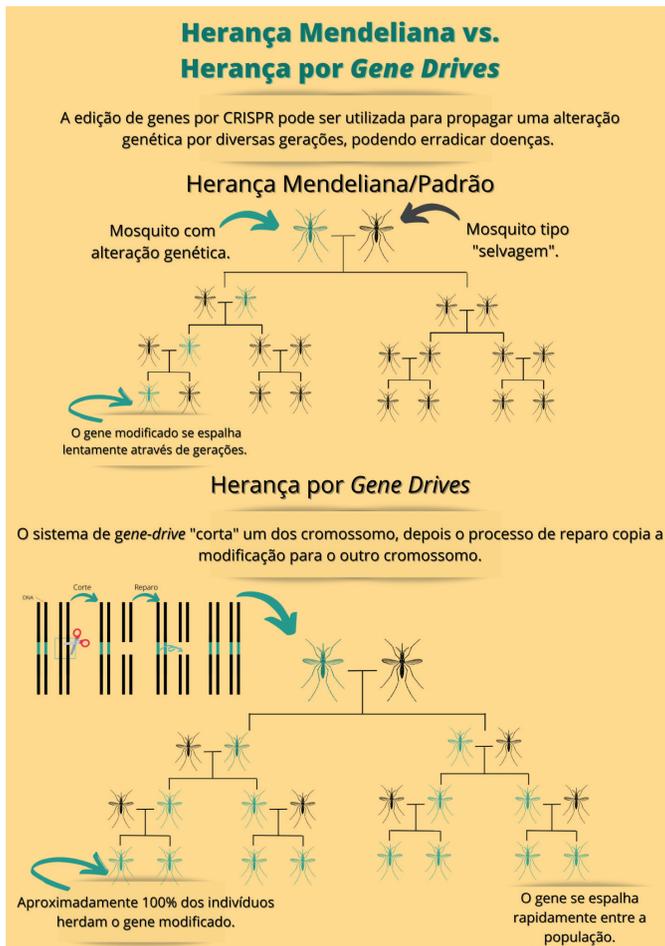


Figura 13 - Resumo esquemático: herança padrão (Mendeliana) e herança por gene drives.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Ledford (2015a), *Publications: Scopus; Patents: The Lens; Funding: NIH RePORTER*

7. O grande poder de extermínio em massa de *gene drive* para controle e manejo de espécies exóticas invasoras que podem afetar negativamente o equilíbrio de ecossistemas específicos motivou alguns autores a adotar o termo "bala de prata" para designar esta ferramenta molecular. (WEBBER; RAGHU; EDWARDS, 2015).

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%.

O mapeamento feito por Harrison *et al.* (2014) (vide tabela 9) sobre os tipos de vertebrados, invertebrados e plantas que até o ano de 2014 vinham sendo utilizados para edição com CRISPR-Cas9 revela alguns aspectos interessantes: 1º muito embora o tempo transcorrido entre a descoberta da ferramenta e o levantamento tenha sido curto - apenas 2 anos, portanto numa fase em que a técnica ainda se encontrava em uma fase inicial de desenvolvimento - surpreende a variedade de organismos editados; 2º a adoção preferencial de mecanismo de reparo por NHEJ, sabidamente mais suscetível a erros de edição, em detrimento de reparo por HDR, amplia ainda mais a ocorrência dos problemas da técnica já conhecidos de cortes *off-target* e mosaicismo; 3º chama a atenção a grande quantidade de edições em organismos inteiros, em detrimento de culturas celulares, numa fase em que ainda não se tinha suficiente controle do processo de edição com a técnica em sistemas inteiros e, 4º ainda que o levantamento tenha incluído apenas organismos utilizados para desenvolvimento de plataformas de pesquisa, chama a atenção a grande quantidade de edições em linha germinal, em detrimento de células somáticas, com potenciais repercussões desconhecidas para as gerações seguintes. Certamente essas questões não suscitarão maiores preocupações se o uso da técnica estivesse centrado prevalentemente na pesquisa básica. No entanto, o crescente volume de projetos em

pesquisa aplicada e de pedidos no Registro de Patentes parecem indicar que aqueles pedidos por uma moratória não apenas fazem sentido, como talvez seja de fato necessária e urgente. Certamente que o acréscimo de mais informações – incluindo-se a atualização do levantamento, bem como a inclusão de procariontes - poderá indicar outras perspectivas ainda mais interessantes e até mesmo uma mudança de rumos, o que por si só reforça a relevância das manifestações em favor de uma regulamentação de abrangência global para uso da técnica.

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	✓	✓
Invertebrados	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	✓		✓	

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

Tabela 9 - Organismos que foram modificados usando o sistema CRISPR-Cas9 entre 2012 e 2014.

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

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; os pesquisadores realizaram comparativo entre os padrões evolutivos das repetições diretas, Cas1 e 16S rRNA de 100 espécies bacterianas diferentes. Relevante é conclusão de que:

[...] considerando todas as evidências apresentadas neste estudo, nós raciocinamos que os genes DR e Cas compartilham uma origem ancestral comum e coevoluiram 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 e se adapta aos desafios do ambiente podem 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) chamam 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

diferenciada⁸, 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 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; BRADLEY, 2018, p. 1).

No que se refere ao incidente com os pacientes mencionados na citação acima, Hacein-Bey-Abina *et al.* (2003) haviam noticiado anteriormente (HACEIN-BEY-ABINA et al., 2002), o uso de terapia gênica para a doença de imunodeficiência severa relacionada ao cromossomo X por transferência do gene γ_c utilizando vetor viral⁹ para células CD34 em procedimento *ex vivo*. Dos quatro pacientes tratados, relataram a ocorrência de

8. 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; BRADLEY, 2018).

9. Os vetores virais e, alternativamente plasmídeos, têm sido amplamente utilizados em pesquisas com terapias gênicas, vide Tabela 8. (SIMÃO-SILVA et al., 2017).

evento adverso grave em um deles (leucemia linfoblástica aguda), detectado apenas 30 meses após o procedimento, em um exame 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 estimada: “*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.

Com efeito, como apontam Koonin, Makarova e Silas (KONIN; MAKAROVA, 2013; SILAS et al., 2016), reconhecer que CRISPR é um sistema imune adaptativo de procariontes traz consigo duas consequências inusitadas: 1º faz renascer a ideia Lamarckista de evolução amplamente rejeitada e, 2º este reconhecimento 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 ou 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 o seu uso como marcador molecular no estudo dos genomas, seja na pesquisa básica como aplicada, tanto na experimentação em humanos como em qualquer outra espécie.

Feitas estas breves considerações, podemos inferir que ao menos quatro problemas se destacam: 1º a alta especificidade de CRISPR no nível gnômico não vem acompanhada de alta seletividade no nível do organismo inteiro. Este é um aspecto particularmente relevante para edições *in vivo*, vez que a contenção do processo no tecido-específico alvo, de modo a evitar a edição não planejada de células de tecidos/órgãos não desejados se constitui em desafio não resolvido pela técnica e que por ora é dependente do vetor de transporte. Isto é relevante também porque amplia substancialmente os riscos de lesões no genoma de células de outros tecidos que dificilmente serão detectadas e poderão ter consequências imprevisíveis; 2º os eventos de clivagem *off-target*¹⁰ podem ocorrer em regiões do genoma muito distantes do ponto de clivagem programada, com risco de gerar efeitos imprevisíveis; 3º o mosaicismos é ainda um problema recorrente não superado (Liang et al., 2015; Gaj et al., 2013; Zhang, 2015a), e 4º o conhecimento sobre a conformação de todo o sistema CRISPR-Cas, como ele funciona, sobre as suas interações e acerca dos mecanismos subjacentes envolvidos, bem como as lacunas ainda não plenamente conhecidas sobre seus mecanismos evolutivos compõe o conjunto de questões ainda a serem compreendidas para que se possa ter o domínio da ferramenta (CHAKRABORTY et al., 2010; KOONIN; MAKAROVA, 2013).

3.1.3 Editores de Base - BE

Em 2017 Liang e colaboradores publicaram artigo no qual informam que utilizaram uma adaptação da ferramenta CRISPR-Cas9, a qual denominaram Editor de Base (BE) para correção da β -talassemia em células primárias humanas e embriões humanos, no gene HBB-28 (A>G). A ferramenta de edição foi empacotada em lentivírus, usado como vetor de transporte para infectar células 293T que posteriormente foram selecionadas com puomicina. Relataram 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

10. A ocorrência de múltiplas sequências nucleotídeas idênticas ou altamente homólogas no DNA alvo, característica comum em genomas grandes como o da espécie humana, favorece o emparelhamento da ferramenta CRISPR-Cas9 também nessas regiões e está na origem dos eventos *off-target*. (Zhang, Wen e Guo, 2014)

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 variantes *BE2* e *BE3*. Este aperfeiçoamento da ferramenta CRISPR-Cas9 original tem sido estudado com expectativa e pode favorecer o desenvolvimento de terapias gênicas com sucesso para corrigir, por exemplo, doenças mitocondriais que citamos anteriormente, cuja incidência de mutações pontuais de bases A-G ou C-T é significativa e cuja amplitude da variabilidade dos limites de expressão gênica podem configurar variados graus de patogenicidade (vide item 2.1.3). (EID; ALSHAREEF; 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.

3.1.4 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 tão amplo de possibilidades de aplicação, tanto na pesquisa básica como aplicada, e que se somam às vantagens comparativas às demais técnicas, que acabam por motivar não apenas pesquisadores, mas também chamam a atenção de empresas e animam pessoas comuns, muitas das quais sequer imaginam que necessidades suas poderão ser beneficiadas com algum dos produtos que possam advir da técnica. O uso da técnica na pesquisa básica, tanto como marcador molecular para estudo dos genes como para edição de bases nucleotídeas para os mais vários propósitos se somam aos inúmeros projetos de aplicação nos mais variados campos de interesse social e de mercado, tais como para a construção de ferramentas de diagnóstico genético, de terapia gênica e de vacinas (CHERTOW, 2018; LANDER, 2016; VAN ERP *et al.*, 2015). 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 β -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, programa 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; 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), por exemplo, 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; LAFOUNTAINE; FATHE; SMYTH, 2015; NABAIS, 2015b; VASILEVA et al., 2015).

Transcorrida apenas uma década 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).

3.1.5 CRISPR e as pesquisas não institucionalizadas

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 outras áreas subjacentes, em especial governança, biossegurança e regulamentação da pesquisa. A edição 531 da revista Nature de 10 de março 2016, publicou na seção “COMMENT”, curiosa matéria intitulada “*Governance: Learn from DIY biologists*” (Governança: Aprenda com os DIY biology). (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 [...]*”). No texto, tal comunidade é definida 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, Irlanda e Brasil e possuem laboratórios comunitários para uso compartilhado.

Se por um lado, 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, por outro, consta também, conforme falamos em outros momentos, que para esta comunidade *DIY biology* (também denominados *DIY bio*, forma contrátil de *Do-it-yourself biology*) o acesso ao mercado de insumos e equipamentos é bastante facilitado.

Chama também a atenção o exemplo da competição realizada em 2015 denominada “iGEM - *International Genetically Engineered Machine Competition*” (Competição internacional de máquinas geneticamente modificadas), que reuniu estudantes do ensino médio e membros de laboratórios comunitários de várias partes do mundo, com o propósito de projetarem sistemas biológicos. Para tanto, foram fornecidos aos competidores kits CRISPR-Cas9 empacotados em plasmídeos com mais de mil peças biológicas padrão (*BioBricks* ou blocos de construção baseados em DNA).

O iGEM também disponibiliza em seus registros <<http://parts.igem.org/CRISPR>> diversos componentes e kits CRISPR-Cas9, bem como vetores bacterianos, virais e plasmídeos. De fato, o uso de ferramentas moleculares de edição de genes e a sua manipulação em bactérias e leveduras tem sido cada vez mais popularizado entre os *DIY biology* e as previsões são de que se intensifiquem ainda mais.

Na matéria consta ainda a consideração de 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.

Nessa linha, chama também a atenção o caso apresentado como não sendo compatível com os princípios da comunidade (disponível em <<http://DIYbio.org>>), referente a ação *crowdsourcing* do fundador do *Open Discovery Institute*, localizado em Burlingame, na Califórnia, do biólogo sintético Josiah Zayner, que tinha a finalidade de estimular as pessoas a “aprenderem ciência moderna fazendo”. . A ação incluiu uma campanha destinada a financiar a produção e distribuição de kits DIY CRISPR que em pouco tempo arrecadou US\$ 62.000. O problema apontado está na divulgação de um vídeo promocional no qual foram mostradas imagens de amostras biológicas armazenadas em geladeira comum, junto com alimentos.

3.2 OUTRAS TÉCNICAS DE EDIÇÃO

3.2.1 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, 2015b; VASCONCELOS; 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).

3.2.2 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, 2015a).

3.2.3 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; GERSBACH, 2016; SILVA et al., 2011).

3.3 EDIÇÃO GÊNICA: A SOCIEDADE FALA

Se no campo da pesquisa institucionalizada e informal 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 estava familiarizado com os conceitos correntemente utilizados no debate sobre edição de genes e apenas 31% informaram terem ouvido ou lido muito a respeito, os outros 69% tiveram muito pouco ou nenhum contato com o tema. Apesar disso, os resultados apontaram que as pessoas eram favoráveis à terapia gênica para uso clínico em pacientes com doenças graves e a maioria não era favorável a edição em embriões humanos ou células germinativas. No entanto, o que mais chama a atenção não são os dados que somavam maioria, mas o seu oposto: entre 34% a 44% aprovavam a edição de genes para melhorar a inteligência, e entre 25% a 44% aprovavam 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; BENSON, 2016).

Evidentemente que se trata apenas de amostra sociocultural muito específica,

geograficamente restrita, que não representa necessariamente o conjunto da sociedade humana, mas será que em outros países o resultado seria muito diferente? E mais, será que eventuais diferenças, quaisquer que sejam, por si só seriam importantes, 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 que até mesmo, nem se dê 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, infelizmente, se coadunar com a ideia corrente de que a seleção natural é excludente, de que a sobrevivência só é garantida ao mais forte, e que a extinção dos mais fracos é uma contingência necessária da evolução para garantir que apenas o melhor adaptado, neste caso pela via da biotecnologia, sobreviva, evitando com isso passar para as gerações futuras descendentes geneticamente mais “fracos”, “ruins” ou “inaptos” para superar desafios cada vez maiores e mais difíceis. Igualdade e universalidade de acesso aos benefícios da biotecnologia e solidariedade de destinos parecem ser valores senão estranhos, ao menos distantes deste imaginário coletivo.

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 vem sendo 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.

BIOSSEGURANÇA, BIOPROTEÇÃO E 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, 2015, p. 21, tradução nossa).

O debate sobre biossegurança¹ 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, a gripe espanhola e na atualidade a Covid-19. Ou 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 regimes de exceção para repressão e extermínio de opositores, como foi o caso da ditadura civil-militar brasileira².

1. 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; 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, 2013), vez que em geral se conformam aos demais instrumentos a que faremos referência ao longo da discussão.

2. 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 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 com 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 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 pri-

(Cardoso *et al.*, 2008; Brasil, 2014; Brasil, 2014b; Comissão Estadual da Verdade Teresa Urban, 2017; Guimarães, 2002).

De fato, quando se olha a história 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 do uso 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. A partir de então, o conhecimento científico passou a dar suporte para o emprego 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

meios 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 descuidada ou 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 (“Beirão-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 combater 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 morreram 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 crueldade humanitária e antropológica, perversa e criminoso, 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, muitos dos quais viviam em completo isolamento, não conheciam as doenças da quais foram vítimas e não sabiam como lidar com elas. (BRASIL, 2014b).

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 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA, 2018). No intuito de contextualizar e dar realidade a este debate, relacionamos na Tabela 10 (vide também linha do tempo, Figura 14) os principais eventos registrados ao longo dos séculos, em que se fez uso de agentes biológicos como arma de extermínio (CARDOSO; CARDOSO, 2011; CARDOSO et al., 2008; CARDOSO; VIEIRA, 2015; REVISTA FAPESP, 2001; SILVEIRA PRADO; PÉREZ AMORES, 2010).

Data	Evento	Local	Agente biológico	Vítimas
XV a.C	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>	
VI a.C.	Assírios envenenam os poços inimigos com ergotamina, produzida pelo ergot de centeio.		Ergot fúngico	
1346	Durante o cerco de Kaffa, a armada tártara joga seus mortos infectados com a peste sobre os muros da cidade.	Criméia	Yersinia Pestis	
1518	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>	
1763 (1754-1767)	Na colonização da América do Norte ³ , 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
1797	Napoleão Bonaparte tentou forçar a rendição de Mantua (Itália), contaminando a população com a febre-do-pântano, que afeta equinos.	Itália	Retrovírus	
1914-1918 1ª guerra mundial	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>	
1932-1944	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 produzir múltiplos surtos de peste na China.	Manchúria-China	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>B. anthracis</i> e <i>Y. pestis</i>	

3. 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.

Data	Evento	Local	Agente biológico	Vítimas
1939-1944 2ª Grande Guerra	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>	
1939-1944	Rússia utiliza ratos infectados com tularemia contra as forças alemãs em Stalingrado, produzindo muitas baixas.	Rússia	<i>Francisella tularensis</i>	
≈ 1940	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>	
1942-1969	EUA implementam programas para desenvolvimento de armas biológicas.			
1942	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>	
Guerra fria	URSS, Canadá e Reino Unido implementam programas para desenvolvimento de armas biológicas.			
1979	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
1984	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
1995	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		
2001	Disseminação do <i>Bacillus anthracis</i> pelo sistema postal.	Atlanta – EUA	<i>B. anthracis</i>	23 casos 4 óbitos
2003	Encontrada ricina em uma carta destinada à Casa Branca, na sala de correspondências do escritório do senador americano Bill Frist.	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 as datas em que os eventos ocorreram e em relação a aspectos da descrição das ocorrências. B) nem todos os eventos registram o número de vítimas letais ou não letais.

Tabela 10 - Eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma.

Linha do tempo: eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma

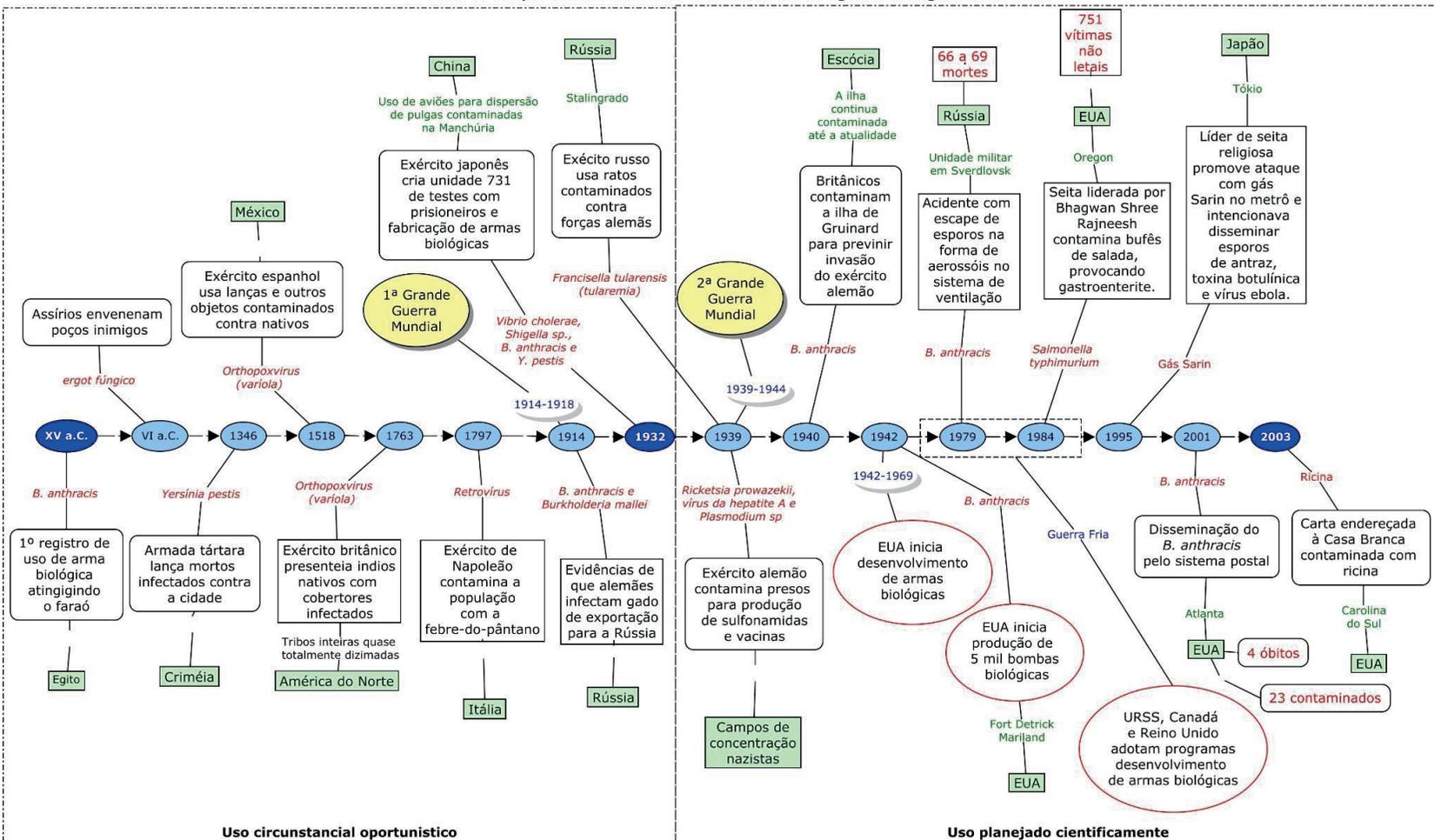


Figura 14 - Linha do tempo: eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma.

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 e algo impreciso, 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 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA, 2018). 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 elementos mobilizadores do debate. 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 9.

Se por um lado esta técnica representa uma 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, 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 DIY biology – 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.

A Conferência de Asilomar marca a primeira iniciativa da comunidade científica, ao menos em tese, de debater em nível global 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.

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. 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, não raras vezes, 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*¹. (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 riscos e benefícios, sobre a importância da biodiversidade e as dificuldades dos países mais pobres para enfrentar os riscos envolvidos e que indicam de partida, elementos relevantes que estabeleceram o escopo sobre o qual o Protocolo foi erigido:

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 mediada por CRISPR-Cas9 da mesma maneira de país a país, vez que tal abrangência depende subsidiariamente das 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

1. 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).

organismos geneticamente modificados pelas novas biotecnologias como CRISPR, que não necessariamente envolvem a incorporação de material genético externo no seu próprio DNA, estariam obrigados às mesmas normas aplicadas aos transgênicos. Visto que trataremos desta questão mais adiante, por ora nos é suficiente apontar a dúvida 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 envolvidos em CRISPR-Cas significa discutir os riscos envolvidos 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 parecer ser; 2º os riscos inerentes ao processo de Pesquisa & Desenvolvimento, ao fazer ciência e ao laboratório de manipulação de material genético; 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 o conjunto de fatores que os influenciam sobremaneira ou que os determinam. Nos ateremos a alguns, 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.

4.1 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 seguinte². (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 estar intrinsecamente relacionado à 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 especialmente 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 da pesquisa gênica mobilizado por CRISPR?

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

2. 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.

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

- Potencial de transferência de material genético (fluxo gênico)³;
- 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.

A classificação de riscos dos agentes biológicos brasileira⁴ 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, 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).

3. RUTGERS (2002), na 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).

4. 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, 2010).

Os principais parâmetros e critérios para avaliação de risco apontadas pela CBS são os explicitados nas Tabela 11 e 12, dos quais destacam-se aqueles relacionados ao agente biológico, hospedeiro, virulência, modo de propagação, patogenicidade, profilaxia e aos 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, às normas da CTNBio, conforme Tabela 13, na qual apresentamos as correlatas 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 alguns 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*, *Poxvirus* e o *vírus da Variola*. (BRASIL, 2010)

O termo contenção é recorrente e específica 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 meio 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 e 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, Republicado pela Resolução Nº 18, de 23 de março de 2018, 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. 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)”⁵

5. A menção a “vetores diferentes ou raros” aparece explicitamente na publicação “Classificação de Risco dos Agentes

(BRASIL, 2006, p.10). devem ser levados em conta para a sua manipulação segura.

Além disso, consta nas “Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos”, 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, possivelmente os mesmos níveis de biossegurança exigidos para instalações de pesquisa destinadas a manipulação de OGMs têm sido aplicados no caso de CRISPR. Apresentamos 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, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018, 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 inserto⁶. (CTNBIO, 2006, 2018b).

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

Biológicos”, do Departamento de Ciência e Tecnologia, vinculado à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos do MINISTÉRIO DA SAÚDE, publicada em 2006. Já na segunda edição do mesmo material, publicada em 2010, tal referência não mais aparece dessa forma. (BRASIL, 2006, 2010).

6. N republicação, houve o seguinte acréscimo ao texto: “XXIV – Vetor - agente carreador do inserto de ADN/ARN. Todo ser vivo capaz de transmitir agente infectante, de maneira ativa ou passiva.”(grifo nosso).

nas sequências nucleotídeas transferidas e na expressão das mesmas no organismo receptor, fazendo menção, no entanto, explicitamente a OGMs, vide Tabela 11. 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 e dos Editores de Base, 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, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b).

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 prejudicial ao meio ambiente, no entanto, a Resolução nº 16-CTNBio, que trataremos mais adiante, acaba por excluir CRISPR do alcance normativo.

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 com os quais de alguma forma cruzamos em vários momentos, mas que envolvem questões específicas e demandam um aprofundamento que vai além do que poderemos aqui tratar. (CTNBIO, 2006, 2018b).

4.1.1 Principais parâmetros norteadores, critérios e especificidades para avaliação de riscos por classes de risco

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.

Especificidade	Condicionante a ser considerada
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

Tabela 11 - Parâmetros norteadores dos critérios de classificação de risco para OGMs.

Fonte: adaptado da Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b).

Fator	Critério	Especificidade	
Agente biológico	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
Hospedeiro	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.
Estabelecimentos de saúde e laboratório	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.

Tabela 12 - Principais critérios para avaliação de risco.

Fonte: adaptado de Brasil - Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência (2010), Ministério da Saúde (2010).

Classe de Risco	Nível de risco	Especificidades do agente biológico segundo as normas da CBS	Especificidades do OGM segundo as normas da CTNBio
Classe de Risco 1	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
Classe de Risco 2	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
Classe de Risco 3	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
Classe de Risco 4	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

Tabela 13 - Classes de Riscos dos agentes biológicos.

Fonte: baseado em Brasil - Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência (2010), FIOCRUZ (2017), CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).

Requisitos e especificidades por Nível de Biossegurança

Principais requisitos
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.

Tabela 14 - Nível de Biossegurança 1 para OGMs, Classe de Risco 1 e especificidades - para atividades e projetos com microrganismos em pequena escala.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b)(CTNBIO, 2006, 2018b).

Principais requisitos
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.

Tabela 15 - Nível de Biossegurança 2 para OGMs, Classe de Risco 2 e especificidades - para atividades e projetos com microrganismos em pequena escala.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b).

Principais requisitos
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.

Tabela 16 - Nível de Biossegurança 3 para OGMs, Classe de Risco 3 e especificidades - para atividades e projetos com microrganismos em pequena escala.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b).

Principais requisitos
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.

Tabela 17 - Nível de Biossegurança 4 para OGMs, Classe de Risco 4 e especificidades - para atividades e projetos com microrganismos em pequena escala.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, republicada através da Resolução Nº 18, de 23/03/2018. (CTNBIO, 2006, 2018b).

4.2 A 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, etc. A esse conjunto se soma o quarto elemento, o fator humano: as boas práticas laboratoriais, a experiência e o conhecimento acumulado. (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, as vezes, equivocadamente entendido como algo trivial, muito pouco é dito sobre riscos nele 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.

No intuito de facilitar essa discussão, pela via de um certo pragmatismo concreto que ajuda em nosso intento, resgatemos o caso específico relativo ao experimento com a *Drosophila melanogaster* de Ethan Bier e Ganz, que resultou na criação do *Gene Drive*. (GANTZ; 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 tratou esse experimento, sob uma perspectiva mais ampla, é possível ponderar os riscos e estimar a sua gravidade, seja do ponto de vista do meio ambiente, do ser humano ou de outros animais. Sobre esse caso particular, Heitman e

associados, analisaram extenso relatório publicado pelo NASEM (Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina) dos EUA em 2016, e o 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 esse, com tamanho potencial de riscos, pode ser feito em condições de laboratório que suscitem relevantes dúvidas sobre se foram adotados todos 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, como dito anteriormente, 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 nas espécies alvo ou nas doenças que as mesmas eventualmente transmitam, no intuito de tais organismos de manter virulência semelhante ou até mesmo maior que as mesmas continham originalmente. Tais estudos observam ainda que os efeitos de um organismo geneticamente modificado, uma vez liberado no

ecossistema, provavelmente seriam irreversíveis. (HEITMAN; SAWYER; COLLINS, 2016).

Outra questão apontada no relatório e 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 documento avalia também como improvável que muitos dos Comitês Institucionais de Biossegurança tenham a perícia ou os recursos que lhes permitam avaliar as questões relacionadas a segurança da pesquisa genética ou mesmo para aconselhar pesquisadores nas suas atividades práticas, 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 tecnologias como *gene drive* não apenas fogem ao escopo das agências norte-americanas que participam da regulação de novas biotecnologias, como por exemplo, a *US Food and Drug Administration*, a Agência de Proteção Ambiental e o Departamento de Agricultura, como também não se enquadram na moldura de instrumentos internacionais como a Convenção sobre Diversidade Biológica e o Protocolo de Cartagena.

Por outro lado, a indicação inequívoca acerca da necessidade do envolvimento e a participação ativa da sociedade como sujeitos da ação, em todas as fases de projetos desta natureza, desde o início, traz uma nova perspectiva para a questão do diálogo entre pesquisadores e sociedade que transcende em muito modelos tradicionais de comunicação unidirecional:

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).

Ainda que as questões levantadas no relatório estejam restritas a análise do ambiente regulatório e dos organismos norte-americanos, fica claro que os problemas apontados transcendem em muito os limites político-institucionais daquele país e possivelmente possam ser referendados, por similaridade, para outras realidades, inclusive a brasileira.

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, 2013a, 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 prevenendo-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 societários que deles advêm. (LOURO, 2013a, 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, agrônomo ou industrial. Do que decorre que em determinadas fases da pesquisa, o laboratório está fora do laboratório, está no mundo. Some-se a isso, a questão 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 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA, 2018).

4.3 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).

O esforço idílico pelo domínio sobre a natureza não é novo, acompanha a humanidade desde há muito, sempre na forma de veneração a divindades. Primeiro em divindades externas: Deuses, figuras mitológicas e etc.; e mais tarde, em divindades criadas pelo próprio homem: o cientista, o empreendedor, o engenheiro, o empresário das coisas ... E sempre a partir de duas perspectivas indissociáveis: luta e controle. Luta contra a fúria indomável da natureza e controle sobre suas manifestações e efeitos. Certamente uma visão determinista no princípio e mecanicista na forma de entender o mundo para o dominar.

Sob essa ótica, a Teoria da Evolução das Espécies, de base Darwinista, juntamente com as Leis Gerais da Física, ou seja, a teoria de tudo que é vivo e as leis de tudo que não é vivo, acabaram sendo alçadas ao posto de alicerces fundamentais sobre as quais se edificaram tanto a forma de ver o mundo como as principais estruturas do fazer ciência. Uma delas, como dizem Frazier (2003) e Leite (2006), é a genética, uma grande coluna de sustentação onde foram assentadas vigas e até andares inteiros que suportam ousados

projetos específicos, dentre eles o PGH, o outro o da manipulação do genoma. O primeiro pretendia ter o conhecimento sobre a vida, já o segundo, o de como manipulá-la. CRISPR é a mais recente promessa de tornar esse poder realidade. Um problema de princípio que desde logo surge se situa na inversão desta ordem: o conhecimento, ao menos em parte, de como manipular a vida está se materializando antes que se alcance o conhecimento completo, ou ao menos suficiente, sobre ela mesma. Esta inversão, ainda que se possa argumentar que talvez nada mais seja que a sucumbência da lógica à necessidade, parece ao mesmo tempo refletir a relação bipolar e ambígua que a pesquisa genética provoca na sociedade, em que de um lado *cura* e *melhoramento* expressam o dualismo humano, que oscila entre a *necessidade* e a *vontade*, entre as *circunstâncias* e os *desejos* e, de outro, a *utopia* e a *distopia*, nas quais o poder de manipular o genoma sem todo o conhecimento sobre a vida, pode produzir o maior o bem e o pior mal à humanidade, desde o ser humano perfeito e a mais evoluída sociedade do futuro até a sua própria extinção por uma superbactéria ou uma epidemia, seja ela acidental ou intencional. CRISPR é a materialização mais recente dessa dicotomia entre esperança e temor, com poder suficiente para mobilizar cientistas de todos os continentes na busca por um canal de mobilização, diálogo e convergência com a sociedade.

Isso veio em duas formas. De um lado, vários pesquisadores e instituições de pesquisa vieram a público manifestar entendimento em favor de uma moratória para que se pudesse compreender melhor a técnica e debater os limites éticos de sua aplicação, incluindo uma regulamentação de alcance global. De outro, segmentos da sociedade buscaram uma forma arbitrada de superação da dicotomia, seja na forma judicializada do debate, caso do processo C-528/16 que tramitou pela Corte de Justiça da União Europeia (COURT OF JUSTICE OF THE EUROPEAN UNION., 2018), seja na forma discricionária de um ato normativo/legislativo, caso da Resolução Normativa nº 16 emitida pela CTNBio brasileira, tema a que retornaremos mais adiante com outros detalhes.

O caso C-528/16 envolveu cientistas, representantes da agroindústria, atores governamentais e sociais no julgamento que decidiria se as novas biotecnologias como CRISPR seriam alcançadas pelas normas já estabelecidas para os OGMs, consideradas por alguns muito restritivas. A polarização do debate se situou entre o temor, representado pelas ameaças que a técnica representaria para o ser humano e o meio ambiente, e a ousadia, representada pela oportunidade de novos avanços e conquistas no campo da engenharia do genoma. O principal argumento destes últimos, ao estilo *laissez-faire*, defendeu a ideia de que essas novidades não passam de uma forma de “ajudar a natureza” a realizar em pouco tempo, processos que a evolução naturalmente alcançaria mais cedo ou mais tarde, o que sugere não apenas que estes acreditam plenamente na sua capacidade de dominar plenamente a mecânica da natureza, mas também de predizer deterministicamente o seu futuro.

As vertentes em favor de uma moratória começaram a surgir com maior intensidade

a partir de 2015, principalmente nas publicações especializadas, tanto por iniciativas individuais de especialistas, como por grupos envolvidos na pesquisa e por instituições ligadas ao setor de biotecnologia.

A conceituada revista *Nature* publicou uma das primeiras manifestações de impacto no seu editorial, de autoria de Edward Lanphier, Fyodor Urnov, Sarah Ehlen Haecker, Michael Werner e Joanna Smolenski⁷, intitulado: “*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*” (“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”, tradução nossa). Reverberada no mesmo mês de março de 2015 pela *Technology Review*, vinculada ao MIT - Instituto de Tecnologia de Massachusetts, ainda que no detalhe, os argumentos pudessem ser objeto de discussão e até mesmo de controvérsia - tanto no que se refere a barreira entre linha germinal x somática, como no que se refere as dificuldades não superadas de prever e acompanhar efeitos tardios, transgeracionais, as edições sistêmicas em cadeia, os cortes *off-target* e o mosaicismo, temas que tratamos aqui em detalhes -, e é natural que o sejam (mesmo porque é isso que a justifica), a publicação foi um marco importante, necessário e produziu efeitos altamente positivos no período seguinte, tanto no sentido de estimular a que outros cientistas debatessem e se posicionassem publicamente a respeito da questão CRISPR-Cas9, como de incentivar a que a academia e o público em geral pudessem ser envolvidos no debate. (Lanphier *et al.*, 2015; Regalado, 2015).

Logo em seguida, a revista *Nature Biotechnology* publicou outra matéria com o título: “*CRISPR germline engineering – the ornaity speaks*” (“Engenharia germinativa CRISPR – a comunidade fala”, tradução nossa), em que foram captadas interessantes visões de cientistas de reconhecimento internacional, de vários países. Constam na lista: 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 questões simbólicas, mas de relevante pragmatismo, apresentada pela revista 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

7. Segundo a revista *Nature*, os autores da matéria tinham a seguinte vinculação institucional à época: “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).

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).

Das várias respostas obtidas, todas mobilizadoras de interessantes reflexões, destacamos quatro:

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).

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).

Outra questão colocada, que não fazia parte da equação de Azilomar, diz respeito exatamente aos chamados *DIY biologists*:

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).

Lacadena, ao avaliar as propostas de moratória, a partir da experiência de Azilomar, faz interessante ponderação que, se quisermos, podemos conectar à questão acima:

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).

Naquele mesmo ano, a The National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (“Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina”), publicou manifestação do Organizing Committee for the International Summit on Human Gene

Editing (“Comitê Organizador da Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humanos), assinado por 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, intitulada On Human Gene Editing: International Summit Statement (“Sobre a edição de genes humano: Declaração da Cúpula Internacional”), na qual aponta que se por um lado os problemas de segurança persistem, por outro, os benefícios reais ainda são muito restritos. Nos argumentos, além das questões que já constavam no editorial da Nature, foram acrescentadas outras igualmente relevantes: que a ampla variabilidade genética humana torna muito difícil prever possíveis efeitos prejudiciais; que interações danosas com outras variantes genéticas e com o meio ambiente dificilmente poderão ser previstas; que modificações no genoma humano dificilmente poderão ser revertidas, tampouco restringidas dentro de uma comunidade e, finalmente, que os riscos do uso da técnica para fins de “aprimoramento” podem ensejar práticas eugênicas eticamente inaceitáveis e que ampliem as desigualdades sociais. Ao final, pede que a U.S. National Academy of Sciences, a U.S. National Academy of Medicine, a Royal Society e a Chinese Academy of Sciences assumam “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” (BALTIMORE et al., 2015a).

O evento acabou acontecendo no final daquele mesmo ano, sob os auspícios da Academia Nacional de Ciências e Medicina dos Estados Unidos, da Royal Society de Londres e da Academia Chinesa de Ciências. Ao tratar dos resultados obtidos no evento, Reardon fez um registro que em certa medida, refletiu as dúvidas, incertezas e interesses daquele momento: “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 ínterim, reflexões de natureza ética de diversos pesquisadores foram sendo publicadas em várias revistas, tanto as especializadas como as destinadas ao público em geral, o que ajudou a ampliar o escopo do debate e, de alguma forma atingir um público maior, não acostumado com este tipo de discussão (BALTIMORE et al., 2015a; CHARPENTIER, 2015; DUJON, 2017; MO, 2015; PORTEUS; DANN, 2015; REARDON, 2016; REYES; LANNER, 2017).

Um debate singularmente interessante foi o promovido pela American Society of Human Genetics – ASHG (Sociedade Americana de Genética Humana). Primeiro pelo tempo investido, quase um ano e meio (de agosto de 2015 a janeiro de 2017) e segundo, pela forma bipolar como organizou as discussões e as conclusões auferidas: a) questões éticas decorrentes do seu potencial de falhas e, b) questões éticas decorrentes do seu sucesso. Publicado sob o título “Human Germline Genome Editing”, as conclusões, para

além de convergirem em geral ao que até então vinha sendo debatido, avança de maneira pragmática numa proposta de gestão de riscos que deveria ser construída a partir de três consensos: : “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 off-target, e iii) os tipos de genoma editáveis aceitáveis em relação ao seu potencial de consequências não intencionais” (ORMOND et al., 2017, p. 173).

Note-se que embora no geral, de uma certa forma, tais consensos já tivessem sido apontados pelo The Hinxton Group (2015) em sua “Statement on Genome Editing Technologies and Human Germline Genetic Modification” (“Declaração sobre Tecnologias de Edição de Genoma e Modificação Genética da Linha Germinativa Humana”), as discussões de ambos revelam diferenças de conteúdo importantes.

4.4 TIMP E A RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 16-CTNBIO

Uma questão fundamental, do ponto de vista pragmático, relacionada a biossegurança e as novas ferramentas de manipulação do genoma, tais como CRSPR, diz respeito a saber como os países têm lidado com a questão em meio a efervescência do debate global sobre o tema, ainda que tal não seja preditivo para as escolhas a serem feitas por outras nações. Neste aspecto, o Brasil assumiu uma posição particularmente insólita, através da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, a partir da emissão da Resolução Normativa nº 16, de 2018 (RN16), que tratou das Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão – TIMP – do inglês *Precision Breeding Innovation* – PBI.

A fim de preambular o contexto em que se insere a discussão sobre as TIMP, vale a pena lembrar algumas situações recentemente que dizem respeito a aplicações com edição de genes, cujos resultados parecem não se conformar com as projeções iniciais das pesquisas. Experimentos como o da OXITEC, em Jacobina, na Bahia (CTNBIO, 2014a; EVANS et al., 2019; SILVEIRA, 2011), envolvendo modificação genética denominada OX513A em mosquitos *Aedes aegypti*, que pretendia erradicar a transmissão da dengue, com potencial para febre amarela, zika e Chikungunya; o de terapia gênica, que pode ter resultado em leucemia linfocítica aguda decorrente de um sítio de integração proviral (HACEIN-BEY-ABINA et al., 2002, 2003), conforme citamos anteriormente e o possível evento de integração de genes bacterianos no genoma do touro Buri, da empresa norte-americana Recombinetics (REGALADO, 2019), soam como mais uma série de alertas de que o conhecimento até o momento estabelecido acerca da genética, em especial de genética evolutiva e de populações, no que tange a edição de genes, precisa ainda avançar mais para que se possa efetivar com segurança aplicações clínicas e de campo.

Dito isto, façamos também um rápido e interessante movimento pendular entre o passado e o presente associados ao debate institucionalizado sobre biossegurança envolvendo ferramentas de edição gênica, ocorridos no Brasil. O país teve até agora

dois momentos de maior importância, que se seguiram às descobertas de duas novas tecnologias e foram ambos reativos ao surgimento de novos produtos delas derivadas. O primeiro foi o da criação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio e da Lei de Biossegurança⁸ que lhe deu origem (a Lei nº 8.974/1995, mais tarde substituída pela Lei 11.105/2005) (BRASIL, 1995, 2005b), que surge a partir da tecnologia do DNA Recombinante. O segundo momento é este, que surge a partir das TIMP, com destaque para CRISPR-Cas9.

No entanto, essa trajetória casuística do debate contém algumas diferenças marcantes. O primeiro momento termina numa norma, já o segundo nasce dela. A outra diferença é que a norma gerada no primeiro momento é uma lei federal aprovada no Congresso Nacional, submetida a discussão no âmbito do Supremo Tribunal Federal a partir de uma Ação Direta de Inconstitucionalidade (SUPREMO TRIBUNAL FEDERAL - STF, 2008, 2010) e que provocou um amplo e longo debate sobre vários aspectos da lei, envolvendo parlamentares, juristas, cientistas, jornalistas, segmentos interessados e a sociedade civil como um todo. O segundo nasce de uma norma proferida por um órgão que faz parte da estrutura do Poder Executivo Federal, de maneira aparentemente sucinta e sem uma discussão mais ampla. Pode-se fazer críticas ao debate feito no primeiro momento, mas não ao segundo, simplesmente porque ele não ocorreu. Evidentemente que, resistindo cediço terreno das intenções, as diferenças entre “lei federal” e “resolução normativa” são por si só reveladoras do caminho adotado em cada momento.

Para entendermos melhor o que a RN16 significa no contexto de nossa discussão, é altamente recomendável que estudos adicionais possam analisar a mesma a partir das demais normativas relacionadas ao tema vigentes no país, incluindo a Lei nº 11.105/2005 (BRASIL, 2005b), o Decreto 5705/2006 (BRASIL, 2006), as 29 Resoluções Normativas emitidas pela CTNBio de junho de 2006 até novembro de 2020 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2006a, 2006b, 2013b, 2014, 2015a, 2015b, 2018a, 2018b, 2018c, 2018d, 2019a, 2019b, 2007b, 2020a, 2020b, 2020c, 2020d, 2020e, 2020f, 2020g, 2020h, 2007a, 2008a, 2008b, 2009a, 2009b, 2011, 2013a; CTNBIO, 2014b), a Portaria Normativa nº 585/2013 do Ministério da Defesa (MINISTÉRIO DA DEFESA, 2013), as *Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos do Ministério da Saúde* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010), a *Classificação de Risco dos Agentes Biológicos do Ministério da Saúde* (BRASIL, 2010) e a *Constituição da República Federativa do Brasil*.

É a partir da Lei nº 8.974/1995 – que “Regulamenta os incisos II e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas para o uso das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados, autoriza o Poder Executivo a criar, no âmbito da Presidência da República, a Comissão Técnica

8. No Brasil, o estatuto jurídico que trata das novas biotecnologias é a Lei 11.105/2005, que atribuiu à CTNBio as prerrogativas para regulamentar, com vista à biossegurança, as normas e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvem organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados.

Nacional de Biossegurança, e dá outras providências” (BRASIL, 1995) -, que o Brasil passa a ter uma legislação específica voltada à temática, chamada “Lei da Biossegurança Brasileira”, bem como um organismo especializado para lidar com o desenvolvimento e aplicação nesta área. No entanto, a mencionada comissão foi objeto de veto presidencial e sua criação passou por sucessivas medidas provisórias, até que a Lei nº 11.105/2005 (BRASIL, 2005a), com atraso de 10 anos, outorgou à CTNBio status definitivo e permanente como organismo específico, de abrangência nacional, destinado a autorizar “atividades e projetos que envolvam OGM e seus derivados, relacionados ao ensino com manipulação de organismos vivos, à pesquisa científica, ao desenvolvimento tecnológico e à produção industrial” (art. 2º) e, na mesma seara, criou o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, como “órgão de assessoramento superior do Presidente da República para a formulação e implementação da Política Nacional de Biossegurança”. Objeto de uma Ação Direta de Inconstitucionalidade, esta lei provocou intensa discussão acerca de um aspecto particular, as pesquisas com células tronco embrionárias para fins terapêuticos – na qual se questionou se o art. 5º violava o direito à vida, trazendo à tona inclusive o debate conexo sobre aborto – que acabou por sublimar a discussão de outros aspectos importantes, que resultaram aprovados sem o amadurecimento e a crítica que lhes era devido. Venceu a tese pela constitucionalidade do mencionado artigo, pela liberação do uso de células tronco embrionárias resultantes de fertilização *in vitro* não destinadas à implantação intrauterina, portanto, não levadas a termo em uma gravidez (SUPREMO TRIBUNAL FEDERAL - STF, 2010). Isto, ao menos em tese, encerraria no Brasil a discussão que recentemente tomou fôlego com o mencionado experimento de He Jiankui sobre edição de embriões humanos viáveis, baseado em CRISPR, não fossem as particularidades e exclusões constantes no mencionado texto legal e que trataremos a seguir.

Denota-se desde logo no artigo 1º, o escopo da lei nº 11.105/2005:

Art. 1º - Esta Lei estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente.

A indicação expressa a OGM encontra o seu conceito e abrangência explicitados no artigo 3ª:

Art. 3º Para os efeitos desta Lei, considera-se:

V – [...] organismo geneticamente modificado – OGM: organismo cujo material genético – ADN/ARN tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética;

Isoladamente, este inciso, que três anos mais tarde é reproduzido de maneira

direcionada a organismos de origem vegetal, na Resolução Normativa N° 6 (RN6), de 6 de novembro de 2008, art. 2º, inciso II (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2008b), poderia levar à conclusão equivocada de que TAMP como CRISPR estariam de alguma forma albergadas no texto legal, no entanto, os demais incisos que compõem o mencionado artigo 3º da Lei acabaram impedindo tal alcance, evidentemente não por exclusão deliberada, vez que a técnica inexistia à época da construção da norma.

Ainda na RN6, no inciso III, haja a indicação de quais materiais genéticos podem ser editados, basicamente o DNA e RNA, não há nela menção a edição de outros elementos móveis, nem tampouco aos processos de manipulação epigenética no nível da cromatina ou de microRNA para fins de interferência na expressão gênica. Nos incisos seguintes, IV e V, tal posição é reforçada. Interessante notar também a indicação explícita à manipulação “fora das células vivas”, o que de pronto ignora as edições *in vivo*.

Outra particularidade que chama a atenção é a exclusão da edição de material genético mitocondrial da categoria de OGM, constante no parágrafo 1º, nos seguintes termos:

§ 1º Não se inclui na categoria de OGM o resultante de técnicas que impliquem a introdução direta, num organismo, de material hereditário, desde que não envolvam a utilização de moléculas de ADN/ARN recombinante ou OGM, inclusive fecundação *in vitro*, conjugação, transdução, transformação, indução poliplóide e qualquer outro processo natural.

A Resolução Normativa N° 7, de 27 de abril de 2009 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2009b) traz uma novidade que representa a limitação contida na RN6 a organismos de origem vegetal, a referência direta a *Microorganismos e Animais Geneticamente Modificados*, explicitamente àqueles de *Classe de Risco I*, para fins de *liberações planejadas no meio ambiente*, definindo no seu artigo 2º o seu conceito:

Art. 2º. Para efeitos desta Resolução Normativa considera-se:

II- Microorganismo Geneticamente Modificado (MGM)- microorganismo cujo material genético (ADN/ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética;

Esta novidade reflete uma ampliação importante na perspectiva sobre que tipos de organismos podem ser utilizados como produtos da edição gênica para fins de aplicação, em certa medida talvez num esforço para acompanhar a evolução das técnicas de edição gênica. Se isso reflete uma mudança de paradigmas, o texto em si não o apresenta e nem o justifica. De mais a mais, os outros elementos oriundos das normativas antecessoras citadas não se alteraram, o que na prática tornou o conjunto normativo mais complexo do que já se demonstrava até então. Vale lembrar que ainda nesse momento a ferramenta de edição CRISPR não havia sido descoberta.

Outra novidade é a que surge na Resolução Normativa N° 9, de 2 de dezembro de 2011 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2011) – retomada nos mesmos termos pela Resolução Normativa n° 24, de 7 de janeiro de 2020 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2020h) -, que diz respeito a mudança no conceito do termo “risco”, que até então vinha sendo definido desde a Lei 11.105/2005 como “probabilidade de ocorrência de efeito adverso” e nesta resolução passa a ser definido a partir de duas condições distintas, previstas no artigo 2°:

II -risco negligenciável: aquele associado a dano reduzido com probabilidade de ocorrência desprezível no tempo provável de uso comercial de um determinado OGM;

III risco não negligenciável: aquele associado a dano com probabilidade concreta de ocorrência no tempo provável de uso comercial de um determinado OGM (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2011);

O que seja um “dano reduzido”, ou uma “probabilidade de ocorrência desprezível” não encontram uma definição precisa nos termos da resolução, nem tampouco na legislação relacionada, em especial a Lei 11.105/2005. A restrição ao “tempo provável de uso comercial de um determinado OGM” também chama a atenção pelo viés claramente enviesado da abordagem, uma vez que ou desconsidera, de um lado, qualquer possibilidade de ocorrência de eventos após esse tempo, ou considera que eventos após esse tempo possam ser decretados não importantes e, além disso, ou desconsidera os seus usos não comerciais, ou os considera sem importância.

O mesmo artigo 2° traz também outra novidade, a inclusão do termo “dano” como conceito: “I – dano: efeitos adversos ao ambiente ou à saúde humana ou animal”, que não veio, no entanto, acompanhado da definição do que sejam os chamados “efeitos adversos”, o que não favorece nem o seu entendimento, tampouco a sua aplicação. Até então o termo “dano” aparecia nas normativas anteriores, em especial na Lei 1.105/2005, apenas como indicação no rol das penas aplicáveis. Evidentemente que a imprecisão destes termos e a mera indicação inespecífica, quase genérica, de suas aplicações, em áreas tão complexas como a genética, meio ambiente e evolução, possibilita críticas tanto nos campos da semântica e do conhecimento específico, como sobretudo, no campo da bioética, a depender do entendimento que se adote para o termo “precaução”, previsto no artigo 1° da Lei 11.105/2005, e de como ele se aplica nesta questão.

Outro aspecto que chama a atenção, desta feita relacionado à RN16, diz respeito à referência, ou mais precisamente à sua ausência (no item 3 do anexo II, que trata da Classificação de Risco de OGM's), a organismos desenvolvidos a partir das TIMP. No mesmo item, consta a indicação à RN2, de 27 de novembro de 2016 (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2006a), justamente a que trata da Classificação de Riscos, mas que foi modificada logo após a publicação da RN16, de 15 de janeiro de 2018, através da RN18, de 23 de março de 2018 (COMISSÃO TÉCNICA

NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO, 2018a). Curiosamente revelador é que, apesar da atualização da norma ter ocorrido dois meses após a RN16, ela não faz referência a organismos desenvolvidos a partir das TIMP.

AS DETERMINANTES SOCIAIS, GEOPOLÍTICAS E ECONÔMICAS EM UM MUNDO GLOBALIZADO, DESIGUAL, EXCLUDENTE E EM CONFLITO

Começemos por falar um pouco sobre alguns dados relacionados a questões econômicas relacionada a biotecnologia CRISPR 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 startups, empresas tradicionais, e gigantes de setores farmacêutico, biomédico, agrícola e fornecedores de insumos, somente entre os anos de 2013 a 2015, agremiaram algo em torno de US\$ 600 milhões em capital de risco para pesquisa (vide Tabela 18), o que o motivou a denominá-la como a nova “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 Collectis 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).

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 Agrosciences Livestock	PCT/US2013/039979 compartilhado com Sangamo Biosciences
	Pecuária	Recombinetics	PCT/US2014/0201857
	Culturas	Collectis 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	Collectis, Sublicenciamento
	Modelos animais	Taconic	Licença ampla
Sublicenciando	Ag, Industrial, Bio	Caribou	PCT/US2013/053287
Médico	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

Tabela 18 - Áreas e produtos de interesses da indústria de biotecnologia baseadas em Cas9.

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

Segundo Brinegar e associados: "Em 2015, as startups de edição genética receberam cerca de 550 milhões USD em investimentos, o dobro do valor quando comparado com os realizados em 2013 e 2014". (BRINEGAR *et al.*, 2017).

Consta em um artigo da revista Nature publicado em 2015, que 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 Agrosciences: 28. (LEDFOORD, 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 poderiam ser um modelo de solução para CRISPR-Cas9, vez que de alguma forma 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 do 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; BRYANT, 2015, p. 522).

O confronto de alguns dados de algumas realidades, distantes 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.

5.1 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; 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 a 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), (UNAIDS, 2016), (VELJI; 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; 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. Devido à crise socioeconômica causada pela COVID-19, a taxa de extrema pobreza na América Latina em 2020 para 2021 aumentou de 13,1% para 13,8%, um retrocesso que não era visto há 27 anos (CEPAL, 2022).

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.–Apesar de duas grandes guerras mundiais, nossa sociedade continua vivendo um estado permanente de conflito, em que em algum lugar do mundo a imposição das armas sobre o diálogo continua sendo o único instrumento para solucionar antagonismos. Algumas vezes chamada de “guerra pela paz”, outras de “terrorismo”, o que talvez não passe de perspectivas distintas para uma mesma tragédia humanitária para a maioria absoluta daqueles seres humanos que se veem tragicamente no meio das disputas e que não raras vezes, sob a égide da diplomacia das armas, continuarão sendo vítimas, independente de quem vença. A esse traço inconfundível de nosso processo civilizatório, se somam outros a compor um mosaico de horrores, que tão “distintamente” caracterizam

nosso antropoceno.

O uso da tortura não apenas em situações de guerras, mas também como prática institucionalizada cotidiana em países como o Brasil e o Caribe, o exílio forçado de milhões de seres humanos, não apenas como decorrência de conflitos, mas também como consequência de crises econômicas estruturais permanentes, em países de baixa e média renda, não raras vezes associado a expansão cada vez maior dos grandes conglomerados financeiros transnacionais (o chamado capital sem pátria), cujo reflexo tão claro quanto invisibilizado e insensibilizado, é a exclusão assustadoramente crescente, de cada vez mais seres humanos do acesso, não da riqueza e dos bens de consumo – por certo, nada mais que uma ilusão com viés de promessa oferecida para aplacar a revolta do necessitados -, mas dos bens que transitam entre o fundamental (água, comida e território) e o essencial em uma sociedade civilizada para a paz (saúde, educação e cultura e os produtos e benefícios do desenvolvimento científico e tecnológico), são os contornos desse quadro, que mais parece a afirmação de um processo civilizatório às avessas, fruto de um certo *homo everstor vita*, cujo grito de guerra contra o *homo sapiens sapiens* transforma em ruínas a utopia de uma civilização baseada no compartilhamento justo e sustentável dos recursos, na igualdade de oportunidades, na fraternidade de direitos e na solidariedade de destinos.

Tudo isso, nos faz refletir se este mundo, se 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 universalmente compartilhados e políticas globais que alcancem inclusive os mais vulneráveis, incluindo-se não apenas os seres humanos, mas também o meio ambiente. Este sim, parece ser um desafio insuperável, e talvez até mesmo impossível no atual estágio de nosso processo civilizatório.

A essa realidade que transita entre o inaceitável e o injustificável, entre o terrível e o trágico, é preciso acrescentar outras circunstâncias que atingem de maneira avassaladoramente sinistra nossa humanidade e desnudam valores éticos, ou a ausência deles, incompatíveis com as pautas universais de direitos humanos:

O tráfico internacional de seres humanos, forçados à exploração sexual, à escravidão e até mesmo para retirada de órgãos para transplante, a intolerância em sentindo amplo e com ela a violência de natureza religiosa, de raça, cor, sexo, gênero e até mesmo de classe social ou preferência política, formam outra parte deste prosaico cenário, cujos persistentes registros no sítio eletrônico da ONU dão conta da sua amplitude global e da impotência dos sistemas locais, regionais e globais em superá-los, o que em última análise revela a incapacidade do nosso tempo em romper com o *status quo* vigente e de promover direitos humanos e a paz mundial para que as futuras gerações não sejam herdeiras do nosso fracasso moral. (ONU - Brasil, 2011; Brasil, 2016; ONU - Brasil, 2016b).

Possivelmente a fome seja o flagelo social mais terrível e que, em todos os sentidos, de maneira mais contundente, expresse o estágio evolutivo de uma sociedade. Não apenas

por ser a mais básica necessidade da vida, mas também porque ela é o resultado de um conjunto amplo de fatores que vão desde a absoluta exclusão do ser humano em todos os sentidos, desde o expurgo econômico e social, até a invisibilização de sua existência, o que o abandona ao silêncio trágico do próprio destino e com isso, o torna ainda mais vulnerável, num abismo do qual nem mesmo a sorte o pode alcançar. Esses são os sinais dos nossos tempos, em que as alianças geo-político-econômicas estão na raiz de um profundo afastamento de compromissos por igualdade e justiça social e revelam uma ruptura quase irreversível de valores humanitários essenciais como fraternidade e solidariedade.

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).

5.2 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 rentáveis na Europa, onde criminosos lucram anualmente 3 bilhões de dólares. (ONU - Brasil, 2010; ONU, 2014). Na última década, apesar de o trabalho infantil ter diminuído para 38%, ainda assim, impressionantes 152 milhões de crianças são afetadas. Com a pandemia da Covid-19, os indivíduos que já se encontravam em situação de vulnerabilidade, ficaram em uma situação de pobreza ainda maior. Devido ao fechamento das escolas e avanço da crise econômica, milhões de crianças trabalham para contribuir com a renda da família (OIT, 2021).

Ainda neste contexto, há o gravíssimo problema dos refugiados no mundo¹. 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).

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 atrozes atos de violência contra a humanidade, uma situação chamou especial atenção e ocupou o foco dos meios de comunicação de massa internacionais por um certo tempo: 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%.

1. 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.

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 do 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).

5.3 ALGUNS ASPECTOS DA SAÚDE GLOBAL

Outro aspecto que clama à reflexão, diz respeito ao histórico recente de pandemias como a gripe H1N1 e a Covid-19, 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 e 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 por 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 medidas indicadas pelo Comitê de Revisão, que em 2009 tratou da Pandemia por H1N1, tivessem sido acatadas, 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 encaminhou 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 pretendia 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 patógenos que se considerava epidemiologicamente de interesse prioritário 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 conclamou 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 recuperamos 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 como espécie. 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 para lidar com elas.

5.4 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, somente em 2016, foram gerados 124 milhões de toneladas de esterco, dos quais quase dois terços (86 milhões de toneladas) foram abandonados 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 entre 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.

5.5 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 propriamente dita, 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 dispõe de condições reais e instrumentos de acompanhamento destas pesquisas e de garantia de compartilhamento igualitário e universal dos riscos e benefícios dela advindos.

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, desde logo, é justo reconhecer o notável esforço de cientistas e instituições de vários países em trazer o debate a público (como dito nos capítulos anteriores), 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 entendimento 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 et al., 2015b; CHARPENTIER, 2015; DUJON, 2017; PORTEUS; DANN, 2015; REARDON, 2016; REYES; LANNER, 2017). Esta perspectiva, reconheçamos, 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, no entanto, 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 *et al.*, 2015a) -, 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, registrou da seguinte maneira o resultado do encontro: “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 espermatozóides, gametas e embriões humanos cultivados *in vitro*, sujeitos à regra dos 14 dias². 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” (“Any constraint of scientific inquiry should be derived from reasonable concerns about demonstrable risks of harm to persons, societal institutions, or society as a whole. Policymakers should refrain from constraining scientific inquiry unless there is substantial justification for doing so that reaches beyond disagreements based solely on divergent moral convictions”). (The Hinxton Group, 2015, p. 6, tradução nossa). O destaque a que nos referimos é ao uso de termo “solely” (que podemos traduzir como “apenas”, “unicamente”, “exclusivamente”), 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*

2. 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.

Research Charities, Biotechnology and Biological Sciences Research Council-*BBSRC* e *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 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).

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 apenas a linha germinal humana deve ser preservada, ao menos 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 *off-target* e mosaicismo) 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 proibidas;

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.

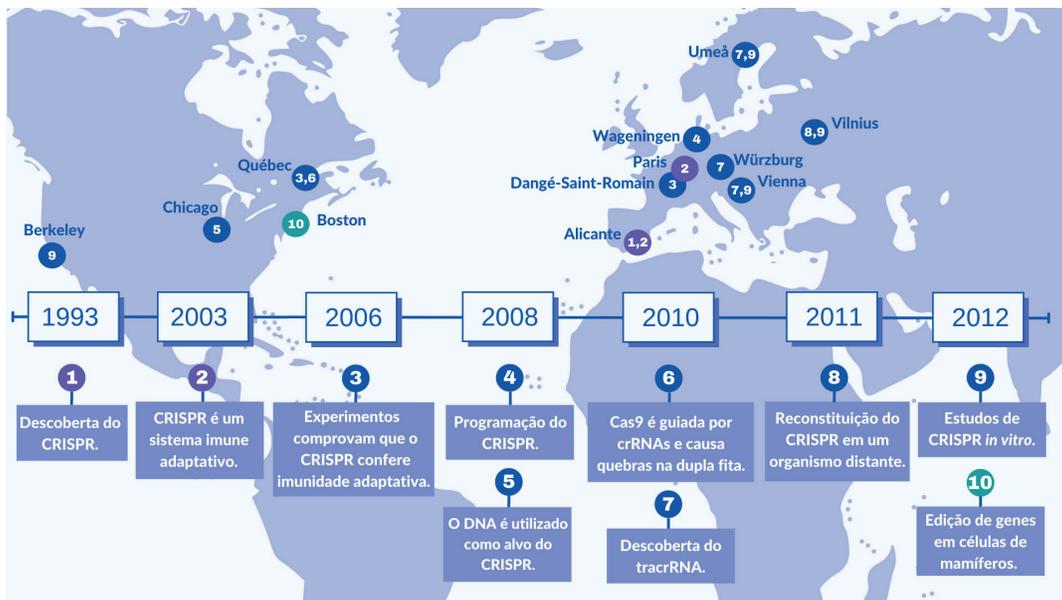
Evidentemente que estes apontamentos se baseiam nos documentos publicados, que em geral são sínteses de longas discussões, algumas realizadas no decorrer de meses de trabalho, com participação de especialistas de diversas áreas, de modo que certamente eclipsam a riqueza, a amplitude e a profundidade 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 item 4.1.4 do tema epigenética 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 sendo concentrado é possível prever de onde partirão os produtos e benefícios desta biotecnologia, do que decorre, como deduzível, que seja nesses locais onde o debate sobre regulação terá maior impacto na pesquisa, e portanto, onde os conflitos de interesses devem emergir 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 15. (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 lilás indicam a descoberta precoce do sistema CRISPR e da sua função; azul indicam as pesquisas de caracterização genética, biológica molecular e bioquímica; e verde apontam a etapa final da engenharia biológica que resultaram na edição do genoma, adaptado de Lander (2016).

Figura 15 - A história de vinte anos de CRISPR desdobrada em doze cidades e em nove países*.

Fonte: Isabelle M. Wisley, baseado em Lander (2016).

Outro aspecto do debate em torno da regulamentação 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. Como já tratamos a este respeito, sob o posicionamento liberalizante da RN16, vamos fazê-lo sob a perspectiva oposta.

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 (que já mencionamos em outras

pcasões), 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 Floresta”), 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 OGM³ [...] 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 –, 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 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 prós e contras 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.

O relatório destaca cinco princípios éticos e desafios decorrentes dos avanços na área da genética e da biotecnologia ligada ao genoma, dos quais destacamos três⁴: 1°

3. 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).

4. Os outros dois princípios éticos e desafios apontados no referido documento são: - respeito à autonomia e privaci-

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 discriminação⁵; 2º contexto cultural, social e econômico da ciência: diante da globalização, do amplo acesso à 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 fundamentais⁶ e, 3º responsabilidade para com as futuras gerações: requer grande atenção especificamente para com o campo da edição do genoma⁷. (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).

Simão-Silva e associados colocam a questão de maneira bastante pragmática:

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).

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:

“renunciem a possibilidade de agir sozinhos em relação a engenharia do genoma humano e aceitem cooperar no estabelecimento de um padrão

dade: 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).

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

6. 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).

7. 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).

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, recomendativos ou pactuantes, sobre os quais pode haver aceitação tácita ou adesiva 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 e 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 local 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 (tais como aquelas envolvendo tráfico humano, tortura, guerras, migrações, etc.). As justificativas dos Estados-parte vão desde a simples ausência de justificativa à 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 Lund⁸. Sob a égide do Pacto de San Jose da Costa Rica⁹ (OEA, 1967), a Corte Interamericana de Direitos Humanos, 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 providencias 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.

8. 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 mesmos, 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).

9. O Brasil fez a adesão voluntária ao Pacto de San Jose da Costa Rica em 1969, portanto com muita antecedência da promulgação da Constituição Brasileira de 1988. No entanto, somente em 1992 o país o ratificou, através do Decreto nº 678 (disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D0678.htm>), e apenas em 1998 reconheceu 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 sentenças da Corte, assim como das demais cortes internacionais, são consideradas definitivas, autoaplicáveis e inapeláveis. (BRASIL, 2014a; OEA, 1967; TOSI et al., 2015).

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- STF 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 STF, 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, nulas¹⁰. (MENDES, 2009).

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), e que, contudo, tiveram desdobramentos bastante distintos no âmbito do Supremo Tribunal Federal do brasileiro.

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 transgressão ao Pacto de San José da Costa Rica e às decisões da Corte Interamericana de Direitos Humanos, conforme já mencionado anteriormente. 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

10. STF. AC 2436 MC/PR - Paraná, incidental ao RE n° 460.320, julgada em 03/09/2009, publicada em 15/09/2009. (Decisão Monocrática do Ministro Relator. Gilmar Mendes).

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).

Com efeito, 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 a 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”¹¹. Estas visitas e inspeções são fundamentais para o acompanhamento das demandas que são apresentadas junto à Comissão ou à Corte.

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.

11. 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 <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1990-1994/anexo/and678-92.pdf>. Acesso em 30 mar. 2016.

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 nos conceitos e princípios da genética e da 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 inato de bactérias e archaea, e o que é a ferramenta molecular CRISPR-Cas criada em laboratório - que recebe o mesmo nome de seu homólogo selvagem e vem sendo utilizada tanto como marcador molecular como ferramenta para edição de genes, tanto na pesquisa básica como aplicada - para termos ao menos um vislumbre de visão e entendimento de quais podem ser 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 a partir desta bioética, qual o dever, o compromisso que nossa humanidade deve assumir para com o nosso tempo e para com as gerações futuras.

6.1 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.

Para trilha essa busca pela ética, façamo-lo em três etapas: 1º vamos definir qual é o seu desafio e o seu objeto de estudo; 2º vamos identificar o que ela não deve ser e ao mesmo tempo do que ela deve se afastar, e 3º vamos identificar, ainda que circunstancialmente, os seus fundamentos, requisitos e princípios.

O objeto de estudo da ética que buscamos se situa no amplo espectro do agir humano, considerada a amplitude deste agir no tempo e a sua extensão no espaço a partir de nossa contemporaneidade, na qual a tecnologia assume papel central como determinante e amplificador deste agir, que de forma abrangente chamamos de poder¹. No entanto, dado que não é possível ter uma ética para o agir pequeno e outra para os grandes feitos, assim como a régua que mede as horas deve ser a mesma que mede os séculos, esta ética tanto deve servir àquele agir pequeno, de alcance limitado, como ao poder de uma tal magnitude que possa afetar uma comunidade inteira, uma espécie, o equilíbrio da biosfera e se refletir nas gerações futuras. Uma ética dotada de tal envergadura, deverá ser capaz de enquadrar CRISPR e certamente, todo o agir humano, em todas as suas dimensões. Os seus maiores desafios vão muito além daquilo que é possível conhecer e exigirão a necessária lucidez para, no caso do agir pequeno, discernir entre os interesses de sujeitos conhecidos, até mesmo individuais, dos sacrifícios coletivos que dele decorrerão e, no outro caso, o do poder dos grandes feitos, do grande agir, terá que decidir na ausência de todo o conhecimento necessário e, abandonado à ignorância da própria ignorância, se submeter ao escrutínio ou do medo, ou da solidariedade de destinos, ou da providência, para discernir com alguma lucidez sobre as escolhas, que em muitas circunstâncias, exigirão abdicar de muitas das ambições do tempo presente que, mantido o rumo atual, conduzirão a grandes sacrifícios, talvez até insuportáveis e insustentáveis para as gerações futuras.

Dito isto, desde logo fica claro que as éticas tradicionais não tem o alcance necessário para a tarefa proposta, já que seus objetos de estudo estão presos a um limitado horizonte espaço-temporal e restritos às contingências existenciais de sujeitos necessariamente nominados, contenciosos na ação ou nos seus produtos. O futuro distante e nele, os sujeitos que ainda não existem, não podem ser representados, não tem deveres e nem direitos, logo, não fazem parte da equação daquelas éticas.

1. Utilizamos aqui a ideia de "poder" apresentada por Jonas, em "Princípio Responsabilidade - Ensaio de uma ética para a civilização tecnológica", que ao analisar as mudanças ocorridas na natureza do agir humano, o faz da seguinte maneira: "[...] 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).

A ética que buscamos, para fazer frente a este agir, de poderes de tamanha magnitude, deve ser capaz de transcender os dilemas entre as relações interpessoais e as ambiguidades dos interesses de grupos sociais, para ser capaz de lidar com os interesses daqueles que não estão identificados, muitos que ainda nem existem, mas que ainda assim estão irremediavelmente presos pelas correntes do nosso agir, ou seja toda a coletividade indefinida do presente e do futuro, no qual fazem parte todas as vidas humanas e não humanas e a própria biosfera, o que desde logo exige a superação de uma questão fundamental e que é a base das éticas tradicionais: o antropocentrismo².

Os desafios do nosso progresso, dos avanços cada vez maiores das tecnologias, em escalas que em geral alcançam dimensões planetárias, que se acumulam em períodos de tempo cada vez menores, exige que a ética seja igualmente sistêmica e planetária. Mas antes disso, ela deve ser capaz de orientar a construção do conhecimento que lhe é fonte e origem e lhe dar algum sentido, propósito e significado como compromisso de preservar aquilo que ele mesmo tem por objeto e por isso mesmo, põe e risco: a vida global, ecossistêmica e planetária.

Diferentemente das éticas tradicionais, a ética que necessitamos deve ser a ética da responsabilidade partilhada pela solidariedade de destinos de e entre todos os seres vivos, na qual o compartilhamento pleno e justo tanto dos benefícios como dos riscos advindos da técnica deve preceder e até mesmo impedir a sua a apropriação econômica ou política ou social. Fundada na colaboração, em contraposição à competitividade, à luta sangrenta pela sobrevivência, esta ética não pode ser aquela do personalismo, do utilitarismo ou da meritocracia, precisa superar a liberdade sem compromisso, o conhecimento efêmero, aventureiro e egoísta em benefício da busca pela sabedoria, para que os benefícios do nosso tempo não sejam os sacrifícios do amanhã (JONAS, 2006; POTTER, 2016).

Apresentados tais requisitos, podemos avançar em nosso intento a partir dos desafios que a ética que procuramos deve ser capaz de suportar, e que chamaremos aqui de dimensões do agir. Embora não se trata de um estudo de anatomia do método de análise, vez que de certa forma, se aproxima mais de uma ressecção do agir a partir de CRISPR, ajuda em nosso propósito de montar um painel para análise de nosso problema:

1) dimensões materiais:

- a) espaço;
- b) diversidade;
- c) economia;

2) dimensões imateriais:

- d) dualidade;

2. Esta é uma questão singular que perpassa o pensamento de Jonas da seguinte maneira: “[...] 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).

e) sociedade;

f) política;

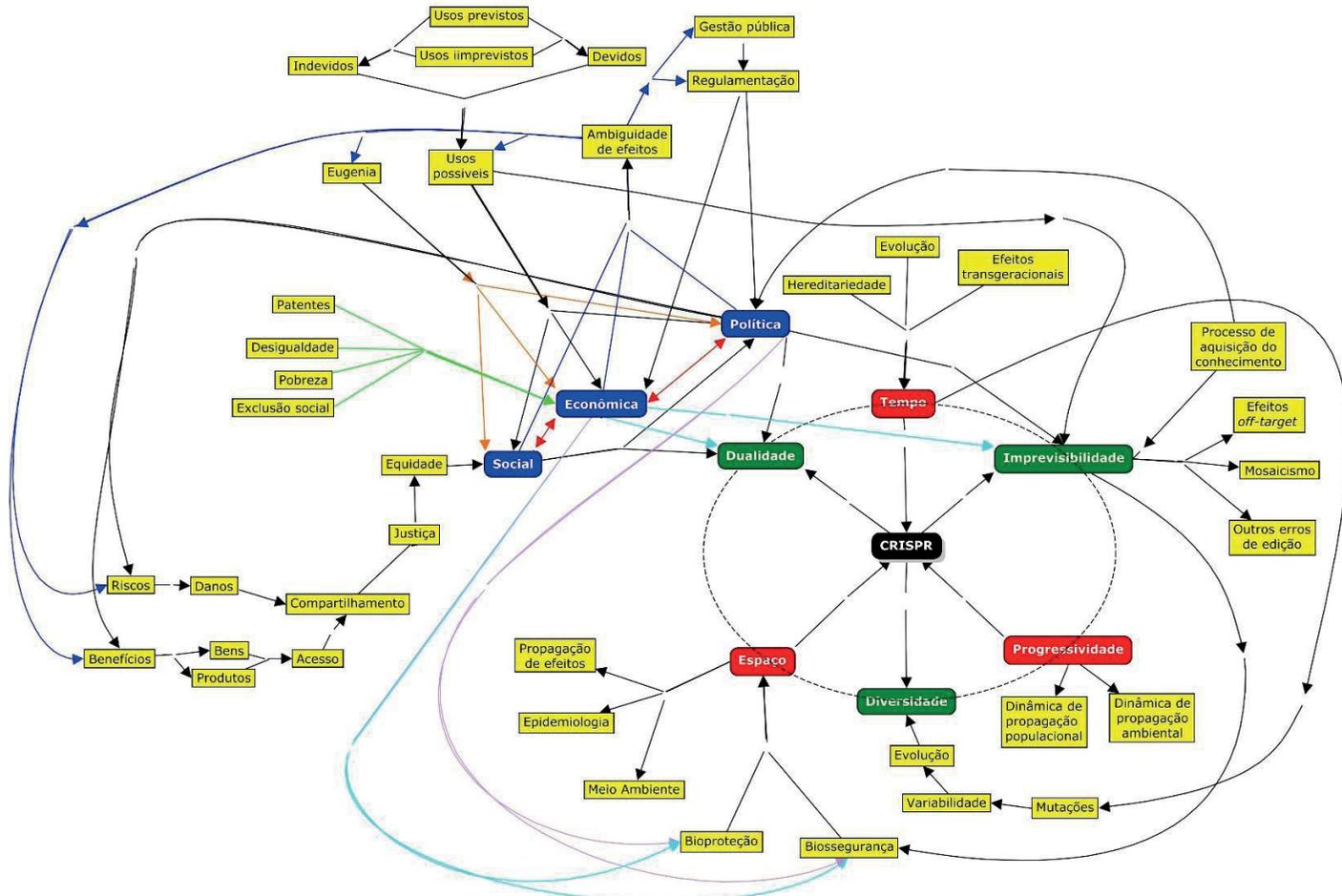
3) dimensões intangíveis:

g) tempo;

h) progressividade;

i) imprevisibilidade.

Tais dimensões devem ser definidas e conectadas em razão na natureza do agir sob análise, a partir dos fatores que determinam o grau de importância entre cada uma delas e das relações bilaterais que se estabelecem entre si. No nosso caso de estudo, CRISPR, identificamos diversos fatores que devem ser considerados no agir, tais como: hereditariedade, epigenética, meio ambiente, economia, equidade, etc, e os organizamos em um mapa (vide Figura 16) que facilita a visualização do problema e o entendimento acerca do alcance do agir. Este mapa revela também uma questão de partida que é capital: no fundo, não se trata de apenas de discutir qual ética é melhor para analisar biotecnologias como CRISPR, mas de saber, antes disso, qual delas consegue alcançar toda a complexidade e amplitude da natureza das coisas, dos problemas, dilemas e conflitos que decorrem deste agir e, para além disso, se é suficiente para o orientar, ainda que na ausência de todo o conhecimento necessário e que de fato não dispomos (mesmo porque um problema não deixa de existir simplesmente porque não o vemos).



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.

Figura 16 - Dimensões para análise bioética dos riscos e benefícios de CRISPR.

Cumpra-nos fazer um destaque especial para a dimensão “tempo”, vez que é justamente ele que conecta o agir aos fatores determinantes do passado e às suas consequências no futuro. Através dele se revelam as susceptibilidades às mudanças e influências históricas decorrentes do processo civilizatório particular de cada cultura, de cada povo, de cada território. E isto, ao mesmo tempo, traz outra questão igualmente importante, o alcance espaço-temporal da ética (ao menos no sentido antropológico do termo), vez que diferentemente das éticas tradicionais, que tem raízes e abrangência comunitárias, e por isso mesmo não alcançam toda a sociedade e não são reconhecidos por ela como valores universais, 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 parêntesis acerca dos termos humanidade e universalidade expressos acima. Como já dissemos persistentemente, idealmente, esta ética que necessitamos deve superar a limitação antropocêntrica histórica do pensamento ocidental, não por mera vontade, mas porque o nosso agir atinge todo o planeta e afeta todas as vidas nele existentes e por isso mesmo, exige que respondamos por este agir na mesma proporção e, ao que parece, a nossa sobrevivência dependerá disso mais do que temos sido capazes de admitir. 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 e sistema 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 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, 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, são valiosos 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, 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 duas coisas: 1º que o mapeamento e seleção das dimensões e fatores envolvidos na análise do problema, bem como o peso relativo que se atribuiu a cada um destes elementos e o tipo de relação que se estabelece entre si são fundamentalmente escolhas mediadas por valores e, 2º é imperativo que a ética que buscamos leve em conta todos os elementos que o conhecimento acumulado disponível (em geral o conhecimento perigoso) e reconhecamos, poucas são as éticas que conseguem enquadrar, numa moldura tão complexa, biotecnologias como CRISPR.

6.2 O 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 a discussão que iniciamos e deverá assumir contornos melhor definidos daqui por diante. Temos feito frequentemente referência ao pensamento Potteriano e Jonasiano, por várias razões. Cabe aqui justificar tal fato: ambos nos oferecem uma análise crítica consistente do progresso humano e da tecnologia - da qual os avanços da genética representam um de seus expoentes mais promissores -, a partir de uma proposta que vem ao encontro dos elementos que buscamos para a ética que necessitamos e que se compatibiliza com a

caminhada que percorremos até aqui.

Tanto Potter quanto Jonas, ao discutir ética, ou bioética, tratam da questão do conhecimento, vetor estruturante e indutor do progresso do qual derivam biotecnologias como CRISPR-Cas9. Evidentemente que cada um vai tratar da questão a partir da sua visão sobre a dinâmica histórica do desenvolvimento científico e do progresso que dele decorre, para então discutir os problemas e suas implicações éticas para a nossa contemporaneidade tecnológica e para os desafios que devemos enfrentar se quisermos que nossos descendentes, os herdeiros do nosso agir, tenham algum futuro. Não obstante, podemos dizer que ambos partem de um mesmo lugar comum, a fragilidade da vida diante do agir do nosso tempo, e miram um mesmo propósito, a sobrevivência. E embora cada um siga caminhos epistemológicos distintos e perspectivas bastante particulares, ambos oferecem um interessante aprofundado estudo crítico que vem ao encontro e sustenta consistentemente esta nossa empreitada.

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 das imensas ameaças que o progresso humano vem impondo ao planeta e a partir dessa tomada de consciência, estabelecem como ponto singular de reversão para o caminho trágico que se vislumbra para o futuro a responsabilidade do agir humano 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”, 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 sabemos 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 a Spenser, alude que o progresso seria um impulso natural em direção à perfeição, como um mecanismo que pode ser conduzido, direcionado pela educação (lembramos 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. Dessa forma, há uma equivalência de progresso e evolução, haja vista 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 prever e planejar, 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 Kesseling (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”³. (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:

- 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).

Embora Potter assinala que o conceito científico-materialista de progresso é uma etapa intermediária necessária entre o conceito religioso e o científico-filosófico, assevera 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).

3. “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).

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, vai se 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 conhecimento⁴. A ressalva que merece ser feita é que em Jonas, ciência e técnica são instâncias distintas e é nesta última que 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 humanidade⁵.

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, as vezes, 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”, talvez 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

4. “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 encontre fora de sua estreita competência”. (JONAS, 2006, p. 270).

5. “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).

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 crítica. 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 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 as 1ª e 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. 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 Desarmamento⁶, no dia 6 de agosto de 1986, “aniversário” da bomba de Hiroshima, resgatado por Kesselring (2000, p. 169–170):

Desde que a vida surgiu visivelmente na Terra, passaram-se 380 milhões

6. “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).

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 incontrolável 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 naquela época, 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 técnica⁷ nesse processo, como as relações eram mediadas e que elementos participavam dessa equação. Naqueles primórdios, a relação do homem com o mundo não humano, com a natureza, era de uma dimensão, de um poder insignificante, e por isso mesmo neutra, não suscetível a atribuição de valor ou julgamento moral. O campo da ética se formava então como o espaço estrito da mediação das relações entre seres humanos, no restrito horizonte temporal do momento presente, no limitado espaço geograficamente circunscrito ao caso em estudo. 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).

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 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:

7. 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).

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 conhecimento⁸, 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: que à medida que se torna cada vez mais aprofundado acerca de seu objeto, se afasta cada vez mais do conhecimento mais amplo da vida, do mundo, da sociedade e da própria ciência;

2º o excesso de conhecimento: desconectado, pulverizado e descontrolado;

3º o conhecimento sem a necessária autocrítica: que não reflete sobre as consequências de si mesmo em relação para o futuro;

4º o conhecimento que se supõe neutro: que não reflete acerca usos que se possa fazer a partir dele e não considera as suas consequências;

5º o conhecimento sem reservas: 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

8. “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).

a sabedoria para o administrar”. (POTTER, 2016, p. 95). Jonas vai dizer que a experiência 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 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, herdeira da 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, mas não qualquer prudência, e sim uma prudência ativista, revolucionária: “O medo que faz parte da responsabilidade não é aquele que nos aconselha a não agir, mas aquele que nos convida a agir”. Este medo tem na esperança sua contraparte, a esperança de se evitar o mal. Mas ela não se confunde com a covardia, ainda que possa ter na angústia a sua revelação. Não é fruto da impotência, mas de um tipo que mobiliza e convida à ação. (JONAS, 2006, p. 351).

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.

6.3 UMA PESQUISA DE CAMPO SOBRE O POSICIONAMENTO SOCIAL EM RELAÇÃO À EDIÇÃO GÊNICA NA PRÁTICA

Face a óbvia aplicabilidade clínica da edição genética, a acessibilidade está condicionada à capacidade de interpretação e compreensão do significado da informação sobre risco genômico, seja no contexto específico da atenção à saúde ou para o senso geral de bem-estar pessoal (HAGA, 2013). Consequentemente, demanda-se por uma alfabetização genética e em saúde (LEA et al., 2011, LILLIE et al., 2007; BREWER et al., 2009). A alfabetização genética refere-se ao conhecimento e à apreciação dos princípios genéticos básicos e, no contexto moderno, genômicos que subsidiam a tomada de decisão pessoal e sustentam a participação efetiva em debates públicos sobre questões genéticas ou genômicas (MCINERNEY, 2002; BOWLING et al., 2008). Estudos têm relatado, mesmo diante da familiaridade com a terminologia genética, baixos níveis de compreensão pública de conceitos genéticos (e.g. localização de genes) e aplicações (e.g. triagem neonatal) (LEA et al., 2011).

A maioria das doenças comuns, tais como o câncer, diabetes, arteriosclerose e hipertensão arterial são multifatoriais, logo originam-se de uma complexa interação entre o ambiente e os genes de pequeno efeito (PENA; AZEVEDO, 1998). Nestas enfermidades poligênicas, detecta-se somente a predisposição aumentada, ou seja, a mutação determina um risco, mas necessariamente não implica na ocorrência futura da moléstia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA CLÍNICA, 2007). Suas provas genéticas têm baixa previsibilidade embora as chances de manipulação do meio para evitar o adoecimento sejam melhores (PENA; AZEVEDO, 1998).

Por outro lado, há casos em que as mutações em um único gene podem ser capazes de desencadear uma doença genética. O gene de grande efeito causa uma doença monogênica e sua herança é classificada em autossômica dominante, recessiva ou ligada ao sexo (PENA; AZEVEDO, 1998). Dentre elas destaca-se doenças neurodegenerativas

do adulto que apresentam recorrência familiar, tais como: a doença de Huntington (DH); as ataxias espinocerebelares; doenças mitocondriais; doenças neuromusculares de início adulto; e formas de demência, distonias, doença de Parkinson e neuropatias periféricas. A DH tem sido usada como o protótipo das doenças desse grupo, com condição autossômica dominante e alta penetrância dependente da idade, ou seja, os indivíduos portadores da mutação têm alta probabilidade de desenvolverem a doença, sendo, no entanto, impossível determinar com precisão a idade em que isso ocorrerá (PENA; AZEVEDO, 1998).

A edição gênica desponta como oportunidade de tratamento para doenças monogênicas. Essa engenharia permite a inserção, eliminação ou substituição de determinados nucleotídeos do ácido desoxirribonucleico (DNA) no genoma de um organismo utilizando enzimas do tipo nucleases, chamadas “tesouras moleculares”. As nucleases produzem quebras de cadeia dupla em locais específicos do genoma as quais podem ser reparadas por mecanismos de união de extremos não homólogos ou mediante reparação dirigida por homólogos, dando lugar a mutações controladas (BERGEL, 2017). O desenvolvimento de técnicas de edição abre caminho para a modificação do genoma de todos os seres vivos, atuando na terapia gênica, pesquisa biomédica de base, agropecuária, ciências ambientais e estética (FURTADO, 2017).

Neste contexto, foi realizada uma pesquisa de campo com o objetivo de identificar o posicionamento social diante da edição genética em adultos e embriões portadores da doença de Huntington, os conflitos éticos advindos e sua inclusão nas pautas da agenda da bioética.

O posicionamento social⁹ foi obtido por uma amostra de 165 respondentes, constituído pela mesma proporção de homens e mulheres, na faixa de 18 a 45 anos (70%) ($\chi^2_{(5)}=73$; $P<0,001$), portadores de ensino superior (58%) ($\chi^2_{(3)}=31$; $P<0,001$), da área não biológica (62%) ($\chi^2_{(3)}=5,8$; $P<0,001$) e da religião católica (41,5%) ($\chi^2_{(4)}=45,8$; $P<0,001$).

Os participantes responderam a questão: “Imagine que você é portador (a) da doença de Huntington, conhecida por causar diminuição da função cognitiva, convulsões e falta de coordenação motora, problemas de fala e distúrbios comportamentais. Você deseja ter um filho, porém sabe que terá 50% de chance de passar esta condição a ele. Supondo que recentemente surgiu uma terapia gênica que pode ser realizada em embriões, com um teste diagnóstico que permite saber se embriões tem essa característica ou não. Esta terapia é mais segura que os procedimentos anteriores (por isso é permitida em embriões), no entanto mesmo sendo precisa, há uma pequena chance (0,001%) de que as enzimas utilizadas para cortar o DNA do embrião, induzindo a troca do “gene afetado” por um “gene normal”, corte o DNA em uma região errada. Esta região errada pode não ter muita relevância, entretanto pode ser uma região importante do DNA e este corte errado poderá

9. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná com o parecer de número 1.682.978, distribuído eletronicamente pelo aplicativo Qualtrics XM durante 1º semestre de 2017 como integrante de um instrumento da pesquisa traduzido e adaptado da versão on line do questionário disponível na página “What is biotechnology?” de Marks e Comporesi (2016). .

induzir a formação de câncer ou causar algum outro problema ao feto. Considere também que uma vez feita, a terapia é capaz de curar seu filho, impedindo que ele e todos os seus descendentes (netos e bisnetos) venham a desenvolver a mesma doença. Esta terapia pode também ser feita em seu corpo, onde a modificação de algumas de suas células proporcionarão uma melhora na sua condição de vida”. Você aceitaria submeter-se e/ou submeter seu filho (ainda embrião) a esta terapia gênica?

Das respostas obtidas a maioria foi favorável (78%) ($\chi^2_{(3)}=45,8$; $P<0,001$), comparando com os que foram desfavoráveis (8,5%), parcialmente favoráveis (3,6%) e dos que fugiram da temática (9,1%), contudo não houve relação do posicionamento com as variáveis testadas. As argumentações favoráveis foram classificadas em seis categorias e as desfavoráveis em três (Quadro 1), neste caso, a frequência das respostas foram condicionadas pelo sexo, idade, nível de ensino, área de formação e religião (Figura 17 e 18).

Categorização das argumentações

	 Critério	 Categoria	 Exemplo
Favorável	Confiabilidade da técnica e seus executores	 Confiança na Ciência	<i>"O desenvolvimento científico ocorre para garantir melhora de nossas condições. Confio na ciência, eu leria os "artigos e publicações referentes aos testes feitos e se fossem compatíveis eu submeteria ao uso da técnica"</i>
	Amor parental	 Salvar filho	<i>"Uma mãe faz tudo para salvar seu filho"</i>
	Benefícios maiores que os prejuízos	 Benefício/Risco	<i>"Se a probabilidade é de 50%, arriscaria 0,001% de chance de dar errado a favor desses 50%"</i>
	Melhoria na qualidade de vida	 Qualidade de vida	<i>"Acredito que todo esforço é válido para se alcançar uma melhor qualidade de vida"</i>
	Preocupação com as gerações futuras	 Gerações futuras	<i>"Saúde e bem-estar nas gerações futuras"</i>
	Promoção da saúde	 Cura	<i>"Tudo que favorece e promove a saúde, bem como prevenção e até cura, sou a favor"</i>
Desfavorável	Prejuízos maiores que os benefícios	 Riscos	<i>"Pelo risco ser grande"</i>
	Outra opção para ter filhos	 Adoção	<i>"Acredito que em um caso extremo como esse, há outras formas mais ética de ter um filho, como adoção"</i>
	Questão religiosa Não teriam filhos	 Motivos diversos	<i>"Por questão religiosa, o embrião não" "Se tivesse essa doença muito provável que não teria filhos". "Sou contra edição em células germinativas"</i>
Outra	Contrários à edição germinativa		
	Terapia gênica apenas nos adultos	 Parcial	<i>"Parcialmente: me submeteria à técnica, mas não submeteria um filho, pelos riscos de lhe causar mal. Eu o apoiaria se já tivesse autonomia suficiente para decidir por si, mas, enquanto em situação de vulnerabilidade, eu o protegeria de possíveis danos."</i>
	Justificativas inadequadas	 Descartadas	<i>"Tenho anemia falciforme"</i>

Quadro 1. Critérios e exemplos das justificativas favoráveis e desfavoráveis ao procedimento da técnica da edição gênica.

Concordância com a edição gênica em adultos e embriões portadores da doença de Huntington



	Sexo	Idade	Ensino	Área	Religião
	Masculino = 57 Feminino = 73	18/25 = 53 25/44 = 39 45/64 = 32 65/85 = 2	Básico = 23 Superior = 75 Pós-grad. = 31	Biológica: 41 O.: 66	Católica = 54 Evangélica = 11 Outra = 25 Sem = 27/Atou = 13
Confiança na Ciência	M.: 14%(a) F.:13,7%(b)	18/25: 11,5%(a) 25/44: 15,4%(a) 45/64: 6,3%(a) 65/85: 50%(b)	B.: 21,7%(a) S.: 10,7%(a) PG: 10,1%(a)	B.: 12,2%(a) O.: 12,1%(a)	C.: 7,4%(a) E.: 18,2%(a) O.: 20%(a) S.: 18,5%(a) A.: 15,4%(a)
Salvar filho	M.: 5,3%(a) F.: 15,1%(b)	18/25: 11,5%(a) 25/44: 15,4%(a) 45/64: 3,1%(a) 65/85: 50%(b)	B.: 8,7%(a) S.: 14,7%(a) PG: 3,2%(a)	B.: 9,8%(a) O.: 12,1%(a)	C.: 14,8%(a) E.: 9,1%(a) O.: 4%(a) S.: 11,1%(a) A.: 7,7%(a)
Benefícios/riscos	M.: 50,9%(a) F.: 38,4%(a)	18/25: 50%(a) 25/44: 48,7%(a) 45/64: 34,4%(a) 65/85: -	B.: 34,8%(a) S.: 40%(a) PG: 58,1%(b)	B.: 48,8%(a) O.: 42,4%(a)	C.: 44,4%(a) E.: 18,2%(a) O.: 32%(a) S.: 48,1%(a) A.: 76,9%(a)
Qualidade de Vida	M.: 14%(a) F.:21,9%(b)	18/25: 19,2%(a) 25/44: 5,1%(a) 45/64: 37,5%(b) 65/85: -	B.: 21,7%(a) S.: 21,3%(a) PG: 9,7%(a)	B.: 14,6%(a) O.: 19,7%(a)	C.: 22,2%(a) E.: 27,3%(a) O.: 20%(a) S.: 14,8%(a) A.: -
Futuras gerações	M.:7%(a) F.:2,7%(a)	18/25: 3,8%(a) 25/44: 5,1%(a) 45/64: 3,1%(a) 65/85: -	B.: 8,7%(a) S.: 2,7%(a) PG: 3,2%(a)	B.: 7,3%(a) O.: 1,5%(a)	C.: - E.: 18,2%(a) O.: 12%(a) S.: 3,7%(a) A.: -
Cura da doença	M.:8,8%(a) F.: 8,2%(a)	18/25: 13,8%(a) 25/44: 10,3%(b) 45/64: 15,6%(b) 65/85: -	B.: 4,3%(a) S.: 10,7%(b) PG: 9,7%(a)	B.: 7,3%(a) O.: 12,1%(a)	C.: 11,1 (a) E.: 9,1(a) O.: 12 (a) S.: 3,7 (a) A.: -

Discordância com a edição gênica em adultos e embriões portadores da doença de Huntington



	Sexo	Idade	Ensino	Área	Religião
	Masculino = 12 Feminino = 20	18/25 = 10 25/44 = 11 45/64 = 12 65/85 = 1	Básico = 9 Superior = 19 Pós-grad. = 6	Biológica: 11 O.: 17	Catlica = 12 Evangélica = 7 Outra = 6 Sem = 5/Atou = 3
Riscos/Benefícios	M.: 5%(a) F.:50%(b)	18/25: 20%(a) 25/44: 54,5%(b) 45/64: 50%(b) 65/85: -	B.: 10,5%(a) S.: 52,6%(b) PG: 33,3%(a)	B.: 18,2%(a) O.:53%(b)	C.: 41,7%(a) E.: 42,9%(a) O.: 16,7%(a) S.: 60%(a) A.: 33,3%(a)
Adoção	M.: 16,7%(a) F.: 30%(b)	18/25: 10,5%(a) 25/44: 52,6%(b) 45/64: 50%(b) 65/85: -	B.: 26,3%(a) S.: 15,8%(a) PG: -	B.: 54,4%(a) O.: 11,8%(a)	C.: 25%(a) E.: - O.: 16,7%(a) S.: 40%(a) A.: 66,7%(a)
Outros	M. 58,3%(a) F.: 20%(a)	18/25: 30%(a) 25/44: 36,4%(a) 45/64: 33,3%(a) 65/85: -	B.: 10,5%(a) S.: 15,8%(a) PG: 66,7%(b)	B.: 27,3%(a) O.: 35,3%(a)	C.: 33,3%(a) E.: 57,1%(a) O.: 66,7%(a) S.: - A.: -

Os valores absolutos foram comparados em cada variável e entre as variáveis por meio do teste do qui-quadrado, sendo as diferenças significativas sinalizadas com sublinhado e letras diferentes indicam diferenças significativamente diferentes (P < 0,05)

Figura 17. Frequência relativa das referências às categorias do posicionamento favorável ao procedimento da técnica da edição gênica considerando as variáveis idade, sexo, ensino, área e religião.

Figura 18. Frequência relativa das referências às categorias do posicionamento desfavorável ao procedimento da técnica da edição gênica considerando as variáveis idade, sexo, ensino, área e religião.

CONDICIONANTES DO POSCIONAMENTO SOCIAL

Os dados do presente estudo elucidaram poucas diferenças entre as variáveis testadas. Provavelmente pode estar relacionado ao fato de a pesquisa abordar uma técnica nova, com poucas informações, inclusive no meio acadêmico, o que gera um posicionamento mais pessoal sem argumentações fundamentadas no conhecimento técnico e nas implicações éticas e de segurança.

Em tempos de novos conhecimentos, de rápidas e profundas inovações no âmbito do genoma humano, surge o “CRISPR-CAS 9” prometendo revolucionar a área da genômica. Multiplicam-se os eventos e publicações científicas a respeito das implicações culturais, sociais éticas a respeito desta novidade biotecnológica. Logo, se faz necessário discernimento e sabedoria ética para não “satanizar” precocemente uma descoberta que traz um potencial benefício para a humanidade concomitantemente com possibilidade de manipulações que podem comprometer a vida no futuro. Segundo Pessini (2017) é necessária uma ciência responsável que se alie a sabedoria humana.

A apropriação da temática na agenda da Bioética permite a intervenção em vertentes normativas e educativas demandando um conhecimento do posicionamento da sociedade no balizamento das intervenções (FISCHER et al., 2020). No presente estudo as mulheres igualaram-se aos homens na aceitação da edição, porém diferenciaram-se por usarem aspectos mais emotivos em suas argumentações favoráveis e contrárias ao teste preditivo, correspondendo a outras pesquisas como na pesquisa de Braz (2008) sobre a relação de mulheres e câncer e de Vermeulen et al. (2014) sobre atitudes dos holandeses em relação à prevenção genômica na saúde, considerando os testes genéticos, histórico familiar e interesse pessoal.

O nível de ensino também não condicionou significativamente o posicionamento a respeito da aceitação e argumentação da edição gênica em adultos e embriões portadores da doença de Huntington. Diante da expectativa que o acesso à informações científicas é próprio do ensino superior o resultado pode ser indicativo da deficiência de informação desta temática tanto no meio acadêmico quanto no público leigo. Contrariando a expectativa inicial da presente pesquisa, a religião não foi um condicionante para o posicionamento em relação à edição gênica.

CONFLITOS ÉTICOS ADVINDOS DA EDIÇÃO GENÉTICA EM ADULTOS E EMBRIÕES PORTADORES DA DOENÇA DE HUNTINGTON

As argumentações para o posicionamento favorável ou desfavorável pronunciou a ponderação dos riscos e benefícios. O benefício mais relevante trazido pelas pesquisas científicas e inovações tecnológicas é poder evitar ou tratar doenças genéticas. Pesquisadores como Cacique (2017) demonstram que os limites éticos percebidos no uso da tecnologia referem-se à dissonância entre as intervenções terapêuticas (eugenia negativa)

e as das melhoramento (eugenia positiva).

Em 1996, três anos depois que o teste genético da DH se tornou possível, a Sociedade Americana da DH (HDSA) em cooperação com a Fundação para os Cuidados e a Cura da DH (FCCHD) procuraram determinar o impacto do teste e das experiências com indivíduos propensos a DH nos Estados Unidos através de uma pesquisa de um questionário. Cerca de 60% dos participantes cujo teste foi positivo indicaram que a informação *“ajudou a acabar com a incerteza de ter ou não a doença”* e *“me ajudou a perceber o quanto a vida é importante”*. Cerca de 40% notaram que os resultados auxiliaram a resolver os planos futuros, apesar de somente 29% das mulheres e 5% dos homens ter acreditado que a informação os colaborou com a decisão de ter filhos ou não. A informação ajudou as pessoas a se planejarem melhor quanto a suas carreiras, estudos, finanças e aposentadorias (GAIA, 2002). No presente estudo obteve-se 8,5% de aceitação da edição gênica destacando-se a fala: *“Eu aceitaria submeter-me/ou submeter meu filho, pois creio que qualquer terapia gênica que tenha por objetivo curar uma doença, mesmo tendo uma pequena chance de dar errado, vale a pena ser feito”*.

A segunda maior argumentação favorável ao teste obtida neste estudo está relacionada à melhoria na qualidade de vida, sendo mais pronunciada em mulheres (67%) e portadores do ensino superior (79%), tais como ilustrado nas falas: *“Acredito que todo esforço é válido para se alcançar uma melhor qualidade de vida”* ou *“quando a terapia gênica for para melhorar a qualidade de vida de um indivíduo, não deve haver restrições”*. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS) a qualidade de vida reflete a percepção dos indivíduos de que suas necessidades estão sendo satisfeitas ou, ainda, que lhes estão sendo negadas oportunidades de alcançar a felicidade e a autorrealização com independência de seu estado de saúde físico ou das condições sociais e econômicas.

Embora a opção de usar da tecnologia para salvar um filho tenha sido uma das argumentações emitidas principalmente por mulheres (79%)¹⁰ a adoção se constituiu da argumentação contrária à edição gênica nos embriões¹¹.

A percepção de que a aceitação da edição gênica poderia de alguma forma ser favorável para gerações futuras contrapôs com o temor por consequências imprevisíveis e indesejáveis. Bioeticistas mais otimistas vêm um grande potencial promissor na erradicação de doenças genéticas devastadoras e incuráveis antes de um bebê nascer. Enquanto, os mais cautelosos, defendem a ideia de que esta técnica ultrapassa uma linha ética de grande perigo, pois mudanças da linha germinal são hereditárias, e poderiam ter um efeito imprevisível sobre as gerações futuras, além da ameaça na prática da eugenia e de criação de “super-raças”. Os processos científicos que interferem no genoma humano devem ser

10. exemplificadas nas falas: *“Uma mãe faz tudo para salvar seu filho”* e *“O amor de uma mãe por seu filho é maior que qualquer condição ética ou religiosa”*

11. Exemplificadas nas falas: *“Se eu fosse portadora de qualquer síndrome grave, optaria pela adoção”* ou *“não seria um processo natural, as chances não são grandes de dar errado, mas a possibilidade existe, se a vontade de ter um filho é tão grande adote um”*.

realizados com um mínimo de segurança, transparência e controle social. Além disso, os cientistas devem sempre se questionar: “Isto é realmente necessário de ser realizado ou implementado? (SIMIÃO-SILVA; PESSINI, 2017).

Nesta perspectiva, é importante salientar a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos (UNESCO, 2005), a qual balizada no respeito à dignidade humana e aos direitos humanos, estabelece que “*o genoma humano constitui a base da unidade fundamental de todos os membros da família humana bem como de sua inerente dignidade e diversidade*” e que, “*num sentido simbólico, é o patrimônio da humanidade*”. Acrescida da Declaração sobre as Responsabilidades das Gerações Presentes em Relação às Gerações Futuras (UNESCO, 2004) que determina, em seu artigo 1º, que “*as gerações presentes têm a responsabilidade de garantir que as necessidades e os interesses das gerações presentes e futuras sejam plenamente salvaguardados*”.

Os avanços da biotecnologia possibilitam paulatinamente a prevenção e a cura de doenças, seja no âmbito genético, viral ou bacteriano. Contudo, o sistema CRISPR/Cas9 transpõe esses propósitos ao permitir o aprimoramento de características físicas ou capacidades mentais e cognitivas. Conseqüentemente, a edição de células germinativas desencadeia preocupações éticas com relação aos riscos que permeiam a interferência no genoma humano, tanto devido ao seu alto potencial de edição ou grau de precisão, quanto a facilidade de seu uso e suas aplicações. Neste processo, é fundamental que toda decisão, pessoal, coletiva, institucional e legal, seja balizada pela perspectiva bioética que intermedia um debate entre os atores constituintes de um conflito ético, ouvindo, acolhendo, ponderando e confrontando os diferentes argumentos (FISCHER et al., 2020).

A deliberação deve ser balizada por valores comuns à humanidade, representados por documentos oficiais atrelado aos direitos humanos, bem como em princípios éticos como: virtudes, alteridade, responsabilidade e prudência. O filósofo Hans Jonas advertiu que a civilização técnica carrega consigo uma responsabilidade metafísica, pelo menos desde que o homem tornou- e perigoso não apenas para ele mesmo, mas para toda a biosfera (JONAS, 2006) para tratar das questões decorrentes das tecnologias de intervenção genética. A prudência na ciência pode ter como guia de ação o princípio da precaução que se baseia na existência de uma incerteza científica sobre os efeitos da aplicação de uma determinada técnica. Tal como o observado na recente técnica CRISPR/Cas9 cujos benefícios e malefícios não são claramente conhecidos, gerando incertezas no meio científico e a clareza de seu mecanismo de ação, a qual torna-se extremamente necessária para progressão de seu uso futuro (NOHAMA et al., 2021). Para Jonas (2006) a fórmula segura é relativa ao progresso com prudência. Se em outras épocas e realidades a prudência era classificada como uma virtude opcional, ou um mero conselho de prudência moral, na atualidade ela se tornou um mandamento irrecusável. Jonas (2006), alertou ainda, que a sociedade deve ficar estar atenta aos progressos tecnocientíficos, para impedir que em vista de alcançar possíveis benefícios, se promovam riscos e ameaças à dignidade

da vida. Nesse sentido, a prudência não representa um entrave aos ideais de progresso tecnocientífico, mas uma capacidade de avaliar seus riscos e benefícios na tomada de decisão. Sganzerla e Rohregger (2017) enfatizou que enquanto não existir projeções seguras, principalmente no que se refere a irreversibilidade de muitas técnicas atuais, a prudência será a melhor parte da coragem e certamente o imperativo da responsabilidade, que deverá reger as ações da humanidade, de modo a impedir que a incerteza se torne o seu destino.

O sistema CRISPR levanta questões através de um espectro dinâmico da ciência, ética e política sendo necessário um diálogo entre ciência e ética para equilibrar a posição de tais tecnologias em decisões políticas e na elaboração de legislação (NOHAMA et al., 2021). Indubitavelmente a sociedade precisa ser envolvida neste processo, porém para uma efetiva participação pública é necessário que os cidadãos estejam informados dos avanços da ciência mediada por uma educação com maior qualidade em todas as esferas do ensino. Para tal, os profissionais devem ser capacitados e atualizados regularmente e as informações disponíveis sobre biotecnologia para o acesso do público, principalmente pela mídia digital, impressa e televisiva, sejam mais seguros no conteúdo evitando informações sensacionalistas e equivocadas.

É através do conhecimento que os indivíduos conseguem exercer um dos princípios fundamentais da bioética denominado autonomia que diz respeito ao poder de decidir sobre si mesmo e preconiza que a liberdade de cada ser humano deve ser resguardada. No âmbito da saúde cabe aos profissionais oferecer as informações técnicas necessárias para orientar as decisões do paciente e o aprimoramento dos conhecimentos destes profissionais em genética e genômica pode ser uma excelente estratégia para melhoria na profilaxia, diagnóstico e tratamento ligado às doenças genéticas.

6.4 DA TÉCNICA À SABEDORIA E À RESPONSABILIDADE: UM DEVER INCONDICIONAL 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 do planeta no futuro (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 pelo progresso, 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 incontrolável 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 imperativo¹². 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 doutrina¹³ 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

12. Ainda que no campo da individualidade, e apenas neste caso, seja facultativo optar pelo “não existir”. (JONAS, 2006).

13. 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.

Potter a respeito da liberdade da ciência¹⁴, Jonas oferece a contraparte que lhe é devida: “a mais sublime e desmedida liberdade do eu conduz ao mais 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 absoluta e atemporal pelo existir, que compreende e se vincula ao passado e sobretudo ao seu futuro. As conseqüências 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 conseqüência, 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

14. “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).

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, representam 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 também o são, 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 conduza 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.

REVISITANDO CONCEITOS E PARADIGMAS

“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, lembrando o que vimos até aqui, CRISPR parece ser uma das mais importantes revelações da biotecnologia nas últimas décadas. (CONG et al., 2013; JINEK et al., 2012). Sua capacidade real para editar genes, virtualmente, ao menos em tese, de qualquer organismo ou célula, com nível de precisão que supera com vantagens as demais técnicas de edição do genoma, comparativamente a elas, é claramente a de menor custo e amplamente reconhecida como de maior facilidade de aplicação. (GUERRERO, 2018; LACADENA, 2017; MAEDER; GERSBACH, 2016; THE HINXTON GROUP, 2015). Fornecedores como a New England Biolabs <<https://international.neb.com>>, OriGene <<https://www.origene.com/>> e Addgene (2018) atendem a pedidos de qualquer pessoa, de qualquer parte do mundo e entregam em poucos dias pacotes de edição que podem conter partes e até mesmo a ferramenta CRISPR-Cas9 completa, já envelopada no vetor de transporte, a preços muito acessíveis. Com isso, projetos que levavam meses para serem realizados com outras ferramentas, podem ser feitos em dias. (LACADENA, 2017). Não por acaso, CRISPR se revelou a grande oportunidade e estímulo para que pesquisadores do mundo todo pudessem implementar e fazer avançar projetos em praticamente todas as áreas de interesse, tanto na pesquisa básica como aplicada (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”. (KOSICKI; TOMBERG; BRADLEY, 2018; SHERKOW, 2015; VAN ERP et al., 2015; WAIZBORT, 2001).

Outro aspecto altamente relevante advindo com CRISPR foi 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).

Grande parte de tantas etamanhas esperanças e expectativas, muitas das quais até bem pouco tempo se situavam no campo das utopias, 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, de longo alcance e de difícil detecção; 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 têm 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 tratarem 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 degradado ambientalmente por um modelo de ocupação humana insustentável. Adiantando no 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 prospectivo, 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 éticas, algumas até 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 potencialidade 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 dos organismos internacionais e regionais 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 19) 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.

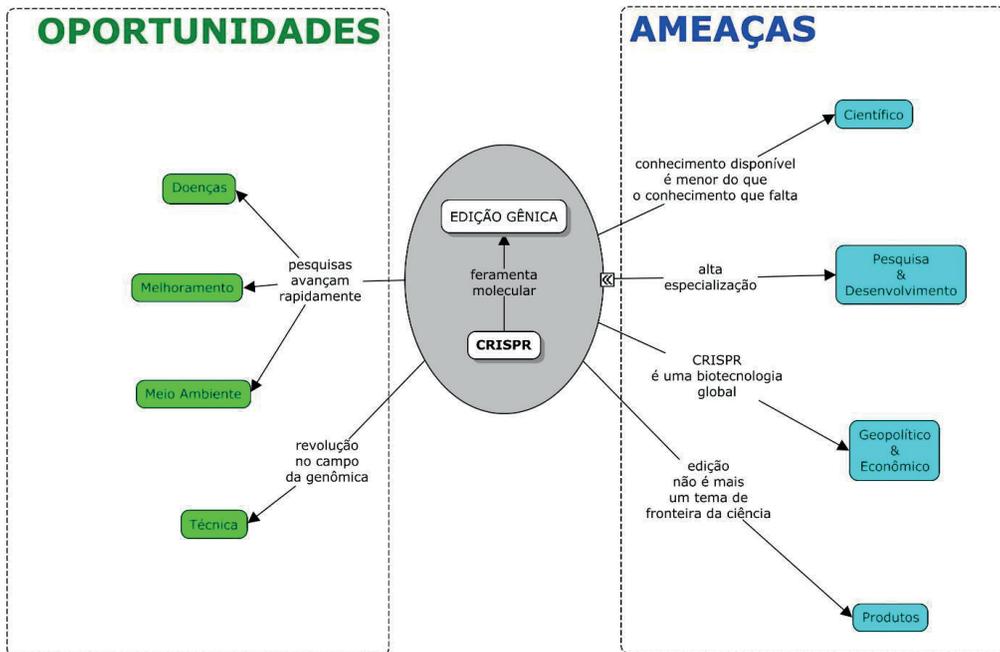


Figura 19 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR – síntese.

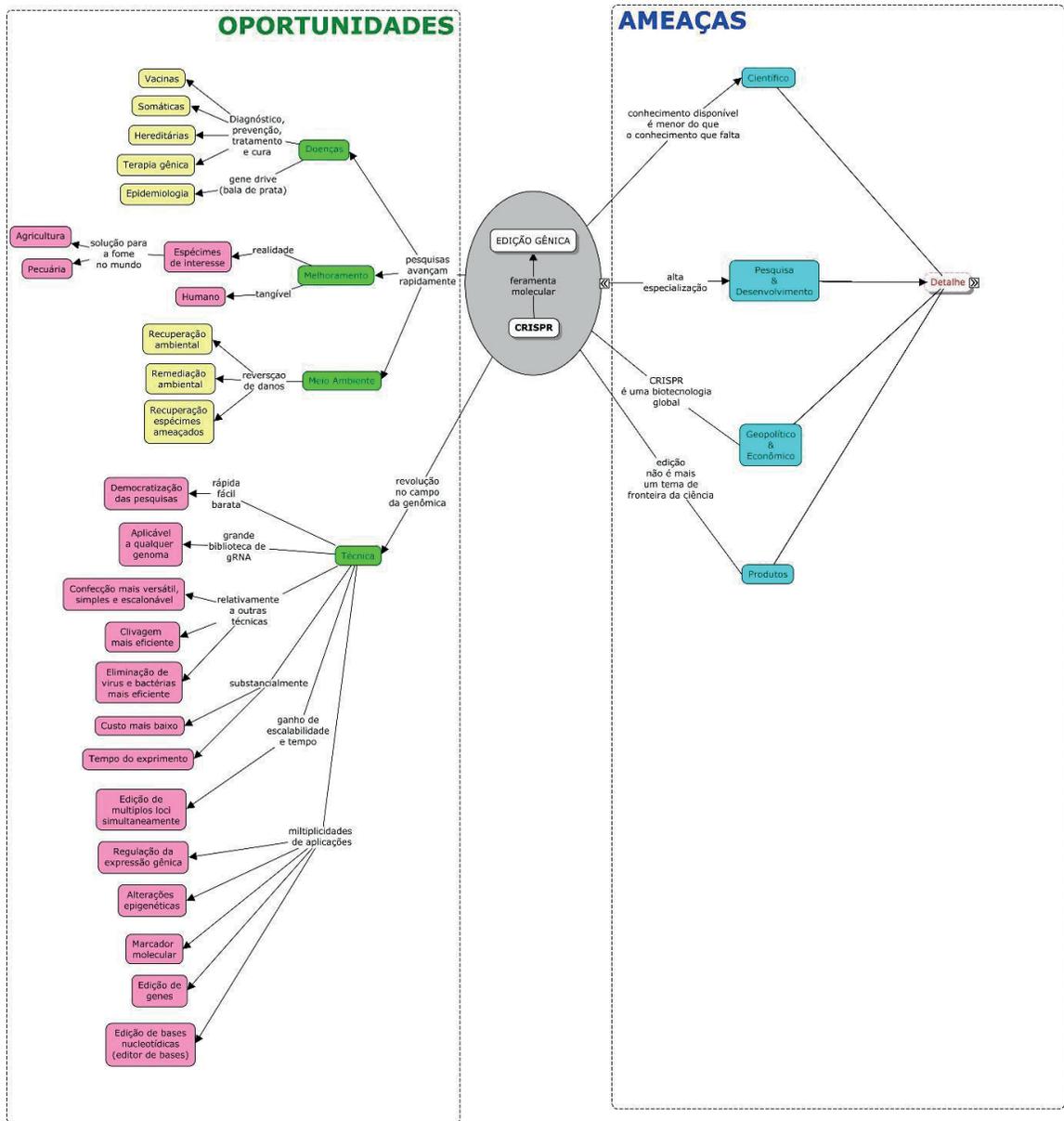


Figura 20 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe oportunidades.

OPORTUNIDADES

AMEAÇAS

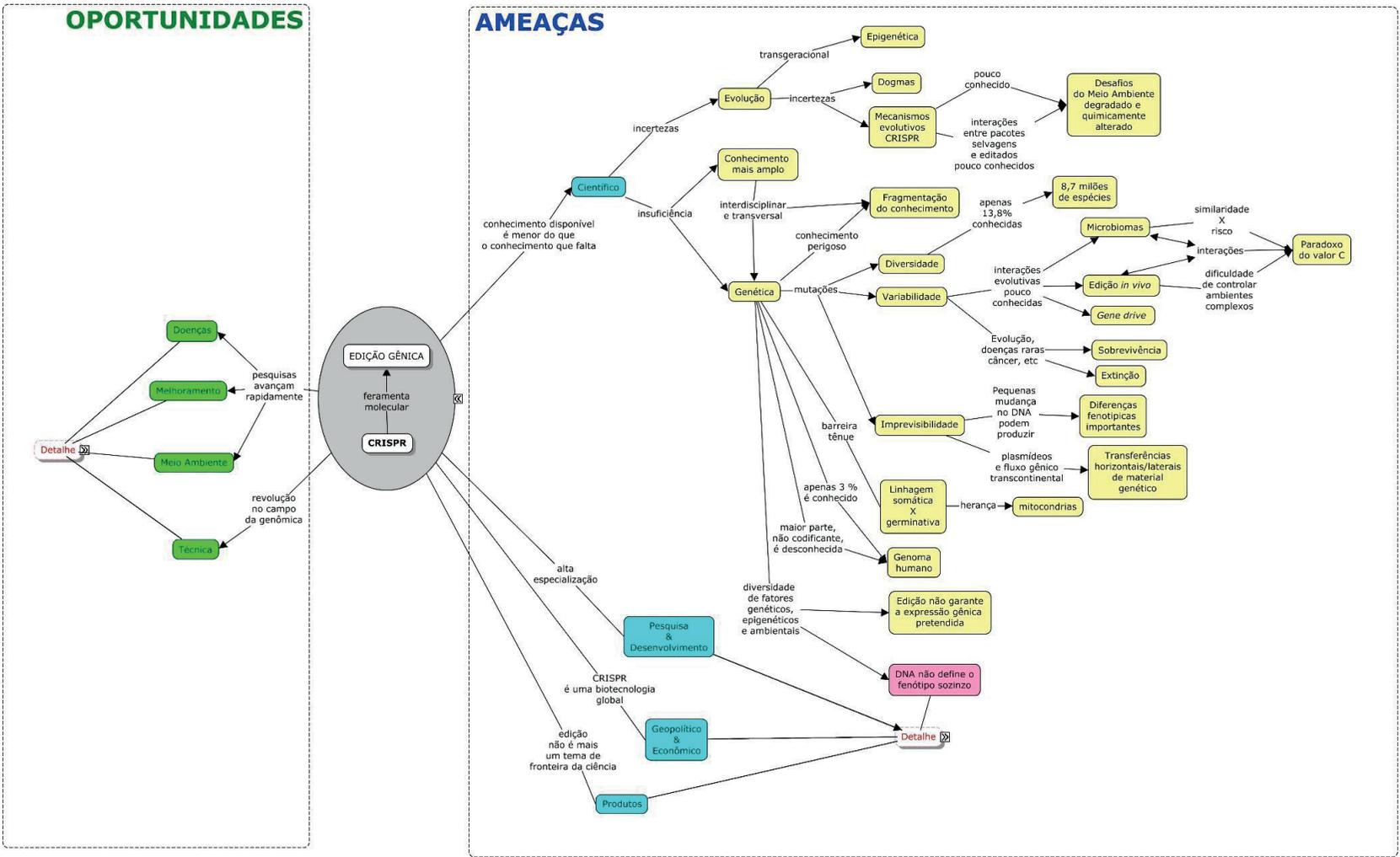


Figura 21 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 1 – ameaças.

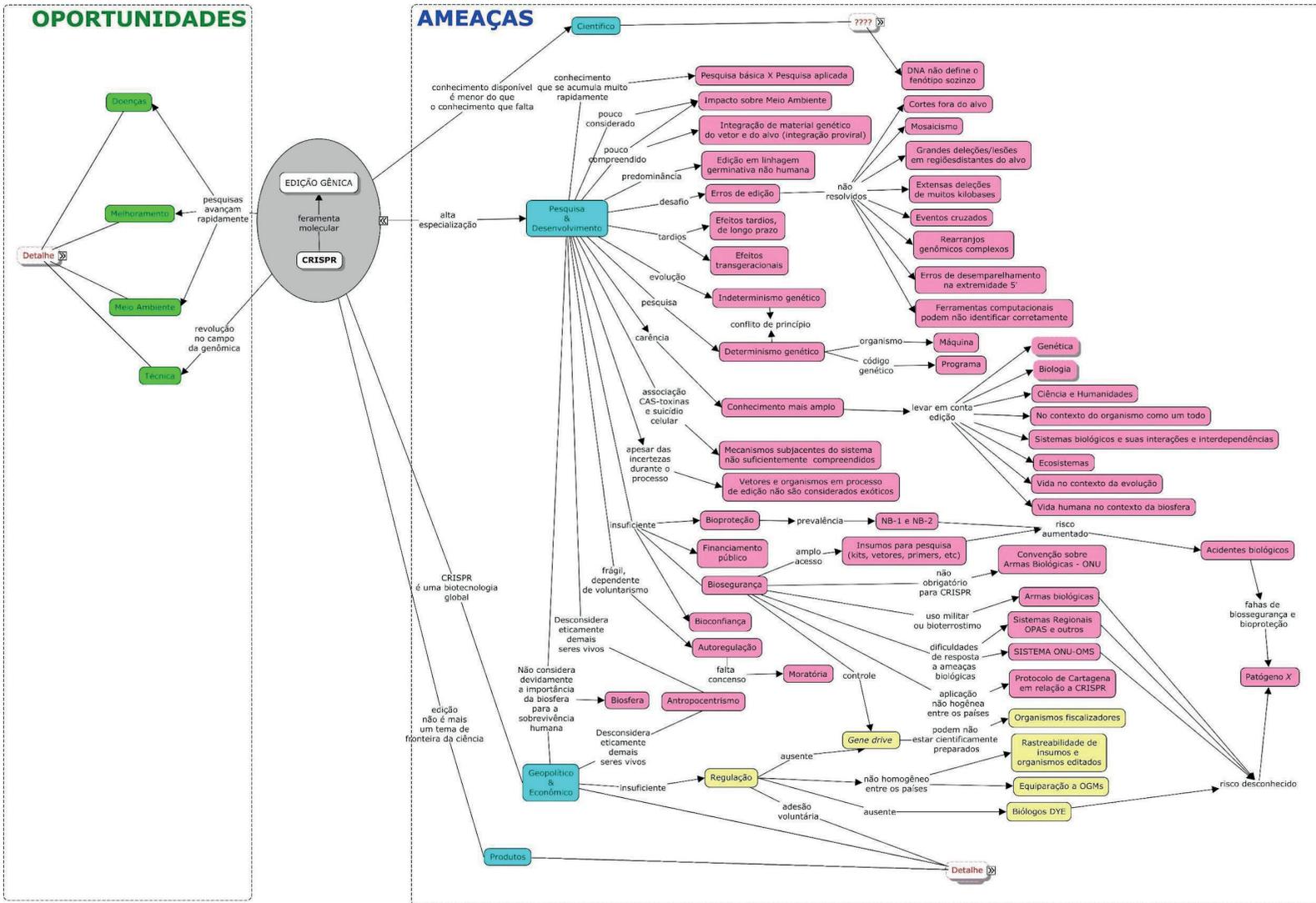


Figura 22 - Mapa das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 2 - ameaças.

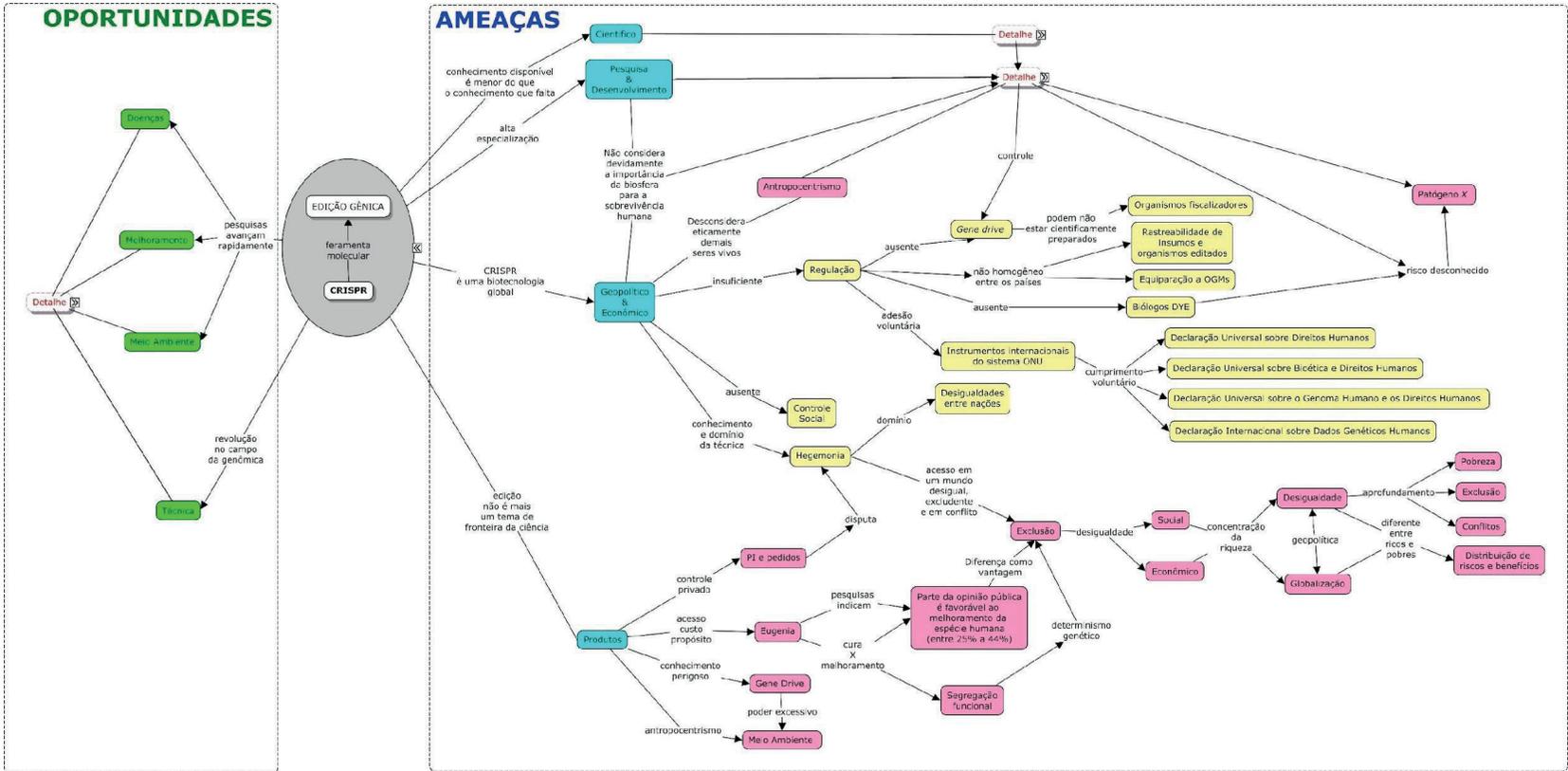
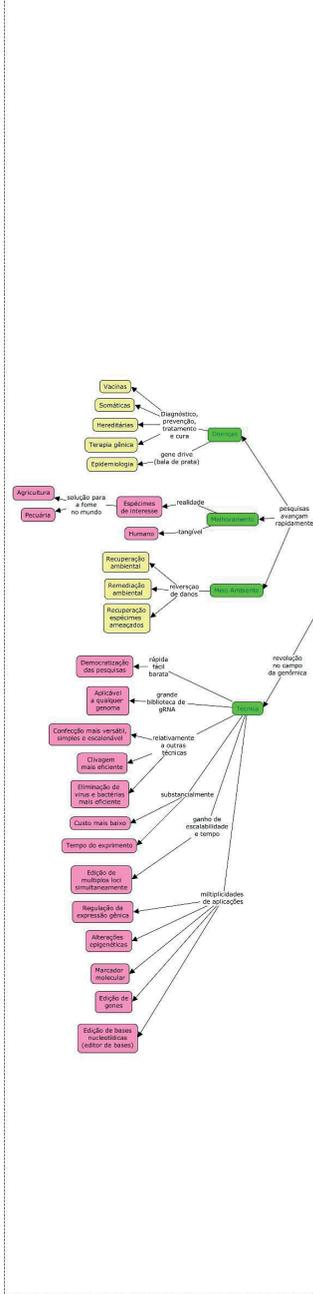


Figura 23 - Mapa das ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 3 - ameaças.

OPORTUNIDADES



AMEAÇAS

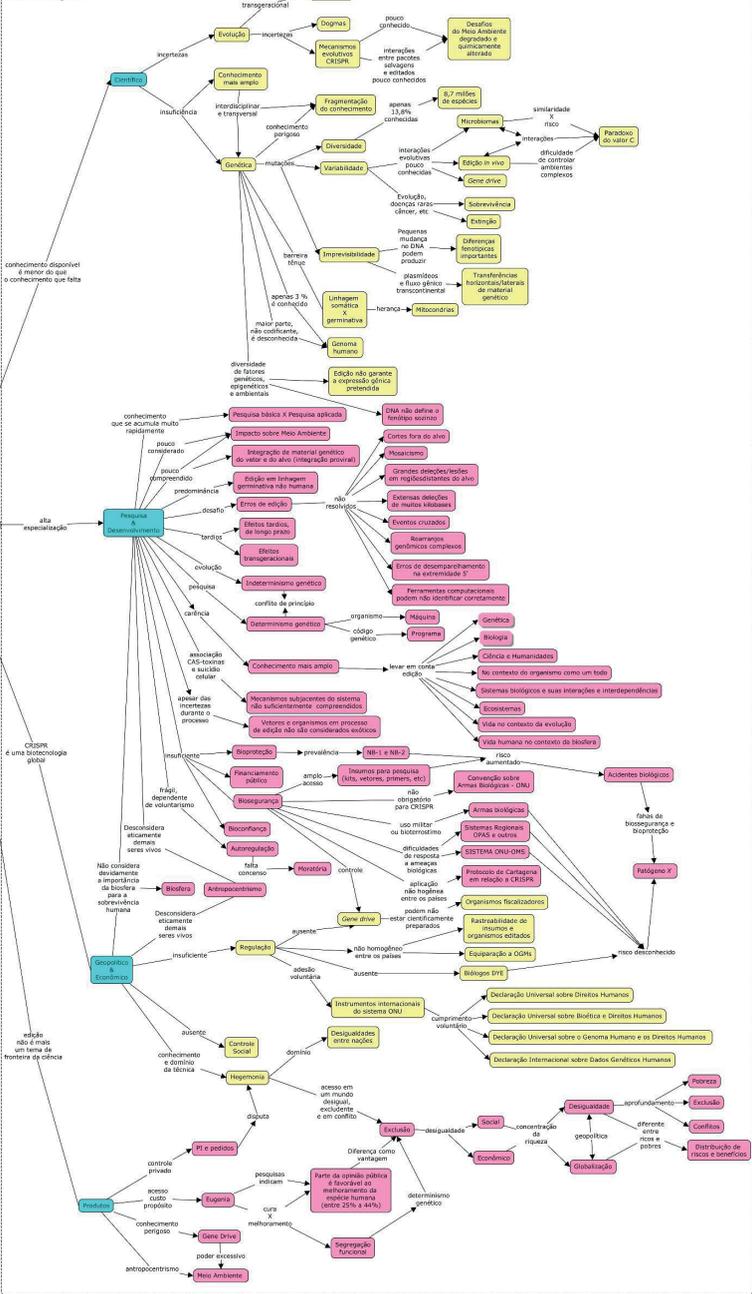


Figura 24 - Mapa conceitual das ameaças e oportunidades de CRISPR – quadro geral.

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 que tem algo a contribuir, 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 ou algum dos 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 de 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 predizer todo o futuro. (BIRD, 2007; BONDURIANSKY; DAY, 2009; BRADBURY, 2003; COSTA; PACHECO, 2012; DENNETT, 1998; FANTAPPIE, 2013; FELIZARDO, 2006; FUTUYMA, 1992; GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER, 2013; GOULD; VRBA, 1982; JABLONKA, 2011; JABLONKA; LAMB, 1989; LEAKEY, 1997; SOUZA, 2005; YOUNGSON; 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 predizer 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; BLASER, 2012; LANGELIER, 2018; MORA et al., 2011; SENDER; FUCHS; 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; BICKERTON, 2006; HAFT et al., 2005; KOONIN; MAKAROVA, 2013; SILAS et al., 2016; TOMOKO, 1995; YANG; 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) e mais recentemente, *Sars-Cov-2*. 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 mal sucedida, seja de um acidente ou propositalmente, ou mesmo como resposta evolutiva imprevista e até inesperada de uma mutação que possa inicialmente nem ser percebida ou sendo, ser interpretada como inerte ou se manifestar muito tardiamente, ou apenas após muitas gerações.

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 servem de transporte e favorecem a propagação de tantos patógenos de interesse epidemiológico, muitos dos quais cuja sazonalidade tem impactos importantes para nossa espécie, como o vírus influenza, de reincidência anual; a Febre do Oeste do Nilo, originário da África e que se proliferou rapidamente na América do Norte e a própria *Yersinia pestis*, ainda ativa em todos os continentes.. (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 ameaças de epidemias e pandemias.

6° 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.

7° 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; BLASER, 2012; SENDER; FUCHS; 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.

8° 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; BIER, 2015), pode ser determinante para a sobrevivência da espécie se a expressão gênica envolvida, a cor por exemplo, estiver associada à camuflagem de proteção contra predadores naturais.

9° 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 exógeno, as deleções e *knockout* gênico, há razoável dificuldade 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; 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; BRADLEY, 2018; MAEDER; 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; GERSBACH, 2016).

15° Sabe-se que CRISPR-Cas, em organismos complexos, não é seletivo do ponto de vista do tecido ou órgão a ser editado, ainda que o vetor de transporte possa direcioná-lo, de modo que na edição *in vivo*, conter a clivagem tecido-específico também é um desafio ainda por superar. (MAEDER; GERSBACH, 2016).

16° 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 grande variabilidade de doenças, 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 mosaïcismo 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 de técnicas como 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.

17° 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;

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 exógeno 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 mosaicismos pode produzir e qual o limiar aceitável de expressão em tecido-específico e no organismo como um todo. (BALTIMORE *et al.*, 2015a; FRIEDMANN *et al.*, 2015; GANTZ; 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; DAY, 2009; BRADBURY, 2003; FANTAPPIE, 2013; FRAGA *et al.*, 2005; GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER, 2013; GREER *et al.*, 2011; JABLONKA, 2011; JABLONKA; LAMB, 1989; JOHANNES *et al.*, 2009; REGALADO, 2015; WEAVER *et al.*, 2004; YOUNGSON; 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; COLLINS, 2016; LEDFORD, 2015a; WEBBER; RAGHU; 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; COLLINS, 2016). Ademais, visto que desconhecemos a maior parte das espécies que compõem 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; MILO, 2016; SOUZA et al., 2016).

22° 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: 1° se os atuais requisitos internacionais de biossegurança e bioproteção são compatíveis com os riscos biológicos reais envolvidos no uso da técnica; 2° 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 3° 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^a; 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).

23° 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^a; 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. Evidentemente que o advento da pandemia de Covid-19 acabou por estimular a esses organismos a desenvolver novas capacidades que modificaram a sua atuação e precisarão ser avaliadas à luz dessa nova realidade.

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 (que não é classe de risco de Sars-Cov2), 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 o voluntarismo mobilizado por parte dos governos para enfrentamento da pandemia de Covid-19 seja suficiente e adequado para fazer frente ao desafio em questão, 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 acabará por se traduzir 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.

27° 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.

28° 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, pode produzir armas biológicas de extermínio em massa. O que não sabemos é para onde a falta de sabedoria humana levará CRISPR.

29° 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, desconectado de um contexto mais amplo das ciências, é uma presença não apenas incomoda e inconveniente no debate sobre CRISPR, mas também perigosa e que precisa ser superada.

30° 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 convenha concordarmos na resposta.

31° 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 por 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. 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 Hinxtion Group (2015), sugere que aquela visão de progresso científico materialista de que fala Potter, persiste ainda, e 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, 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, e até mesmo uma obrigação, 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 antecedência 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, 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.

7.1 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)

Rememorando, destoam desta visão algumas manifestações em contrário e que abordam duas questões distintas: sob a perspectiva da herança mendeliana, a Sociedade

Americana de Terapia Genética e Celular (ASGCT) e a Sociedade Japonesa de Terapia Gênica apontam a dificuldade de acompanhamento dos potenciais efeitos negativos ao longo de gerações e, sob a perspectiva da herança epigenética, Church aponta os efeitos transgeracionais da epigenética (Regalado, 2015).

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.

7.2 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 acerca 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 éticas 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 suplantando 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 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, 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). Nessa linha, 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, o que nos leva a outra questão de fundamento, de princípio: quem será o seu “criador”, baseado em qual saber e a partir de quais modelos? Se admitirmos que o conhecimento atual é ainda imensamente insuficiente não apenas no campo da genética, mas em todos os demais ramos do conhecimento humano, e que em síntese, a plenitude de um ser humano perfeito implica (ao menos em tese) ser detentor de todo o conhecimento e ter o domínio de todas as coisas, 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 todo o conhecimento necessário para tanto; ou o criador é perfeito e portanto capaz de criar uma imagem, um modelo perfeito, mas neste caso, o sonho não teria sentido, vez que já seria realidade:

[...] 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. Afinal, acreditamos realmente e estamos dispostos a reconhecer que alguns de nós tem agora a onisciência para determinar como será mundo de nossos filhos e netos e qual papel eles deverão desempenhar no futuro? Acreditamos nisso e estamos realmente dispostos a delegar esta tarefa a estas pessoas? Para que modelo de sociedade nossos filhos e netos serão programados: capitalismo, socialismo, anarquismo ... que papel lhes caberá nessa utopia e a quem caberá esta escolha? Temos o direito de determinar geneticamente os limites do potencial de nossos filhos e netos em favor do lugar que lhes será destinado no mundo, o que a rigor significa botar um limite para a sua liberdade? Com efeito, ao que parece tem-nos faltado a necessária sabedoria

para fazer escolha até mesmo para o nosso tempo, quanto mais para o tempo dos nossos filhos e netos.

Devemos ainda tratar de um aspecto singularmente fugidio 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:

O primeiro é o caso da cura funcional: é sabido que determinados agrotóxicos usados na lavoura são mutagênicos e/ou 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, uma cura antecipada do genótipo para profilaxia do fenótipo. 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 aqueles “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.

O segundo caso é o do 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, as possíveis modificações genômicas que tenham como propósito a atividade humana, o seu modo de existir no mundo, do ponto de vista funcional ou ocupacional, seja por meio de modificações em capacidades genótípicas ou intervenções

em expressões fenotípicas, devem levar em conta, mais que necessidades *de persi*, questões fundamentais mais amplas como a importância e as possíveis repercussões não apenas *in casu*, mas também sobre a ampla variabilidade e diversidade de nossa espécie ao longo de gerações, a irrevogável garantia da liberdade como princípio incondicional para o exercício da autonomia e autodeterminação individual e dos povos, além das necessidades e idiosincrasias destes em vista de seus respectivos valores culturais e morais, de modo que considerados tais contextos mais amplos, e por certo, mais complexos, dificilmente poderão ser adotadas massivamente, de maneira preditiva, para toda comunidade humana, como se fossem vacinas. Neste sentido, reconhecemos, a genética pode contribuir de maneira significativa na construção de uma sociedade mais inclusiva e plural, onde cada um possa encontrar na diferença, mais que na uniformidade, o seu lugar no mundo e, ao mesmo tempo, evitar que o domínio do conhecimento sobre o genoma possa ser utilizado para a estratificação social baseada em tarefas, funções ou papéis sociais que, sob a justificativa da efemeridade da necessidade ou da relevância social, acabem por aprofundar as desigualdades sociais e criem barreiras genéticas que sirvam para separar ou distinguir comunidades, segundo interesses e papéis sociais definidos a partir de interesses, que não raras vezes tangenciam conveniências político-circunstanciais ou econômicas, tanto regionais como globais. Neste sentido, evitar a hegemonia do domínio sobre o genoma, uma necessidade fundamental, equivale a proteger a humanidade da hegemonia do poder, sobretudo político e econômico, em seu sentido mais amplo e profundo.

Com efeito, há uma linha tênue, imprecisa e cedida 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 da 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 como destino, antes mesmo de existir, não transparece ser um mundo nem bom, nem perfeito.

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 (SANCHES, 2007), uma divisão necessária a ser considerada no debate sobre dos riscos e benefícios de CRISPR.

7.3 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 propositalis.

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 a elas 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)¹.

Outra questão que merece especial atenção no caso de CRISPR, diz respeito à Classificação de Riscos de agentes biológicos. Embora as normas vigentes tratem 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 os 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 exógeno não tenha adquirido novas características que o tornem do ponto de vista do nível de risco, mais perigoso do que era antes. O caso de *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 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 representam riscos maiores do que quando do início do experimento. Vale lembrar que avaliação de risco é sempre um processo mediado por valores (HEITMAN; SAWYER; 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 -

1. 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).

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 contensão 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. De fato, a vida quer viver e é capaz de suplantar os maiores desafios para se adaptar, e adaptação parece ser sobretudo variabilidade criativa 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).

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 off-target 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 de 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 o 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 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 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 O desenvolvimento surpreendentemente acelerado e em curto espaço de tempo das pesquisas de aplicação, incluindo ensaios clínicos, em descompasso e em desprestígio da pesquisa básica, que deveria anteceder-lhe de fundamento, sobretudo no que se refere aos requisitos de conhecimento e segurança, gera como efeito colateral importante um conjunto amplo de incertezas que amplificam possíveis problemas, dificultam a redução e gestão de riscos e não favorecem o alcance 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 circunstâncias 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.

11° 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.

12° 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.

13° A alta concentração de pesquisas institucionalizadas com CRISPR em poucos países sugere não apenas a formação de um bloco de domínio do conhecimento 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).

14° Ainda que a base sobre a qual se assentam as pesquisas com CRISPR estejam sedimentadas nos fundamentos da biologia e da Teoria Sintética da Evolução amplamente consolidados e aceitos, há em relação a elas dissonâncias, divergências e incertezas que podem, ou deveriam, impactar de maneira relevante os estudos de impactos e as análises de riscos e benefícios decorrentes do uso da técnica em projetos específicos, mas que parecem não estar sendo considerados.

15° Se por um lado, a interdisciplinaridade é uma abordagem indispensável para a ampliação do conhecimento sobre CRISPR, parece claro que esta estratégia necessita ser complementada por uma leitura transversal dos vários conhecimentos que se relacionam e se complementam em torno do tema, de modo a que a resultante deste exercício heurístico estabeleça as condições para um novo conhecimento que não se resume à soma de suas partes. Nessa linha, fica claro também que as considerações diretamente relacionadas à genética e ao experimento em si não são suficientes e não podem ser desconectados de uma visão mais ampla do experimento no contexto das ciências e do mundo no qual o mesmo se insere. Isto certamente é parte daquele “*novum*” de que fala Jonas, para o qual

as éticas tradicionais não são suficientes e “uma nova ética deve ser pensada”. (JONAS, 2006, p. 39)

16° A leitura atenta das publicações que dão conta das pesquisas realizadas com CRISPR transparece existir um distanciamento destas em relação ao conhecimento acumulado por outras áreas, não apenas da própria genética e da biologia, mas também de outros ramos do conhecimento, para os quais o abismo é ainda maior. Se por um lado isto não favorece a mencionada transversalidade, por outro pode comprometer de maneira decisiva na reflexão acerca dos riscos envolvidos pelo empreendimento, sobretudo para o meio ambiente.

17° A rápida expansão de projetos que se utilizam de CRISPR não parece vir acompanhada de pesquisas que conectem e unifiquem todo esse conhecimento em franco processo de acumulação, favorecendo o que Potter denomina de conhecimento perigoso. Isso tanto não contribui para a superação dos problemas e desafios intrínsecos à técnica e a minimização de riscos, como também não favorece a construção do conhecimento mais amplo que facilite o seu domínio e, com isso, a implementação mais rápida e segura de aplicações de interesse social.

18° Parece predominar, nos estudos com CRISPR, uma excessiva abordagem antropocêntrica dos riscos e benefícios da técnica, em detrimento do meio ambiente e das demais espécies e que desconsidera que a afetação do meio ambiente também prejudica de alguma forma o ser humano.

19° 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. Isto 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.

20° Parece claro que o conhecimento sobre CRISPR precisa avançar e ser ampliado. No entanto, para que não se constitua em conhecimento pulverizado, na forma de conhecimento perigoso, é imperioso que venha acompanhado de mais pesquisas, e, portanto, mais conhecimento, oriundo das demais áreas com as quais ele faz interface, de modo a que se possa entender como os genes de cada indivíduo, de cada espécie funcionam e interagem no contexto mais amplo da vida, do meio ambiente e da evolução, frente uma dinâmica de consequências e efeitos de longo prazo que podem ser determinantes para a sobrevivência das gerações do presente e futuras.

21° 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 ao 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 Se de fato CRISPR representa importante fator de estímulo a democratização do acesso de pesquisadores em todo o mundo para realização de pesquisas na área da genômica, isso deve vir acompanhado de um novo modelo de desenvolvimento biotecnológico que ao mesmo tempo estabeleça as premissas em termos éticos e de biossegurança, e ao mesmo tempo favoreça a implementação de pesquisas compartilhadas em regime de colaboração que possam reduzir o nível de fragmentação do conhecimento em curso e potencializar resultados.

23º Conciliar os conflitos e superar os dilemas entre as necessidades individuais e de segmentos sociais - à mais das vezes legítimos e urgentes, sobretudo aqueles relacionados a doenças degenerativas e/letais para as quais a pesquisa gênica representa a única esperança - em face dos riscos envolvidos e que eventualmente terão que ser compartilhados por todos, se constitui em um dos mais emblemáticos e difíceis desafios a ser enfrentado, tanto por cientistas como pela sociedade como um todo, vez que algumas das escolhas que terão que ser feitas, invariavelmente virão acompanhadas de danos, dor e sofrimento de parte a parte.

24º Este estudo tem caráter apenas amostral. Em razão disto, incompleto, mesmo porque, como dizíamos no início, não é tarefa que possa ser feito de uma única vez, por apenas uma pessoa ou grupo. 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 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 ferramenta 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. Concluímos 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 deveriam ultrapassar. A essa altura podemos reconhecer o quão incomensurável 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 obsessão pelo progresso possa realmente valer a pena. Se admitirmos que há necessidade de se estabelecer uma fronteira ética que não deva ser ultrapassada nem pela ciência e nem pela sociedade, e por certo ela existe, a dificuldade de se determinar qual seja este limite não está no conhecimento, mas no nosso modelo de sociedade estratificada, economicamente eugênica, politicamente predatória, em que traduzimos o progresso em termos de sobrevivência, como luta sangrenta do mais forte.

E se é absolutamente necessário convencionar-se limites ao fazer ciência, ele o é 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 como 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 mesmo quando obter total domínio da tecnologia e da aeronave, ainda assim, 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 a interferência no meio ambiente a um jogo de sobrevivência. 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 doenças, estamos falando de um poder de impactar de maneira imprevisível e inesperada sobre a 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. Estamos falando de eliminar espécies, 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 espécies 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 cujo conteúdo desconhecemos, e talvez até mesmo esteja vazio de essência e de finalidade, destinado a um mundo pós-humano, niilista, onde para nós do tempo presente 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 e aqueles que vão morrer não tem mais nada, nem mesmo tempo. No entanto, ainda que subjugado à espada de Dâmocles, 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 a 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 um dia chegar, irá beneficiar tantos quanto dela necessitam, se o mundo que vivemos diariamente nos diz que muitos certamente a ela não terão acesso? Vale a pena correr o risco?

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; BRYANT, 2015, p. 523).

Mas em verdade, é forçoso, e até dever de uma humildade decente, reconhecermos que a ferramenta molecular CRISPR não é intrinsecamente uma ameaça em si mesma. A ameaça está em nosso agir, como cientistas, que cientes das imensas lacunas do conhecimento, fazemos escolhas em favor da alta especialização e das pesquisas de aplicação em detrimento do conhecimento mais amplo e de longo alcance e, com isso, assumimos o desconhecido como um risco aceitável (Potter, 2016).

A fantástica quantidade de pesquisas no campo da engenharia no genoma, da genética, da biologia e de tantas 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.

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, liberta do desígnio e do destino, 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 mesma uma infalibilidade que transcende seus próprios dogmas e assume agora 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-lá a um projeto desconectado do passado e que não tem nenhum compromisso com o futuro.

Se 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 e totalmente livre para empreender os seus desejos. 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 fazendo. 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. Isso deveria nos dizer que temos um dever: 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.

Valoroso e até necessário rememorar os testemunhos históricos de Alfred Nobel e Albert Einstein acerca do abismo imenso que as vezes separa os cientistas e seus sonhos da sociedade e suas ambições mundanas. A apropriação do conhecimento de tecnologias como as de manipulação do átomo ou do genoma, sem um diálogo inclusivo e eticamente responsável entre ambos, tem esse poder de submeter o mundo como o conhecemos à fluidez de escolhas que oscilam entre a esperança e a tragédia, entre o bem e o mal, entre a ordem e o caos. Dono de seu agir, o cientista tem dois deveres dos quais não pode abdicar: um deles é o de refletir acerca daqueles conhecimentos sobre os quais ele não deve assumir para si a prerrogativa de torná-los disponíveis sem o necessário debate com a sociedade e, segundo, não permitir que tais conhecimentos possam ser apropriados sem que os seus benefícios e malefícios sejam igualmente compreendidos e compartilhados por todos. A fragilidade dessas escolhas, a linha tênue e cediça que separa o bem do mal, as dificuldades de discernimento na ausência de numa visão mais ampla da vida e do mundo, tem o condão de acentuar as vulnerabilidades com as quais nossa contemporaneidade tão cotidianamente tem convivido e acentuado problemas que são globais e para os quais as soluções, as vezes, podem ser tão simples quanto impossíveis.

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 as 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 e a nós mesmos, que nossa espécie é como um câncer em metástase nesse 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, Marcos V.; NEWELL, Peter D.; KRASTEVA, Petya V.; CHATTERJEE, Debashree; MADDEN, Dean R.; O, George A.; SONDERMANN, Holger. Structural Basis for c-di-GMP-Mediated Inside-Out Signaling Controlling Periplasmic Proteolysis. **PLoS Biol.** [S. l.], v. 9, n. 2, 2011. DOI: 10.1371/journal.pbio.1000588. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosbiology/article/file?id=10.1371/journal.pbio.1000588&type=printable>. Acesso em: 14 jun. 2018.
- ABBASI, K. Free the slaves. **BMJ (Clinical research ed.)**, [S. l.], v. 318, n. 7198, p. 1568–9, 1999. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10364096>. Acesso em: 16 set. 2018.
- ABBOTT, Alison. Project set to map marks on genome. **Nature**, [S. l.], v. 463, n. 7281, p. 596, 2010. DOI: 10.1038/463596b. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/463596b>. Acesso em: 8 ago. 2018.
- ACHENBACH, Joel; JOHNSON, Carolyn Y. **Broad Institute scientist prevails in epic patent fight over CRISPR**. 2017. 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. Acesso em: 27 fev. 2018.
- ADDGENE. **Addgene: Popular Plasmids**. 2018. Disponível em: <http://www.addgene.org/popular-plasmids/>. Acesso em: 5 jul. 2018.
- AGÊNCIA FAPESP. **Cientistas calculam quantas espécies existem**. 2011. Disponível em: http://agencia.fapesp.br/cientistas_calculam_quantas_especies_existem/14383/. Acesso em: 20 mar. 2018.
- ALMEIDA FILHO, Enézio E. De. Alguns aspectos do mérito científico da Teoria do Design Inteligente. **6º Encontro Nacional de Criacionistas**, [S. l.], p. 1–22, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267714922_ALGUNS_ASPECTOS_DO_MERITO_CIENTIFICO_DA_TEORIA_DO_DESIGN_INTELIGENTE.
- ALMEIDA FILHO, Enézio E. de; MARTINS, Maurício Vieira; WAIZBORT, Ricardo; RIOS, Ricardo Iglesias. Cartas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 519–523, 2004. DOI: 10.1590/S0104-59702004000200021. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702004000200021&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 23 mar. 2018.
- ALPER, Tikvah; CRAMP, W. A.; HAIG, D. A.; CLARKE, M. C. Does the Agent of Scrapie Replicate without Nucleic Acid ? **Nature**, [S. l.], v. 214, n. 5090, p. 764–766, 1967. DOI: 10.1038/214764a0. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/214764a0>. Acesso em: 19 out. 2018.
- ANNAN, Kofi. **Kofi Annan - The Nobel Peace Prize 2001- Nobel Lecture**. 2001. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/peace/2001/annan/lecture/>. Acesso em: 17 set. 2018.
- ARIANNE, M.; CHWARTZ, S.; OHN, J.; ISSING, V. Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA. **Brief Report N Engl J Med**, [S. l.], v. 576, n. 8, 2002. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa020350>. Acesso em: 12 jul. 2018.
- BALTIMORE, David *et al.* Biotechnology. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 348, n. 6230, p. 36–8, 2015. b. DOI: 10.1126/science.aab1028. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791083>. Acesso em: 16 fev. 2018.

- BALTIMORE, David *et al.* **On Human Gene Editing**: International Summit Statement Scientific. 2015a. Disponível em: <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>.
- BARBOSA, LUCAS, Luiz Henrique. As Convenções de Genebra e o Estatuto de Roma : Normas de Efeito Moral ? **Rev. SJRJ**, [S. l.], v. 17, p. 289–318, 2010.
- BARRANGOU, R.; FREMAUX, C.; DEVEAU, H.; RICHARDS, M.; BOYVAL, P.; MOINEAU, S.; ROMERO, D. A.; HORVATH, P. CRISPR Provides Acquired Resistance Against Viruses in Prokaryotes. **Science**, [S. l.], v. 315, n. 5819, p. 1709–1712, 2007. DOI: 10.1126/science.1138140. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17379808>. Acesso em: 22 fev. 2018.
- BARRANGOU, Rodolphe; HORVATH, Philippe. CRISPR: New Horizons in Phage Resistance and Strain Identification. **Annual Review of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 143–162, 2012. DOI: 10.1146/annurev-food-022811-101134. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-022811-101134>. Acesso em: 4 set. 2018.
- BARRANGOU, Rodolphe; MARRAFFINI, Luciano A. CRISPR-Cas systems: Prokaryotes upgrade to adaptive immunity. **Molecular cell**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 234–44, 2014. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24766887>. Acesso em: 4 set. 2018.
- BARROS, Maria Paloma Silva De. **Caracterização Genética de cepas de Yersinia pestis**. 2012. Universidade Federal de Pernambuco, [S. l.], 2012.
- BEDROSIAN, Tracy A.; QUAYLE, Carolina; NOVARESI, Nicole; GAGE, Fred. H. Early life experience drives structural variation of neural genomes in mice. **Science**, [S. l.], v. 359, n. 6382, p. 1395–1399, 2018. DOI: 10.1126/science.aah3378. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.aah3378>. Acesso em: 22 mar. 2018.
- BERGEL SD. O impacto ético das novas tecnologias de edição genética. **Rev. Bioética**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 454-461, Dec. 2017 .
- BERNSTEIN, Bradley E. *et al.* The NIH Roadmap Epigenomics Mapping Consortium. **Nature biotechnology**, [S. l.], v. 28, n. 10, p. 1045–8, 2010. DOI: 10.1038/nbt1010-1045. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20944595>. Acesso em: 8 ago. 2018.
- BIANCO, Bianca; MONTAGNA, Erik. Avanços e novas tecnologias para o estudo das doenças mitocondriais. **Einstein - Faculdade de Medicina do ABC**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 291–294, 2016. DOI: 10.1590/S1679-45082016MD3561. Disponível em: <http://www.thetimes>. Acesso em: 6 jul. 2018.
- BIRD, Adrian. Perceptions of epigenetics. **Nature**, [S. l.], v. 447, n. 7143, p. 396–398, 2007. DOI: 10.1038/nature05913. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17522671>. Acesso em: 2 fev. 2018.
- BLENDON, Robert J.; GORSKI, Mary T.; BENSON, John M. The Public and the Gene-Editing Revolution. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 374, n. 15, p. 1406–1411, 2016. DOI: 10.1056/NEJMp1602010. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMp1602010>. Acesso em: 9 maio 2018.

BONDURIANSKY, Russell; DAY, Troy. Nongenetic Inheritance and Its Evolutionary Implications. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 103–125, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173441. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173441>. Acesso em: 8 ago. 2018.

BOSLEY, Katrine S. *et al.* CRISPR germline engineering—the community speaks. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 33, n. 5, p. 478–486, 2015. DOI: 10.1038/nbt.3227. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nbt.3227>. Acesso em: 16 fev. 2018.

BOWLING, B. V. *et al.* Development and evaluation of a genetics literacy assessment instrument for undergraduates. **Genetics**, v. 178, n. 1, p. 15-22, 2008.

BRADBURY, Jane. Human epigenome project - up and running. **PLoS biology**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. E82, 2003. DOI: 10.1371/journal.pbio.0000082. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14691553>. Acesso em: 6 ago. 2018.

BRASIL. **Classificação de Risco dos Agentes Biológicos**. Brasília-DF: Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde, 2006.

BRASIL. **Classificação de Risco dos Agentes Biológicos**. 2a ed. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde, 2010. DOI: 8476706162. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/publicacoes/classificacao_risco_agentes_biológicos_2ed.pdf.

BRASIL. Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995. Regul. os inc. II e V, § 1o, art. 225 da Constituição Federal, estab. normas p/ uso das téc. de eng. genética e liberação no meio ambiente de OGM, e dá outras providências. Revogada pela Lei nº 11.105/2005. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 6 jan. 1995. p. 337. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8974.htm. Acesso em: 14 jun. 2021.

BRASIL. **Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005**. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. Brasil, 2005a. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm. Acesso em: 13 nov. 2017.

BRASIL. Lei nº 11.105/2005, de 24/03/2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam OGM e dá outras providências. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados — OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança — CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança — CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança — PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 28 mar. 2005b. p. 1, 5. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm. Acesso em: 25 fev. 2021.

BRASIL. Decreto nº 5.705, de 16 de fevereiro de 2006 - Promulga o Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança da Convenção sobre Diversidade Biológica. Promulga o Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança da Convenção sobre Diversidade Biológica. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 17 fev. 2006. p. 3. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5705.htm. Acesso em: 10 set. 2018.

BRASIL. **Classificação de Risco dos Agentes Biológicos**. 2a ed. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde, 2010. DOI: 8476706162. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/classificacao_risco_agentes_biologicos_2ed.pdf.

BRASIL. **Relatório da Comissão Nacional da Verdade** - vl t1. Brasília: CNV, 2014. a. v. 1.

BRASIL. **Relatório da Comissão Nacional da Verdade**: Texto Temáticos. Brasília: CNV, 2014. b. v. 2.

BRAZ, M. Espera e revelação: a pesquisa com testes preditivos para câncer de mama e a ética. **Revista Bioética**, v.16, n. 2, p. 241-258, 2008.

BREWER, N. T. *et al.* Health literacy and cancer risk perception: implications for genomic risk communication. **Medical Decision Making**, v. 29, n. 2, p. 157-166, 2009.

BRIN, Sergey; WOJCICKI, Anne; MA, Jack; ZHANG, Cathy; MILNER, Yuri; MILNER, Julia; ZUCKERBERG, Mark; CHAN, Priscilla. **Breakthrough Prize – Recipients Of The 2015 Breakthrough Prizes In Fundamental Physics And Life Sciences Announced**. 2015. Disponível em: <https://breakthroughprize.org/News/21>. Acesso em: 27 ago. 2018.

BRINEGAR, Katelyn; K. YETISEN, Ali; CHOI, Sun; VALLILLO, Emily; RUIZ-ESPARZA, Guillermo U.; PRABHAKAR, Anand M.; KHADEMOSSEINI, Ali; YUN, Seok-Hyun. The commercialization of genome-editing technologies. **Critical Reviews in Biotechnology**, [S. l.], v. 37, n. 7, p. 924–932, 2017. DOI: 10.1080/07388551.2016.1271768. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/07388551.2016.1271768>. Acesso em: 19 may. 2022.

BROUNS, S. J. J. *et al.* Small CRISPR RNAs Guide Antiviral Defense in Prokaryotes. **Science**, [S. l.], v. 321, n. 5891, p. 960–964, 2008. DOI: 10.1126/science.1159689. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18703739>. Acesso em: 16 fev. 2018.

BRYANT, John H.; BRYANT, Nancy H.; WILLIAMS, Susanna; NDAMBUKI, Racheal Nduku; ERWIN, Paul Campbell. 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**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 3588–98, 2012. DOI: 10.3390/ijerph9103588. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23202764>. Acesso em: 16 set. 2018.

CACIQUE, D. B. Delineando fronteiras: reflexão sobre os limites éticos para a aplicação de tecnologias genéticas. **Revista Bioética**, v. 20, n. 1, p. 60-70, 2012.

CALLAWAY, Ewen. UK moves closer to allowing 'three-parent' babies. **Nature**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1038/nature.2016.21067. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature.2016.21067>. Acesso em: 27 out. 2018.

CANDEIAS, J. A. N. A engenharia genética. **Revista de saúde pública**, v. 25, p. 3-10, 1991.

CAPALBO, Deise Maria Fontana. **Estado da arte em estudos de biossegurança ambiental de organismos geneticamente modificados (OGM) e a prática da Embrapa**. Jaguariúna. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/documentos_561D-l8tyt6G8cj.pdf. Acesso em: 16 mar. 2018.

CARDOSO, Dora Rambauske; CARDOSO, Telma Abdalla de Oliveira. Bioterrorismo: dados de uma história recente de riscos e incertezas. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S. l.], v. 16, n. suppl 1, p. 821–830, 2011. DOI: 10.1590/S1413-81232011000700013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232011000700013&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 11 set. 2018.

CARDOSO, Telma Abdalla de Oliveira; NAVARRO, Marli B. M. de Albuquerque; SOARES, Bernardo Elias Correa; TAPAJÓS, Ana Maria. Biossegurança e biossegurança: Aplicabilidades da segurança biológica. **Interciencia**, [S. l.], v. 33, n. 8, p. 561–568, 2008.

CARDOSO, Telma Abdalla de Oliveira; VIEIRA, Duarte Nuno. Bacillus anthracis como ameaça terrorista. **Saúde em Debate**, [S. l.], v. 39, n. 107, p. 1138–1148, 2015. DOI: 10.1590/0103-110420161070072. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-11042015000401138&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 10 dezembro 2018.

CAROLINA, Ana *et al.* Large-scale mitogenomics enables insights into Schizophora (Diptera) radiation and population diversity. **Nature Publishing Group**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1038/srep21762. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep21762.pdf>. Acesso em: 25 maio 2018.

CEPAL. **Em reunião da CEPAL , autoridades defendem igualdade no centro do desenvolvimento sustentável**. 2016. 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, Louise *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**, [S. l.], v. 7, p. 67–68, 2016. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.07.012. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S2213716516300832/1-s2.0-S2213716516300832-main.pdf?_tid=cf8c88c2-f8fd-40a5-bd95-2d098adc214c&acdnat=1528830552_2cd190cd5933ce0062235733d6c8fcd7. Acesso em: 12 jun. 2018.

CERDEIRA, Louise; FERNANDES, Miriam R.; IENNE, Susan; SOUZA, Tiago A.; DE O. GARCIA, Doroti; LINCOPAN, Nilton. 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**, [S. l.], v. 8, p. 108–109, 2017. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.12.001. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716517300012>. Acesso em: 12 jun. 2018.

CHAKRABORTY, Sajib; SNIJDERS, Ambrosius P.; CHAKRAVORTY, Rajib; AHMED, Musaddeque; TAREK, Ashek Md.; HOSSAIN, M. Anwar. 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**, [S. l.], v. 56, n. 3, p. 878–887, 2010. DOI: 10.1016/J.YMPEV.2010.05.020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790310002393#!>. Acesso em: 16 fev. 2018.

CHARO, R. Alta *et al.* Human Genome Editing Science, Ethics, and Governance. **National Academy of Sciences and National Academy of Medicine**, [S. l.], 2017. Disponível em: http://nationalacademies.org/cs/groups/genesite/documents/webpage/gene_177260.pdf. Acesso em: 27 fev. 2018.

CHARPENTIER, Emmanuelle. CRISPR-Cas9: how research on a bacterial RNA-guided mechanism opened new perspectives in biotechnology and biomedicine. **EMBO molecular medicine**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 363–5, 2015. DOI: 10.15252/emmm.201504847. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25796552>. Acesso em: 20 ago. 2018.

CHERTOW, Daniel S. Next-generation diagnostics with CRISPR. **Science**, [S. l.], v. 360, n. 6387, p. 381–382, 2018. DOI: 10.1126/science.aat4982. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.aat4982>. Acesso em: 26 abr. 2018.

CHI, Kelly Rae. The dark side of the human genome. **Nature**, [S. l.], v. 538, n. 7624, p. 275–277, 2016. DOI: 10.1038/538275a. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/538275a>. Acesso em: 21 mar. 2018.

CHO, Ilseung; BLASER, Martin J. The human microbiome: at the interface of health and disease. **Nature Reviews Genetics**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 260–270, 2012. DOI: 10.1038/nrg3182. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrg3182>. Acesso em: 11 ago. 2018.

COHEN, Jon. Upgrade makes genome editor CRISPR more muscular, precise. **Science**, [S. l.], 2018. a. DOI: 10.1126/science.aat4571. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/02/upgrade-makes-genome-editor-crispr-more-muscular-precise>. Acesso em: 1 mar. 2018.

COHEN, Jon. Federal appeals court hears CRISPR patent dispute. **Science**, [S. l.], 2018. b. DOI: 10.1126/science.aau0349. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/04/federal-appeals-court-hears-crispr-patent-dispute>. Acesso em: 2 maio 2018.

COHEN, Jon. Inside the circle of trust. **Science**, [S. l.], v. 365, n. 6452, p. 430–437, 2019. DOI: 10.1126/science.365.6452.430. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.365.6452.430>. Acesso em: 2 ago. 2019.

COLLINS, FRANCIS, S. **Statement on NIH funding of research using gene-editing technologies in human embryos**. 2015. 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. 2 Disponível em: http://www.justica.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-10/comissao_da_verdade_v1_2versao.pdf. Acesso em: 10 dezembro 2020.

COMISSÃO ECONÔMICA PARAAMÉRICA LATINA E O CARIBE DAS NAÇÕES UNIDAS (CEPAL). **Pobreza extrema na região sobe para 86 milhões em 2021 como consequência do aprofundamento da crise social e sanitária derivada da pandemia da COVID-19**. 25 de janeiro de 2022. Disponível em: <https://www.cepal.org/pt-br/comunicados/pobreza-extrema-regiao-sobe-86-milhoes-2021-como-consequencia-aprofundamento-crise#:~:text=Assim%2C%20como%20consequ%C3%Aancia%20da%20prolongada,%2C0%25%20para%2032%2C1>. Acesso em: 27 abr. 2022.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 2, de 27 de novembro de 2006. Republicada pela Resolução No 18, de 23 de março de 2018. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2006. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-2-de-27-de-novembro-de-2006?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 2, de 27 de novembro de 2006. Republicada pela Resolução No 18, de 23 de março de 2018. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2006a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-2-de-27-de-novembro-de-2006?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 1, de 20 de junho de 2006. Dispõe s/ instal. e o func. das Com. Internas de Biossegurança (CIBios) e s/ critérios e proced. p/ requerimento, emissão, revisão, extensão, suspensão e cancel. Certificado de Qualidade em Biossegurança (**Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio**), Brasília-DF, Brasil, 2006b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-1-de-20-de-junho-de-2006-alterada-pela-resolucao-normativa-no-11-de-22-de-outubro-de-2013-e-pela-resolucao-normativa-no-14-de-0?redirect=http%3A. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 3, de 16 de agosto de 2007. Estabelece as normas de monitoramento aplicáveis aos eventos de milho geneticamente modificados e sua progênie. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2007a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-3-de-16-de-agosto-de-2007?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 4, de 16 de agosto de 2007. Estabelece as distâncias mín. de isol. a serem observadas entre cultivos com. de milho genet. modificado e cultivos de milho não genet. modificado, p/ permitir a coexistência entre os dif. sistemas de pro**Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2007b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-4-de-16-de-agosto-de-2007?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 5, de 12 de março de 2008. Dispõe sobre normas para liberação comercial de Organismos Geneticamente Modificados e seus derivados. Revogada pela Resolução Normativa nº 24, de 7 de janeiro de 2020. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2008a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-5-de-12-de-marco-de-2008-revogada-pela-rn-24?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 6, de 6 de novembro de 2008. Estab. que às liberações plan. no meio amb. de OGM's de origem veg. e deriv. serão aplic. as normas desta RN e demais disp. legais vig. no país, que incidam s/ objeto do req., bem c/ autoriz. dec. das de. Estabelece que as liberações planejadas no meio ambiente de Organismos Geneticamente Modificados de origem vegetal e seus derivados serão aplicadas as normas constantes desta Resolução Normativa e demais disposições legais vigentes no país, que incidam sobre o objeto do requerimento, bem como as autorizações decorrentes das decisões técnicas proferidas pela CTNBio. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2008b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-6-de-6-de-novembro-de-2008?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 8, de 3 de junho de 2009. Revogada pela RN23. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2009a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-8-de-3-de-junho-de-2009-revogada-pela-rn-23?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9d. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 7, de 27 de abril de 2009. Estabelece que às liberações planejadas no meio ambiente de Microorganismos e Animais Geneticamente Modificados de Classe de Risco I e seus derivados serão aplicadas as normas constantes desta Resolução. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2009b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-7-de-27-de-abril-de-2009?redirect=http%253A%252F%252Fctnbio.mctic.gov.br%252Fresolucoes-normativas%253Fp_p_id%253D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%2526. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 9, de 2 de dezembro de 2011. Revogada pela RN24. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2011. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-9-de-2-de-dezembro-de-2011-revogada-pela-rn-24?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431R. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 10, de 2 de Outubro de 2013. Revogada pela RN30. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2013a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-10-de-2-de-outubro-de-2013-revogada-pela-rn-30?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431R. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 11, de 22 de outubro de 2013. Altera o inciso V e as alíneas “a” a “c” do Art. 16 da Resolução Normativa no 01, de 20 de junho de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 23 out. 2013b. p. 20. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/31080585/do1-2013-10-23-resolucao-normativa-n-11-de-22-de-outubro-de-2013-31080581. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 12, de 23 de setembro de 2014. Estab. que as instit. interessadas em obter autoriz. de liberação plan. no meio ambiente de cana-de-açúcar geneticamente modificada deverão seguir as seguintes condições de isolamento e descarte. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília- DF, Brasil, 2014. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-12-de-23-de-setembro-de-2014?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 15, de 13 de fevereiro de 2015. Revogada pela RN24. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2015a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-15-de-13-de-fevereiro-de-2015-revogada-pela-rn-24?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW4. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 16, de 15 de janeiro de 2018. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-n%C2%BA-16-de-15-de-janeiro-de-2018. Acesso em: 26 abr. 2022.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 14, de 4 de fevereiro de 2015. Altera o inc. IV do art. 5º, inc. o inc. XVII no art. 8º, alt. o caput do art. 9º e . inc. II, IV e VI do art. 11, acresc. par. único ao art. 16 e os arts. 17-A e 17-B, alt. o item 6 e acres. o item 14 **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 5 fev. 2015b. p. 11. Disponível em: https://www.in.gov.br/material/-/asset_publisher/KujrwoTzC2Mb/content/id/32377275/do1-2015-02-05-resolucao-normativa-n-14-de-4-de-fevereiro-de-2015-32377231. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Nº 18, de 23 de março de 2018. Republica a RN nº 2, que dispõe sobre a classificação de riscos de OGMs e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM e seus derivados em contenção. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2018a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-no-18-de-23-de-marco-de-2018?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p. Acesso em: 25 abr. 2022.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa Nº 16, de 15 de janeiro de 2018. Estabelece os requisitos técnicos para apresentação de consulta à CTNBio sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão - TIMP. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2018b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-16-de-15-de-janeiro-de-2018?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Nº 20, de 23 de março de 2018. Revogada pela RN24. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2018c. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-no-20-de-23-de-marco-de-2018-revogada-pela-rn-24?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 21, de 15 de junho de 2018. Dispõe sobre normas para atividades de uso comercial de Microrganismos Geneticamente Modificados e seus derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 22 jun. 2018d. p. 8. Disponível em: https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/26979172/do1-2018-06-22-resolucao-normativa-n-21-de-15-de-junho-de-2018-26979126. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2019. Estabelece as condições para concessão de autorização de liberação planejada no meio ambiente de eucalipto geneticamente modificado e seus derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 1 ago. 2019a. p. 25. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-22-de-31-de-julho-de-2019-208201568>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 23, de 3 de outubro de 2019. Dispõe s/ concessão de autoriz. pela CIBio para liber. plan. no meio amb. de OGM's da classe de risco 1 que já tenham sido aprov. anteriormente na CTNBio p/ fins de avaliações experimentais em liber. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 4 out. 2019b. p. 23. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-23-de-3-de-outubro-de-2019-219919417>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 24, de 7 de janeiro de 2020. Dispõe sobre normas para liberação comercial e monitoramento de Organismos Geneticamente Modificados - OGMs e seus derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 9 jan. 2020a. p. 22. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-normativa-n-24-de-7-de-janeiro-de-2020-237272300>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa ad referendum nº 25, de 31 de janeiro de 2020. Dispõe s/ classific. do nível de risco das ativ. econômicas sujeitas a atos públicos de liberação da CTNBio, p/ fins da Lei nº 13.874/09/2019, regulamentada pelo Decreto nº 10.178, de 18/1. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 3 fev. 2020b. p. 17. Disponível em: <https://in.gov.br/web/dou/-/resolucao-normativa-ad-referendum-n-25-de-31-de-janeiro-de-2020-241104732>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 26, de 22 de maio de 2020. Dispõe sobre as normas de transporte de Organismos Geneticamente Modificados - OGM e seus derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 25 maio. 2020c. p. 9. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-normativa-n-26-de-22-de-maio-de-2020-258258627>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 27, de 11 de agosto de 2020. Altera a Resolução Normativa CTNBio no 22, de 31 de julho de 2019. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 12 ago. 2020d. p. 13. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-27-de-11-de-agosto-de-2020-271714613>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 28, de 10 de agosto de 2020. Dispõe s/ a classific. do nível de risco das ativ. econômicas sujeitas a atos públicos de liberação pela CTNBio, p/ fins da Lei nº 13.874, de 20/09/2019, regul. pelo Decreto nº 10.178, de 18/12/2019. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 13 ago. 2020e. p. 11. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-28-de-10-de-agosto-de-2020-271969878>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 29, de 12 de setembro de 2020. Dispõe sobre as normas para liberação planejada no meio ambiente (LPMA) de algodoeiro geneticamente modificado. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 15 set. 2020f. p. 12. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-29-de-12-de-setembro-de-2020-277429010>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 30, de 16 de setembro de 2020. Estabelece as condições de isolamento para a Liberação Planejada no Meio Ambiente (LPMA) de citros e afins geneticamente modificados. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 22 set. 2020g. p. 7. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-30-de-16-de-setembro-de-2020-278692212>. Acesso em: 7 jun. 2021.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBIO. Resolução Normativa nº 31, de 20 de novembro de 2020. Dispõe sobre o cadastramento das instituições detentoras de Certificado de Qualidade em Biossegurança - CQB no Sistema de Informações em Biossegurança - SIB. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Brasil, 23 nov. 2020h. p. 5. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-normativa-n-31-de-20-de-novembro-de-2020-289544513>. Acesso em: 7 jun. 2021.

CONCEIÇÃO-NETO, Orlando C.; AIRES, Caio A. M.; PEREIRA, Natacha F.; DA SILVA, Lívia H. J.; PICÃO, Renata C.; SIQUEIRA, Bibiana N.; ALBANO, Rodolpho M.; ASENSI, Marise D.; CARVALHO-ASSEF, Ana Paula D'A. Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene in clinical KPC-2-producing *Escherichia coli* isolates in Brazil. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 282–284, 2017. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.05.003. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857917301760>. Acesso em: 12 jun. 2018.

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**, [S. l.], v. 339, n. 6121, p. 819–823, 2013. DOI: 10.1126/science.1231143. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1231143>. Acesso em: 28 mar. 2018.

CORRÊA, Marilena V. O admirável Projeto Genoma Humano. **Physis - Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, p. 1–12, 2002. DOI: 10.1590/S0103-7331200200020000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-73312002000200006&lng=pt&tng=pt. Acesso em: 10 dezembro 2018.

COSTA, Everton de Brito Oliveira; PACHECO, Cristiane. Micro-RNAs: Perspectivas atuais da regulação da expressão gênica em eucariotos. **Biosaúde, Londrina**, [S. l.], 2012. Disponível em: http://www.uel.br/ccb/patologia/portal/pages/arquivos/Biosaude_v_14_2012/BS_14_2_2012_DF_26.pdf. Acesso em: 30 jul. 2018.

COURT OF JUSTICE OF THE EUROPEAN UNION. **Press release no 111/18.2018**. Disponível em: www.curia.europa.eu. Acesso em: 7 set. 2018.

COX, David Benjamin Turitz; PLATT, Randall Jeffrey; ZHANG, Feng. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. **Nature medicine**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 121–31, 2015. DOI: 10.1038/nm.3793. Disponível em: www.omim.org/statistics/geneMap. Acesso em: 18 ago. 2018.

CRUZ, Ivanéia Vasques. A Molécula da Vida. In: **Módulo II - Bases históricas e conceituais da genética unidade 6**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: http://profiva.dominiotemporario.com/doc/Genetica_A_Molecula_da_Vida.pdf. Acesso em: 10 junho 2018.

CTNBIO. Resolução Normativa nº 02, de 27 de novembro de 2016. 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. Brasil, 2006. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-2-de-27-de-novembro-de-2006?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 23 fev. 2018.

CTNBIO. **Parecer Técnico no 3964/2014** - Mosquito OXITEC. Brasília. Disponível em: http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial;jsessionid=31015B50F8D5339B3292E798928045C5.rima?p_p_id=110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=3&_110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU_struts_action=%2F.

CTNBIO - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Resolução Normativa Nº 13, de 10 de novembro de 2014. Estab. que liberações plan. de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench subsp bicolor) genet. modificado no meio amb. deverão ser implementadas observando-se as seg. cond. de isol.. **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio**, Brasília-DF, Brasil, 2014b. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-13-de-10-de-novembro-de-2014?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 7 jun. 2021.

CTNBIO. **Resolução Normativa nº 02, de 27 de novembro de 2006**. 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. Brasil, 2006. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-2-de-27-de-novembro-de-2006?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle. Acesso em: 23 fev. 2018.

CTNBIO. **Resolução Normativa nº 18, de 23 de março de 2018**. Brasil, 2018a. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-no-18-de-23-de-marco-de-2018?redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fresolucoes-normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p. Acesso em: 10 dezembro 2018.

CTNBIO. **Resolução nº 18, de 23 de março de 2018**. Brasília, Brasil, 2018b. Disponível em: http://ctnbio.mcti.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-no-23-de-03-de-outubro-de-2019;jsessionid=1363A4158D5613A55C5256ECD2D32DB3.columba?redirect=http%253A%252F%252Fctnbio.mcti.gov.br%252Fresolucoes-nor. Acesso em: 10 dezembro 2018.

CUNHA, Sandra Mara Gomes; VENÂNCIO, Lílian Silva; GUEDES, Fernanda Aires; FERREIRA, Leandro Vasconcelos; SILVA, Douglas Henrique Antunes. EPIGENÉTICA: ESTARIA LAMARCK CERTO? **60a Reunião Anual da SBPC 60a**, [S. l.], p. 4–5, 2016. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/60ra/resumos/resumos/R0379-1.html>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

CYRANOSKI, David. Ethics of embryo editing divides scientists. **Nature**, [S. l.], v. 519, n. 7543, p. 272–272, 2015. DOI: 10.1038/519272a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/519272a>. Acesso em: 9 maio 2018.

CYRANOSKI, David. Replications, ridicule and a recluse: The controversy over NgAgo gene-editing intensifies. **Nature**, 2016. DOI: 10.1038/536136a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/536136a>. Acesso em: 5 set. 2018.

D'OLIVEIRA, Renata. Doenças mitocondriais. In: XII CURSO BÁSICO DE DOENÇAS HEREDITÁRIAS DO METABOLISMO 2014, Coimbra. **Anais** [...]. Coimbra Disponível em: https://asic.pt/images/nova_pasta/casos_clinicos_2014/AP_13_XII_Curso_DHM_doencas_mitocondriais.pdf. Acesso em: 10 jul. 2018.

DARWIN, Charles. **A Origem das Espécies Através da Seleção Natural ou a Preservação das Raças Favorecidas na Luta Pela Sobrevivência**. 6. ed. Leça da Palmeira, Portugal: Planeta Vivo, 2009. v. 1 Disponível em: http://darwin-online.org.uk/converted/pdf/2009_OriginPortuguese_F2062.7.pdf. Acesso em: 27 mar. 2018.

DEANS, Carrie; MAGGERT, Keith A. What do you mean, “epigenetic”? **Genetics**, [S. l.], v. 199, n. 4, p. 887–96, 2015. DOI: 10.1534/genetics.114.173492. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855649>. Acesso em: 29 oct. 2018.

DEL CONT, Valdeir. Francis Galton: eugenia e hereditariedade. **Scientiae Studia**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 201–218, 2008. DOI: 10.1590/s1678-31662008000200004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-31662008000200004. Acesso em: 25 jul. 2018.

DELELLA, Flávia Karina; MOROZ, Andrei; CARVALHO, Francisco Robson; FELISBINO, Sérgio Luis. 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. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=H60UAAAACAAJ>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. **Manual de biossegurança do departamento de química**. Aveiro. v. 1 Disponível em: <https://www.ua.pt/ReadObject.aspx?obj=31954> Cached. Acesso em: 10 dezembro 2018.

DEWHIRST, Floyd E.; SHEN, Zeli; SCIMECA, Michael S.; STOKES, Lauren N.; BOUMENNA, Tahani; CHEN, Tsute; PASTER, Bruce J.; FOX, James G. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematics. **Journal of bacteriology**, [S. l.], v. 187, n. 17, p. 6106–18, 2005. DOI: 10.1128/JB.187.17.6106-6118.2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16109952>. Acesso em: 7 dez. 2018.

DICKEL, Diane E. *et al.* Ultraconserved Enhancers Are Required for Normal Development. **Cell**, [S. l.], v. 172, n. 3, p. 491–499.e15, 2018. DOI: 10.1016/j.cell.2017.12.017. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867417314976>. Acesso em: 9 mar. 2018.

DOBZHANSKY, Theodosius. Nothing in Biology Makes Sense Except in the Light of Evolution. **The American Biology Teacher**, [S. l.], v. 35, n. 3, p. 125–129, 1973. Disponível em: <http://abt.ucpress.edu/content/35/3/125>. Acesso em: 31 mar. 2018.

DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, [S. l.], v. 346, n. 6213, p. 1258096–1258096, 2014. DOI: 10.1126/science.1258096. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1258096>. Acesso em: 9 maio 2018.

DOUDNA, Jennifer. Perspective: Embryo editing needs scrutiny. **Nature**, [S. l.], v. 528, n. 7580, p. S6–S6, 2015. a. DOI: 10.1038/528S6a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/528S6a>. Acesso em: 9 maio 2018.

DOUDNA, Jennifer. Genome-editing revolution: My whirlwind year with CRISPR. **Nature**, [S. l.], v. 528, n. 7583, p. 469–471, 2015. b. DOI: 10.1038/528469a. Disponível em: <https://www.nature.com/news/genome-editing-revolution-my-whirlwind-year-with-crispr-1.19063>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

DUJON, Bernard. **Somos todos mutantes**. 2017. Disponível em: <http://diplomatie.org.br/somos-todos-mutantes/>. Acesso em: 14 mar. 2018.

DZAU, Victor J.; MCNUTT, Marcia; BAI, Chunli. Wake-up call from Hong Kong. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 362, n. 6420, p. 1215, 2018. DOI: 10.1126/science.aaw3127. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30545858>. Acesso em: 14 dez. 2018.

EDITORIAL NATURE. How to respond to CRISPR babies. **Nature**, [S. l.], v. 564, n. 7734, p. 5–5, 2018. DOI: 10.1038/d41586-018-07634-0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/d41586-018-07634-0>. Acesso em: 2 maio. 2019.

EID, Ayman; ALSHAREEF, Sahar; MAHFOUZ, Magdy M. CRISPR base editors: genome editing without double-stranded breaks. **Biochemical Journal**, [S. l.], v. 475, n. 11, p. 1955–1964, 2018. DOI: 10.1042/BCJ20170793. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BCJ20170793>. Acesso em: 26 out. 2018.

ENCODE PROJECT CONSORTIUM. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. **Nature**, [S. l.], v. 489, n. 7414, p. 57–74, 2012. DOI: 10.1038/nature11247. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nature11247>. Acesso em: 21 mar. 2018.

EPIGENOME NOE. **Epigenome NoE - Epigenome Network of Excellence**. 2004. 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**, [S. l.], v. 31, n. 11, p. 2952–2962, 2003. DOI: 10.1093/nar/gkg375. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC156710/pdf/gkg375.pdf>. Acesso em: 3 out. 2018.

EVANS, Benjamin R. *et al.* Transgenic *Aedes aegypti* Mosquitoes Transfer Genes into a Natural Population. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1–6, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-49660-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-49660-6>. Acesso em: 10 dezembro 2019.

EZKURDIA, lakes; JUAN, David; RODRIGUEZ, Jose Manuel; FRANKISH, Adam; DIEKHANS, Mark; HARROW, Jennifer; VAZQUEZ, Jesus; VALENCIA, Alfonso; TRESS, Michael L. Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19 000 human protein-coding genes. **Human Molecular Genetics**, [S. l.], v. 23, n. 22, p. 5866–5878, 2014. DOI: 10.1093/hmg/ddu309. Disponível em: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/ddu309>. Acesso em: 21 mar. 2018.

FACHIN, Patricia. **Uso de antimicrobianos na agropecuária e o retorno de doenças reemergentes - Entrevista especial com Arnildo Korb**. [s.l.] : UNISINOS, 2016.

FAINTUCH, Joel. Um futuro mais crispado (CRISPR/Cas 9). **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, [S. l.], v. d, n. 4, p. 269–270, 2015. Disponível em: <http://www.braspen.com.br/wp-content/uploads/2016/11/Editorial.pdf>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

FANTAPPIE, Marcelo. Epigenética e Memória Celular. **Revista Carbono**, [S. l.], n. 3, p. 1–5, 2013. Disponível em: <http://www.revistacarbono.com/wp-content/uploads/2013/06/Marcelo-Fantappie-Epigenetica-e-Memoria-Celular.pdf>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

FELIZARDO, Anderson Barbosa. **Críticas Atuais ao Neodarwinismo: A Ampliação da Janela Explicativa da Teoria Evolutiva Contemporânea**. 2006. Universidade Federal de Minas Gerais, [S.l.], 2006. Disponível em: http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=31875. Acesso em: 25 fev. 2021.

FERNANDES, Miriam 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**, [S. l.], v. 60, n. 10, p. 6415–6417, 2016. DOI: 10.1128/AAC.01325-16. Disponível em: <http://aac.asm.org/>. Acesso em: 12 jun. 2018.

FERRARELLI, Leslie K. Epigenetic ignition of melanoma. **Science Signaling**, [S. l.], v. 11, n. 521, p. eaat5334, 2018. DOI: 10.1126/scisignal.aat5334. Disponível em: <http://stke.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/scisignal.aat5334>. Acesso em: 13 mar. 2018.

FERREIRA, Ana *et al.* Sickle Hemoglobin Confers Tolerance to Plasmodium Infection. **Cell**, [S. l.], v. 145, p. 398–409, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.049. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/pdfExtended/S0092-8674\(11\)00384-9](https://www.cell.com/cell/pdfExtended/S0092-8674(11)00384-9). Acesso em: 3 set. 2018.

FERREIRA, Fabricio Alves. **DNA**. 2016. Disponível em: <http://brasilecola.uol.com.br/biologia/dna.htm>. Acesso em: 30 maio 2016.

FIOCRUZ. **Classificação de Risco**. 2017. Disponível em: http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab_virtual/classificacao-de-risco.htm.

FIORAVANTI, Carlos; PIVETTA, Marcos. Golpe no orgulho vão. **Pesquisa Fapesp**, [S. l.], 2001.

FISCHER, M. L. *et al.* Panorama da nutragenômica no Brasil sob a perspectiva da bioética. **Revista Latino-americana de Bioética**, 20(1), 27-48, 2020.

FRAGA, Mario F. *et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. **PNAS**, [S. l.], p. 10604–10609, 2005. Disponível em: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0500398102. Acesso em: 2 ago. 2018.

FRAZIER, Marvin E.; JOHNSON, Gary M.; THOMASSEN, David G.; OLIVER, Carl E.; PATRINOS, Aristides. Realizing the Potential of the Genome Revolution: The Genomes to Life Program. **Science**, [S. l.], v. 300, n. 5617, p. 290–293, 2003. DOI: 10.1126/science.1084566. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1084566>. Acesso em: 9 dez. 2018.

FREIRE, Diego. Pesquisadores mapeiam toda a população de microrganismos da cana de açúcar. **Agência FAPESP**, [S. l.], p. 2–4, 2016.

FREIRE, Diego. **Encontrada no Brasil bactéria resistente a um dos mais poderosos antibióticos**. 2017. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/encontrada-no-brasil-bacteria-resistente-a-um-dos-mais-poderosos-antibioticos/23749/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

FRIEDMANN, Theodore; JONLIN, Erica C.; KING, Nancy M. P.; TORBETT, Bruce E.; WIVEL, Nelson A.; KANEDA, Yasufumi; SADELAIN, Michel. ASGCT and JSGT Joint Position Statement on Human Genomic Editing. **Molecular Therapy**, [S. l.], v. 23, n. 8, p. 1282, 2015. DOI: 10.1038/mt.2015.118. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26227250>. Acesso em: 6 set. 2018.

FURTADO, R. N. Desafios éticos das tecnologias de melhoramento humano. **Kínesis**, v. IX, n. 20, p. 235-251, 2017.

FUTUYMA, Douglas Joel. **Biologia Evolutiva**. 2. ed. [s.l.: s.n.].

GAIA, A. F. V. **Teste Genético para a Doença de Huntington: Importância e implicações**. Tradução de: Genetic Testing for Huntington's Disease: Its Relevance and Implications. Associação Brasil Huntington (ABH), 2002

GAJ, Thomas; GERSBACH, Charles A.; BARBAS, Carlos F.; III. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. **Trends in biotechnology**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 397-405, 2013. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23664777>. Acesso em: 30 ago. 2018.

GANTZ, Valentino M.; BIER, Ethan. Genome editing. The mutagenic chain reaction: a method for converting heterozygous to homozygous mutations. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 348, n. 6233, p. 442-4, 2015. DOI: 10.1126/science.aaa5945. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25908821>. Acesso em: 4 set. 2018.

GANTZ, Valentino M.; JASINSKIENE, Nijole; TATARENKOVA, Olga; FAZEKAS, Aniko; MACIAS, Vanessa M.; BIER, Ethan; JAMES, Anthony A. 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**, [S. l.], v. 112, n. 49, p. E6736-43, 2015. DOI: 10.1073/pnas.1521077112. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26598698>. Acesso em: 19 set. 2018.

GEARING, Mary. **CRISPR 101: A Desktop Resource**. [s.l.: s.n.]. v. 2016 DOI: 10.1128/genomeA.00232-16. Disponível em: [https://cdn2.hubspot.net/hubfs/306096/CRISPR_101_ebook/2nd Edition/CRISPR 101 2nd Ed Final May 2018_2.pdf?_hssc=246494683.1.1530905381478 &hstc=246494683.96549719ea9e0ba9447fc7dec33ad5d8.1530905381477.1530905381477.1&_hsfp=3920527702&hsCt](https://cdn2.hubspot.net/hubfs/306096/CRISPR_101_ebook/2nd%20Edition/CRISPR_101_2nd%20Ed%20Final%20May%202018_2.pdf?_hssc=246494683.1.1530905381478&hstc=246494683.96549719ea9e0ba9447fc7dec33ad5d8.1530905381477.1530905381477.1&_hsfp=3920527702&hsCt). Acesso em: 10 dezembro 2018.

GEE, Henry. A journey into the genome: what's there. **Nature**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1038/news010215-3. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/news010215-3>. Acesso em: 27 jun. 2018.

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER. **Epigenetics & Inheritance**. 2013. Disponível em: <https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/inheritance/>. Acesso em: 3 ago. 2018.

GIGEK, Carolina de Oliveira. **Regulação epigenética no envelhecimento e no câncer gástrico**. 2011. Universidade Federal de São Paulo, [S. l.], 2011. Disponível em: <http://repositorio.unifesp.br/bitstream/11600/10020/25/Publico-12454a.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2018.

GODDE, James S.; BICKERTON, Amanda. The repetitive DNA elements called CRISPRs and their associated genes: Evidence of horizontal transfer among prokaryotes. **Journal of Molecular Evolution**, [S. l.], v. 62, n. 6, p. 718-729, 2006. DOI: 10.1007/s00239-005-0223-z.

GÓES, A. C. S.; OLIVEIRA, B. V. X. Projeto Genoma Humano: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista *Ciência Hoje*. **Ciênc. Educ.**, Bauru, v. 20, n. 3, p. 561-577, 2014.

GOULD, Stephen Jay. **O Polegar do Panda**. 2. ed. [s.l.: s.n.].

GOULD, Stephen Jay; VRBA, Elisabeth S. Exaptation - A Missing Term in the Science of Form. **Paleobiology Society**, [S. l.], v. 8, n. 81, p. 4–15, 1982. DOI: 0094-83 73/82/0801-0002. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2400563>. Acesso em: 16 abr. 2018.

GRAY, Michael W. Mitochondrial Evolution. **Science**, [S. l.], v. 283, n. 5407, p. 1476–1481, 1999. DOI: 10.1126/science.283.5407.1476. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3428767&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

GREER, Eric L.; MAURES, Travis J.; UCAR, Duygu; HAUSWIRTH, Anna G.; MANCINI, Elena; LIM, Jana P.; BENAYOUN, Bérénice A.; SHI, Yang; BRUNET, Anne. Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, [S. l.], v. 479, n. 7373, p. 365–371, 2011. DOI: 10.1038/nature10572. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nature10572>. Acesso em: 2 fev. 2018.

GREGORY, T. Ryan. **The evolution of the genome**. [s.l.] : Elsevier Academic, 2005. GRIFFITH, J. S. Nature of the Scrapie Agent: Self-replication and Scrapie. **Nature**, [S. l.], v. 215, n. 5105, p. 1043–1044, 1967. DOI: 10.1038/2151043a0. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/2151043a0>. Acesso em: 19 out. 2018.

GRIFFITHS, Anthony J. F.; MILLER, Jeffrey H.; SUZUKI, David T.; LEWONTIN, Richard C.; GELBART, William M. **Introdução à genética**. 7. ed. Rio de Janeiro. v. 1

GUERRERO, Cristina Vidal. **Edición génica en humanos - Análisis desde la bioética personalista**. 2018. Universidade Politécnica de Valência, [S. l.], 2018.

GUIMARÃES, Cesar. A política externa dos Estados Unidos: da primazia ao extremismo. **Estudos Avançados**, [S. l.], v. 16, n. 46, p. 53–67, 2002. DOI: 10.1590/S0103-40142002000300005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142002000300005&lng=pt&tng=pt. Acesso em: 11 set. 2018.

GYLLENSTEN, Ulf; WHARTON, Dan; JOSEFSSON, Agneta; WILSON, Allan C. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. **Nature**, [S. l.], v. 352, n. 6332, p. 255–257, 1991. DOI: 10.1038/352255a0. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1857422>. Acesso em: 12 jul. 2018.

HACEIN-BEY-ABINA, Salima *et al.* Sustained Correction of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency by ex Vivo Gene Therapy. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 346, n. 16, p. 1185–1193, 2002. DOI: 10.1056/NEJMoa012616. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa012616>. Acesso em: 8 set. 2018.

HACEIN-BEY-ABINA, Salima *et al.* A Serious Adverse Event after Successful Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 348, n. 3, p. 255–256, 2003. DOI: 10.1056/NEJM200301163480314. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM200301163480314>. Acesso em: 4 set. 2018.

HAFT, Daniel H.; SELENGUT, Jeremy; MONGODIN, Emmanuel F.; NELSON, Karen E. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/cas subtypes exist in prokaryotic genomes. **PLoS Computational Biology**, [S. l.], v. 1, n. 6, p. 0474–0483, 2005. DOI: 10.1371/journal.pcbi.0010060.

HAGA, S. B. *et al.* Public knowledge of and attitudes toward genetics and genetic testing. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 17, n. 4, p. 327–335, 2013.

HAITES, Neva; LOVELL-BADGE, Robin. Scientific review of the safety and efficacy of methods to avoid mitochondrial disease through assisted conception. **Review Literature And Arts Of The Americas**, [S. l.], n. April, p. 45, 2011. Disponível em: <https://www.hfea.gov.uk/media/2613/scientific-review-of-the-safety-and-efficacy-of-methods-to-avoid-mitochondrial-disease-through-assisted-conception.pdf>. Acesso em: 18 set. 2018.

HAMMOND, Andrew *et al.* A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. **Nature Biotechnology**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1038/nbt.3439.

HARRISON, Melissa M.; JENKINS, Brian V.; O'CONNOR-GILES, Kate M.; WILDONGER, Jill. A CRISPR view of development. **Genes & Development**, [S. l.], v. 28, n. 17, p. 1859–1872, 2014. DOI: 10.1101/gad.248252.114. Disponível em: <http://genesdev.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gad.248252.114>. Acesso em: 28 mar. 2018.

HAYDEN, Erika Check. Tomorrow's children. **Nature**, [S. l.], v. 530, n. 7591, p. 402–405, 2016. DOI: 10.1038/530402a.

HEBMÜLLER, Paulo. **Pesquisadores discutem ganhos e riscos da alteração do DNA humano**. 2016. Disponível em: <http://www5.usp.br/90912/pesquisadores?discutem?ganhos?e?riscos?da?alteracao?do?dna?humano/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

HEITMAN, Elizabeth; SAWYER, Keegan; COLLINS, James P. Gene Drives on the Horizon. **Applied Biosafety**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 173–176, 2016. DOI: 10.1177/1535676016672631. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1535676016672631>. Acesso em: 2 maio 2018.

HESS, Jon E.; ZENDT, Joseph S.; MATALA, Amanda R.; NARUM, Shawn R. Genetic basis of adult migration timing in anadromous steelhead discovered through multivariate association testing. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 283, n. 1830, p. 20153064, 2016. DOI: 10.1098/rspb.2015.3064. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27170720>. Acesso em: 26 jun. 2018.

HSU, Patrick D.; LANDER, Eric S.; ZHANG, Feng. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. **Cell**, [S. l.], v. 157, n. 6, p. 1262–78, 2014. DOI: 10.1016/j.cell.2014.05.010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24906146>. Acesso em: 28 mar. 2018.

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/PUCPR/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. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002332/233258e.pdf>. Acesso em: 20 set. 2018.

ICGC. **International Cancer Genome Consortium - ICGC**. 2011. Disponível em: <https://icgc.org/>. Acesso em: 8 ago. 2018.

IHEC. **International Human Epigenome Consortium - IHEC**. 2010. Disponível em: <http://ihec-epigenomes.org/about/ihec-countries/>. Acesso em: 8 ago. 2018.

INTERNATIONAL BIOETHICS COMMITTEE. **Report of the IBC on updating its reflection on the Human Genome and Human Rights**. Paris. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002332/233258E.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2018.

ISHINO, Yoshizumi; SHINAGAWA, Hideo; MAKINO, Kozo; AMEMURA, Mitsuko; NAKATA, Atsuo. 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, Eva. **Epigenetics in Evolution with Dr Eva Jablonka**, 2011. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=o7ckZ7SmfE>. Acesso em: 2 fev. 2018.

JABLONKA, Eva. The evolutionary implications of epigenetic inheritance. **Interface Focus**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 20160135, 2017. DOI: 10.1098/rsfs.2016.0135. Disponível em: <http://rsfs.royalsocietypublishing.org/lookup/doi/10.1098/rsfs.2016.0135>. Acesso em: 8 ago. 2018.

JABLONKA, Eva; LAMB, Marion J. The inheritance of acquired epigenetic variations. **Journal of Theoretical Biology**, [S. l.], v. 139, n. 1, p. 69–83, 1989. DOI: 10.1016/S0022-5193(89)80058-X. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002251938980058X?via%3Dihub>. Acesso em: 26 abr. 2018.

JINEK, Martin; CHYLINSKI, Krzysztof; FONFARA, Ines; HAUER, Michael; DOUDNA, Jennifer A.; CHARPENTIER, Emmanuelle. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. **Science**, [S. l.], v. 337, n. 6096, p. 816–821, 2012. DOI: 10.1126/science.1225829. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1225829>. Acesso em: 16 fev. 2018.

JOHANNES, F.; PORCHER, E.; TEIXEIRA, F. K.; SALIBA-COLOMBANI, V.; SIMON, M. Assessing the Impact of Transgenerational Epigenetic Variation on Complex Traits. **PLoS Genet**, [S. l.], v. 5, n. 6, p. 1000530, 2009. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000530. Disponível em: www.plosgenetics.org. Acesso em: 3 ago. 2018.

JONAS, H. **O Princípio Responsabilidade**: ensaio de uma ética para uma civilização tecnológica. Rio de Janeiro: PUC Rio, 2006.

JONAS, Hans. **O princípio responsabilidade - Ensaio de uma ética para a civilização tecnológica**. Rio de Janeiro: Contraponto, 2006.

KESSELRING, Thomas. O conceito de Natureza na História do Pensamento Ocidental. **Episteme**, Porto Alegre, v. 785, n. 11, p. 153–172, 2000. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/135326>. Acesso em: 25 fev. 2021.

KHALILI, Kamel; KAMINSKI, Rafal; GORDON, Jennifer; COSENTINO, Laura; HU, Wenhui. Genome editing strategies: potential tools for eradicating HIV-1/AIDS. **Journal of neurovirology**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 310–21, 2015. DOI: 10.1007/s13365-014-0308-9. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25716921>. Acesso em: 9 set. 2018.

KOMOR, Alexis C.; KIM, Yongjoo B.; PACKER, Michael S.; ZURIS, John A.; LIU, David R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage HHS Public Access. **Nature**, [S. l.], v. 533, n. 7603, p. 420–424, 2016. DOI: 10.1038/nature17946. Disponível em: www.nature.com/nature. Acesso em: 8 set. 2018.

KOONIN, Eugene V; MAKAROVA, Kira S. CRISPR-Cas: evolution of an RNA-based adaptive immunity system in prokaryotes. **RNA biology**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 679–86, 2013. DOI: 10.4161/rna.24022. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23439366>. Acesso em: 2 set. 2018.

KOSICKI, Michael; TOMBERG, Kärt; BRADLEY, Allan. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR–Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 765–771, 2018. DOI: 10.1038/nbt.4192. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nbt.4192>. Acesso em: 6 ago. 2018.

KUIKEN, Todd. Governance: Learn from DIY biologists. **Nature**, [S. l.], v. 531, n. 7593, p. 167–168, 2016. DOI: 10.1038/531167a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/531167a>. Acesso em: 2 jul. 2018.

LACADENA, Juan-Ramón. Edición genómica: ciencia y ética. **Revista Iberoamericana de Bioética**, [S. l.], v. 0, n. 3, p. 1, 2017. DOI: 10.14422/rib.i03.y2017.004. Disponível em: <http://revistas.upcomillas.es/index.php/bioetica-revista-iberoamericana/article/view/7665>. Acesso em: 25 fev. 2021.

LAFONTAINE, Justin S.; FATHE, Kristin; SMYTH, Hugh D. C. Delivery and therapeutic applications of gene editing technologies ZFNs, TALENs, and CRISPR/Cas9. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 494, n. 1, p. 180–194, 2015. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.08.029. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26278489>. Acesso em: 18 ago. 2018.

LANDER, Eric S. The Heroes of CRISPR. **Cell**, [S. l.], v. 164, n. 1–2, p. 18–28, 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.041. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26771483>. Acesso em: 11 abr. 2018.

LANDER, Noelia; CHIURILLO, Miguel A.; DOCAMPO, Roberto. Genome Editing by CRISPR/Cas9: A Game Change in the Genetic Manipulation of Protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, [S. l.], v. 63, n. 5, p. 679–690, 2016. DOI: 10.1111/jeu.12338. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jeu.12338>. Acesso em: 16 fev. 2018.

LANGELIER, Chaz. A molecular warning system for invasive pneumococcus. **Science Translational Medicine**, [S. l.], v. 10, n. 446, p. eaau0470, 2018. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau0470. Disponível em: <http://stm.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/scitranslmed.aau0470>. Acesso em: 20 jun. 2018.

LANGIN, Katie. Salmon spawn fierce debate over protecting endangered species, thanks to a single gene. **Science**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1126/science.aau0709. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/05/salmon-spawn-fierce-debate-over-protecting-endangered-species-thanks-single-gene>. Acesso em: 7 maio 2018.

LANPHIER, Edward; URNOV, Fyodor D.; EHLEN, Sarah Haecker; WERNER, Michael; SMOLENSKI, Joanna. Don't edit the human germ line. **Nature**, [S. l.], v. 519, n. March, p. 410–411, 2015. Disponível em: <http://www.nature.com/news/don-t-edit-the-human-germ-line-1.17111>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

LEA, D. H. *et al.* Communicating genetic and genomic information: health literacy and numeracy considerations. **Public health genomics**, v. 14, n. 4-5, p. 279-289, 2011.

LEAKEY, Richard. **A Origem da Espécie Humana**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Rocco Ltda, 1997. v. 1.

LEDFORD, Heidi. CRISPR, the disruptor. **Nature**, [S. l.], v. 522, n. 7554, p. 20–24, 2015. a. DOI: 10.1038/522020a. Disponível em: <https://www.nature.com/news/crispr-the-disruptor-1.17673>. Acesso em: 25 fev. 2021.

LEDFORD, Heidi. Where in the world could the first CRISPR baby be born? **Nature**, [S. l.], v. 526, n. 7573, p. 310–311, 2015. b. DOI: 10.1038/526310a. Disponível em: <https://www.nature.com/news/where-in-the-world-could-the-first-crispr-baby-be-born-1.18542>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

LEDFORD, Heidi. CRISPR: gene editing is just the beginning. **Nature**, [S. l.], v. 531, n. 7593, p. 156–159, 2016. a. DOI: 10.1038/531156a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/531156a>. Acesso em: 22 mar. 2018.

LEDFORD, Heidi. Beyond CRISPR: A guide to the many other ways to edit a genome. **Nature**, [S. l.], v. 536, n. 7615, p. 136–137, 2016. b. DOI: 10.1038/536136b. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/536136b>. Acesso em: 28 mar. 2018.

LEE, Rosalind C.; FEINBAUM, Rhonda L.; AMBROST, Victor. **The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14***. [s.l.: s.n.]. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(93\)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(93)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 1 ago. 2018.

LEITE, Marcelo. Retórica determinista no genoma humano. **Scientiae Studia - Revista Latino-Americana de Filosofia e História da Ciência**, [S. l.], v. 4, p. 421–452, 2006. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/ss/article/view/11082/12850>.

LEWONTIN, R. C. In the Beginning Was the Word. **Science**, [S. l.], v. 291, n. 5507, p. 1263–1264, 2001. DOI: 10.1126/science.1057124. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1057124>. Acesso em: 22 maio 2018.

LI, Na *et al.* Interaction Between Nano-Anatase TiO₂ and Liver DNA from Mice In Vivo. **Nanoscale Research Letters**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 108–115, 2010. DOI: 10.1007/s11671-009-9451-2. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2893935/pdf/1556-276X-5-108.pdf>. Acesso em: 9 dez. 2018.

LIANG, Puping *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. **Protein & Cell**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 363–372, 2015. a. DOI: 10.1007/s13238-015-0153-5. Disponível em: <http://crispr.mit.edu/>. Acesso em: 8 set. 2018.

LIANG, Puping *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. **Protein & Cell**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 363–372, 2015. b. DOI: 10.1007/s13238-015-0153-5. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs13238-015-0153-5.pdf>. Acesso em: 7 fev. 2018.

- LIANG, Puping *et al.* Correction of β -thalassemia mutant by base editor in human embryos. **Protein & Cell**, [S. l.], v. 8, n. 11, p. 811–822, 2017. DOI: 10.1007/s13238-017-0475-6. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13238-017-0475-6>. Acesso em: 15 fev. 2018.
- LILLIE, S. E. *et al.* Retention and use of breast cancer recurrence risk information from genomic tests: the role of health literacy. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 16, n. 2, p. 249-255, 2007.
- LISTIK, Eduardo; CARMO; VIEGAS, Ana Carolina. As Características dos Mecanismos e Sistemas de Edição Genômica. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, [S. l.], 2017. Disponível em: http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao_10_Listik_Eduardo.pdf. Acesso em: 18 ago. 2018.
- LISTON, Conor. An epigenetic target for autism. **Science Translational Medicine**, [S. l.], v. 10, n. 437, p. eaat4476, 2018. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat4476. Disponível em: <http://stm.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/scitranslmed.aat4476>. Acesso em: 18 abr. 2018.
- LOURENÇO, Ana Margarida Martins Gonçalves. **Imunidade Celular: Caracterização das Proteínas Celulares que Inibem a Infecção Viral**. 2016. Instituto Superior De Ciências Da Saúde Egas Moniz, [S. l.], 2016. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/14475>. Acesso em: 10 dezembro 2018.
- LOURO, Maria Henriqueta Dias Lourenço Garcia. **Nanomateriais manufacturados: avaliação de segurança através da caracterização dos seus efeitos genéticos**. 2013a. Universidade Nova de Lisboa, [S. l.], 2013. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10362/17258>. Acesso em: 25 fev. 2021.
- LOURO, Maria Henriqueta Dias Lourenço Garcia. **Nanomateriais manufacturados: avaliação de segurança através da caracterização dos seus efeitos genéticos**. 2013b. Universidade Nova de Lisboa, [S. l.], 2013.
- MA, Hong *et al.* Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. **Nature**, [S. l.], v. 548, n. 7668, p. 413–419, 2017. DOI: 10.1038/nature23305. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature23305>. Acesso em: 16 mar. 2018.
- MADDALO, Danilo *et al.* In vivo engineering of oncogenic chromosomal rearrangements with the CRISPR/Cas9 system. **Nature**, [S. l.], v. 516, n. 7531, p. 423–7, 2014. DOI: 10.1038/nature13902. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25337876>. Acesso em: 21 set. 2018.
- MAEDER, Morgan L.; GERSBACH, Charles A. Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. **Molecular Therapy**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 430–446, 2016. DOI: 10.1038/mt.2016.10. Disponível em: www.moleculartherapy.org. Acesso em: 22 ago. 2018.
- MAIA, Antonio Carlos do Amaral. **Criacionismo e o conceito de design inteligente**. 2007. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/94835997/Criacionismo-Design-Antonio-Maia>. Acesso em: 10 dezembro 2018.
- MAKAROVA, Kira S.; GRISHIN, Nick V.; SHABALINA, Svetlana A.; WOLF, Yuri I.; KOONIN, Eugene V. 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**, [S. l.], v. 1, p. 7, 2006. DOI: 10.1186/1745-6150-1-7. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16545108>. Acesso em: 7 dez. 2018.

Marks e Comproesi (2016).

MARI-ALEXANDRE, Josep; DIAZ-LAGARES, Angel; VILLALBA, Maria; JUAN, Oscar; CRUJEIRAS, Ana B.; CALVO, Alfonso; SANDOVAL, Juan. Translating cancer epigenomics into the clinic: focus on lung cancer. **Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine**, [S. l.], v. 189, p. 76–92, 2017. DOI: 10.1016/j.trsl.2017.05.008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28644958>. Acesso em: 25 abr. 2018.

MÁRQUEZ, Gabriel García. El cataclismo de Damocles. **Conferencia de Ixtapa, México, 1986**, [S. l.], 1986. Disponível em: <http://www.mounier.es/revista/pdfs/066005006.pdf>. Acesso em: 25 out. 2018.

MARTINS, Ana Silva. Tipos de Mutações. **Mutações e Oncogênese**. [S. l.], p. 1–8, 2016.

MATHEWS, Debra J. H.; CHAN, Sarah; DONOVAN, Peter J.; DOUGLAS, Thomas; GYNGELL, Christopher; HARRIS, John; REGENBERG, Alan; LOVELL-BADGE, Robin. CRISPR: A path through the thicket. **Nature**, [S. l.], v. 527, n. 7577, p. 159–161, 2015. DOI: 10.1038/527159a.

MATSUYAMA, Bruno Y.; KRASTEVA, Petya V.; BARAQUET, Claudine; HARWOOD, Caroline S.; SONDERMANN, Holger; NAVARRO, Marcos V. A. S.; BUCK, Martin; STOCK, Ann M. Mechanistic insights into c-di-GMP-dependent control of the biofilm regulator FleQ from *Pseudomonas aeruginosa*. **PNAS**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1073/pnas.1523148113. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/pnas/113/2/E209.full.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2018.

MAXMEN, Amy. ‘Dark matter’ DNA influences brain development. **Nature**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1038/d41586-018-00920-x. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/d41586-018-00920-x>. Acesso em: 9 mar. 2018.

MAYR, Ernst. A Teoria Sintética da Evolução - A Segunda Revolução Darwiniana. **Faculdade de Medicina - Universidade do Chile**, Chile, 1993. Disponível em: <http://docencia.med.uchile.cl/evolucion/textos/mayr93-extract3.htm>. Acesso em: 30 mar. 2018.

MCFARLAND, Robert; TAYLOR, Robert W.; TURNBULL, Douglass M. The neurology of mitochondrial DNA disease. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 1, n. 6, p. 343–351, 2002. DOI: 10.1016/S1474-4422(02)00159-X. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S147444220200159X>. Acesso em: 9 dez. 2018.

MCINERNEY, J. D. Education in a genomic world. **The Journal of medicine and philosophy**, v. 27, n. 3, p. 369-390, 2002.

MENDES, Gilmar. AÇÃO CAUTELAR - AC 2436 PRSupremo Tribunal Federal, Brasil, 2009. 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. Portaria Normativa nº 585/MD, de 7 de março de 2013. Aprova as Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica do Ministério da Defesa. **Diário Oficial da União**, Brasília, Brasil, 11 mar. 2013. p. 47. Disponível em: http://www.ime.br/arquivos/teses/se4/mec2010/Pedro_B_Dissert.pdf. Acesso em: 10 dezembro 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos**. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/agentes_biologicos.pdf%5Cnhhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Agentes+biol?gic#6. Acesso em: 10 dezembro 2018.

MINNICH, Scott A.; MEYER, Stephen C. Genetic analysis of coordinate flagellar and type III regulatory circuits in pathogenic bacteria. **Center for Science and Culture - Discovery Institute**, Seattle, p. 10, 2004. Disponível em: <http://www.discovery.org/scripts/viewDB/filesDB-download.php?id=389>. Acesso em: 26 mar. 2018.

MO, Otieno. CRISPR-Cas9 Human Genome Editing: Challenges, Ethical Concerns and Implications. **Journal of Clinical Research & Bioethics**, [S. l.], v. 06, n. 06, p. 5–7, 2015. DOI: 10.4172/2155-9627.1000253. Disponível em: <https://www.omicsonline.org/open-access/crisprcas9-human-genome-editing-challenges-ethical-concerns-and-implications-2155-9627-1000253.php?aid=65337>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

MOLOGNONI, Fernanda. **EPIGENÉTICA**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: https://www.ime.usp.br/posbioinfo/cv2012/epigenetica_FernandaMolognoni.pdf. Acesso em: 10 dezembro 2018.

MOON, Peter. **Pesquisa analisa dispersão de parasitas por aves nas Américas**. 2017. Disponível em: <https://agencia.fapesp.br/pesquisa-analisa-dispersao-de-parasitas-por-aves-nas-americas/24707/>. Acesso em: 22 fev. 2017.

MORA, Camilo; TITTENSOR, Derek P.; ADL, Sina; SIMPSON, Alastair G. B.; WORM, Boris. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? **PLoS Biology**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. e1001127, 2011. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001127. Disponível em: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.1001127>. Acesso em: 20 mar. 2018.

MORIN, Edgar. Teses sobre a ciência e a ética. In: **Ciência com consciência**. [s.l.: s.n.]. p. 125–133.

MOURA, Quêzia; FERNANDES, Miriam R.; CERDEIRA, Louise; IENNE, Susan; SOUZA, Tiago A.; NEGRÃO, Fábio Juliano; LINCOPAN, Nilton. 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**, [S. l.], v. 8, p. 67–69, 2017. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.10.011. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S2213716516301394/1-s2.0-S2213716516301394-main.pdf?_tid=f482c477-9934-412b-845d-8b4b9f56f892&acdnat=1528830728_250e0497a3c0a31276913392a1395695. Acesso em: 12 jun. 2018.

MULLER, Henrique Reichmann; PRADO, Karin Braun. Epigenética: um novo campo da genética. **RUBS**, [S. l.], n. 3, p. 61–69, 2008. Disponível em: http://www.colegiogregoremendel.com.br/gm_colegio/pdf/2012/textos/3ano/biologia/8.pdf. Acesso em: 23 jul. 2018.

MULLIN, Emily. **CRISPR in 2018: Coming to a Human Near You** - MIT Technology Review. 2017. Disponível em: <https://www.technologyreview.com/s/609722/crispr-in-2018-coming-to-a-human-near-you/>. Acesso em: 27 abr. 2018.

NABAIS, Ana Teresa Gaspar. **Técnicas de edição de genoma como abordagem promissora na terapia gênica**. 2015a. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, [S. l.], 2015. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/10973>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

NABAIS, Ana Teresa Gaspar. **Técnicas de edição de genoma como abordagem promissora na terapia gênica**. 2015b. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, [S. l.], 2015. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/10973>.

NASCIMENTO, Tatiane; CANTAMESSA, Rodrigo; MELO, Luana; FERNANDES, Miriam R.; FRAGA, Edmir; DROPA, Milena; SATO, Maria I. Z.; CERDEIRA, Louise; LINCOPAN, Nilton. 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**, [S. l.], v. 598, p. 910–915, 2017. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.207. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717307283>. Acesso em: 12 jun. 2018.

NASSEH, Ibrahim E.; TENGAN, Célia H.; KIYOMOTO, Beatriz H.; GABBAI, Alberto Alain. Doenças Mitocondriais. **Rev. Neurociências**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 60–69, 2001. Disponível em: https://www.revistaneurociencias.com.br/edicoes/2001/RN_09_02/Pages/from_RN_09_02-4.pdf. Acesso em: 6 jul. 2018.

NETO, João Ronaldo Tavares de Vasconcellos. **Introdução a Biologia Molecular Objetivos**, 2012. NOHAMA *et al.* O impacto ambiental da edição genética no Brasil: uma abordagem a partir da Bioética Global. **Temáticas**, v. 29, n. 58, p. 13-48, 2021.

NOHAMA, Norton; SILVA, Jefferson Soares Da; SIMÃO-SILVA, Daiane Priscila. Os impactos ambientais da tecnologia de edição genética, não importam? *In*: MOURA, Railson (ed.). **Bioética, Saúde Global e Meio Ambiente** / Caroline Filla Rosaneli, Marta Luciane Fischer (organizadoras). (Série Bio ed. Curitiba: EDITORA CRV, 2021. p. 187–211. DOI: 10.24824/978652510928.2. Disponível em: <https://www.editoracrv.com.br/produtos/detalhes/36228-crv>. Acesso em: 10 dezembro 2021.

NIHONGAKI, Yuta; YAMAMOTO, Shun; KAWANO, Fuun; SUZUKI, Hideyuki; SATO, Moritoshi. CRISPR-Cas9-based Photoactivatable Transcription System. **Chemistry & Biology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 169–174, 2015. DOI: 10.1016/j.chembiol.2014.12.011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25619936>. Acesso em: 30 ago. 2018.

NIU, Yuyu *et al.* **Generation of Gene-Modified Cynomolgus Monkey via Cas9/RNA-Mediated Gene Targeting in One-Cell Embryos**. [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.cell.2014.01.027. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.027>. Acesso em: 10 ago. 2017.

NORMILE, Dennis. For China, a CRISPR first goes too far. **Science**, [S. l.], v. 362, n. 6419, p. 1091–1091, 2018. DOI: 10.1126/science.362.6419.1091. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.362.6419.1091>. Acesso em: 9 dez. 2018.

O'GEEN, Henriette; REN, Chonghua; NICOLET, Charles M.; PEREZ, Andrew A.; HALMAI, Julian; LE, Victoria M.; MACKAY, Joel P.; FARNHAM, Peggy J.; SEGAL, David J. dCas9-based epigenome editing suggests acquisition of histone methylation is not sufficient for target gene repression. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 45, n. 17, p. 9901–9916, 2017. DOI: 10.1093/nar/gkx578. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28973434>. Acesso em: 3 out. 2018.

OEA-CORTE INTERAMERICANA DE DIREITOS HUMANOS. OEA-CIDH - Caso Gomes Lund e outros - Sentença de 24/12/20102010. p. 126.

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). Demanda perante a Corte Interamericana de Direitos Humanos Caso 11.552 Julia Gomes Lund e outros (Guerrilha do Araguaia) Contra a República Federativa do Brasil. Washington, 2009. p. 87. Disponível em: http://cevig.com.br/wp-content/uploads/2017/09/memorial_audiencia_publica-CIDH_162_periodo_de_sessoes.pdf.

OHNO, Susumo. **Ohno “Junk” DNA paper in full, 1972**, 2012. Disponível em: <http://www.junkdna.com/ohno.html>. Acesso em: 29 out. 2018.

OJOPI, Elida P. Benquique; REGORIO, S. Heila P. Assos G.; GUIMARÃES, Pedro Edson Moreira; FRIDMAN, Cintia; NETO, Emmanuel Dias. O genoma humano e as perspectivas para o estudo da esquizofrenia. **Revista de Psiquiatria Clínica**, [S. l.], v. 31, n. 11, p. 9–18, 2004. DOI: 10.1590/S0101-60832004000100003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-60832004000100003&script=sci_arttext. Acesso em: 10 dezembro 2018.

OLIVEIRA, ALINE ALBUQUERQUE SANTANA 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. Disponível em: http://www.sbbioetica.org.br/uploads/repositorio/2017_11_29/Anais-com-ISBN-e-FICHA-CATALOGRAFICA-do-Congresso.pdf. Acesso em: 10 dezembro 2018.

OLIVEIRA, Marcelo Nagem Valério De. **Archaea como componentes da microbiota endofítica de frutos do cafeeiro**. 2009. Universidade Federal de Viçosa, [S. l.], 2009. Disponível em: <http://www.sbbioetica.org.br/bitstream/handle/123456789/307/226127f.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 4 set. 2018.

OIT (Organização Internacional do Trabalho). **2021: International Year for the Elimination of Child Labour**. 15 de janeiro de 2021. Disponível em: https://www.ilo.org/global/about-the-ilo/newsroom/news/WCMS_766351/lang-en/index.htm. Acesso em: 27 abr. 2022.

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. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj8.pdf>. Acesso em: 8 dez. 2018.

OMS. **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. No dia 10 de dezembro de 1948, a Assembléia Geral das Nações Unidas adotou e proclamou a Declaração Universal dos Direitos Humanos cujo texto, na íntegra, pode ser lido a seguir. Logo após, a Assembléia Geral solicitou a todos os Países -Membros que publicassem o texto da Declaração " para que ele fosse divulgado, mostrado, lido e explicado, principalmente nas escolas e em outras instituições educacionais, sem distinção nenhuma baseada na situação política ou econômica dos Países ou Estados. " **DECLARAÇÃO UNIVERSAL DOS DIREITOS HUMANOS** Preâmbulo Considerando que o reconhecimento da dignidade inerente a todos os membros da família humana e de seus direitos iguais e inalienáveis é o fundamento da liberdade, da justiça e da paz no mundo, Considerando que o desprezo e o desrespeito pelos direitos humanos resultaram em atos bárbaros que ultrajaram a consciência da Humanidade e que o advento de um mundo em que os todos gozem de liberdade de palavra, de crença e da liberdade de viverem a salvo do temor e da necessidade foi proclamado como a mais alta aspiração do ser humano comum, Considerando ser essencial que os direitos humanos sejam protegidos pelo império da lei, para que o ser humano não seja compelido, como último recurso, à rebelião contra a tirania e a opressão,. 1948. Disponível em: <http://www.onu.org.br/img/2014/09/DUDH.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2018.

ONU. **Tráfico humano é um dos principais negócios ilegais na Europa**. 2010. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/trafico-humano-e-um-dos-principais-negocios-ilegais-na-europa/>. Acesso em: 3 jun. 2016.

ONU. **No primeiro Dia Internacional contra o Tráfico de Pessoas, ONU pede fim da exploração de vidas humanas _ ONU Brasil.pdf**. 2014. 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.

ONU. **After Ebola outbreak, expert panel urges 'unified entity' within UN health agency for emergency response**. 2015a. 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. 2018.

ONU. **After missteps on Ebola, WHO must re-establish itself as “guardian of global public health”**. 2015b. 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. 2018.

ONU. **Assembleia Geral da ONU proclama Década de Ação sobre Nutrição (2016-2025)** . 2016a. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/assembleia-geral-da-onu-proclama-decada-de-acao-sobre-nutricao-2016-2025/>. Acesso em: 21 jun. 2016.

ONU. **Em visita à ONU , Papa Francisco pede maior compromisso com a luta por Fome Zero**. 2016b. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/em-visita-a-onu-papa-francisco-pede-maior-compromisso-com-a-luta-por-fome-zero/>. Acesso em: 21 jun. 2016.

ONU. **Em Dia Mundial, ONU lembra que milhões de mulheres , homens e crianças são traficados por dinheiro**. 2016c. 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. 2016.

ONU. **ONU: paralisia política agrava crise de refugiados e prejudica trabalho de organizações humanitárias**. 2016d. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/onu-paralisia-politica-agrava-crise-de-refugiados-e-prejudica-trabalho-de-organizacoes-humanitarias/>. Acesso em: 21 jun. 2016.

ONU - **ACNUR. Trends at a Glance - 2015 in Reiew - Global leader on statistics on refugees**. 2015. Disponível em: <http://www.unhcr.org/576408cd7>. Acesso em: 6 fev. 2018.

ONU - ACNUR. **ACNUR**: Deslocamento forçado atinge recorde global e afeta 65,3 milhões de pessoas. 2016. 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**. 2010. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/trafico-humano-e-um-dos-principais-negocios-ilegais-na-europa/>. Acesso em: 3 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **Formas de erradicar a tortura e os maus tratos na América Latina e no Caribe em discussão em Santiago**. 2011. 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.

ONU - BRASIL. **Ebola**: ONU declara que surto 'sem precedentes' é uma ameaça à paz e à segurança internacionais. 2014. 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.

ONU - BRASIL. **Dois vacinas contra o ebola mostram 'segurança aceitável', anuncia OMS**. 2015a. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/dois-vacinas-contra-o-ebola-mostram-seguranca-aceitavel-anuncia-oms/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **OMS deve restabelecer seu papel na saúde pública global após atrasos na resposta ao ebola, afirma relatório**. 2015b. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-deve-restabelecer-seu-papel-na-saude-publica-global-apos-atrasos-na-resposta-ebola/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **Após surto de ebola, especialistas pedem departamento especial na OMS para emergências**. 2015c. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/apos-o-surto-de-ebola-especialistas-pedem-divisao-dedicada-na-oms-para-responder-a-emergencias/>.

ONU - BRASIL. **UNAIDS**: 17 milhões de pessoas vivendo com HIV tiveram acesso a tratamento antirretroviral em 2015 Apesar de avanços, prevenção do HIV está perdendo. 2016a. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/unaid-17-milhoes-de-pessoas-vivendo-com-hiv-tiveram-acesso-a-tratamento-antirretroviral-em-2015/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

ONU - BRASIL. **CEPAL pede 'equação renovada' entre Estado, mercado e sociedade**. 2016b. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/cepal-pede-equacao-renovada-entre-estado-mercado-e-sociedade/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **ONU alerta para aumento de mortes de refugiados e migrantes no Mediterrâneo**. 2016c. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/onu-alerta-para-aumento-de-mortes-de-refugiados-e-migrantes-no-mediterraneo/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **ONU alerta**: 230 milhões de crianças vivem em áreas de conflito armado em todo o mundo. 2016d. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/onu-alerta-230-milhoes-de-criancas-vivem-em-areas-de-conflito-armado-pelo-mundo/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **Quatro escolas ou hospitais são atacados ou ocupados por dia em zonas de crise**, alerta. 2016e. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/quatro-escolas-ou-hospitais-sao-atacados-ou-ocupados-por-dia-em-zonas-de-criese-alerta-unicef/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **Brasil: a cada 6 horas uma mulher é assassinada por um agressor conhecido, alerta ONU Mulheres.** 2016f. 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. 2016.

ONU - BRASIL. **Brasil: UNICEF pede 'tolerância zero' à violência contra crianças e adolescentes.** 2016g. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/brasil-unicef-pede-tolerancia-zero-a-violencia-contra-criancas-e-adolescentes/>.

ONU - BRASIL. **OMS envia especialistas para evitar retorno do ebola na Guiné.** 2016h. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-envia-especialistas-para-evitar-retorno-do-ebola-na-guine/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **OMS reporta novo caso de ebola na Libéria - Guiné adota vacina experimental.** 2016i. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-reporta-novo-caso-de-ebola-na-liberia-guine-adota-vacina-experimental/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

ONU - BRASIL. **Assembleia Mundial de Saúde aprova novo programa para emergências.** 2016j. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/assembleia-mundial-de-saude-aprova-novo-programa-para-emergencias/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

ONU - BRASIL. **Assembleia Ambiental da ONU aprova resoluções para impulsionar desenvolvimento sustentável e acordo do clima.** 2016k. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/assembleia-ambiental-da-onu-aprova-resolucoes-para-impulsionar-desenvolvimento-sustentavel-e-acordo-do-clima/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

ONU - BRASIL. **Vamos levar os produtos químicos a sério, nossas vidas dependem disso.** 2017. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/artigo-vamos-levar-os-produtos-quimicos-a-serio-nossas-vidas-dependem-disso/>. Acesso em: 7 jun. 2018.

ONU - BRASIL. **Pecuária e indústria química trazem riscos de contaminação dos solos, alerta FAO.** 2018. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/79870-pecuaria-e-industria-quimica-trazem-riscos-de-contaminacao-dos-solos-alerta-fao>. Acesso em: 7 jun. 2018.

ONU - UNESCO. **Panel of experts calls for ban on “editing” of human DNA to avoid unethical tampering with hereditary traits.** 2015a. Disponível em: <https://en.unesco.org/news/unesco-panel-experts-calls-ban-editing-human-dna-avoid-unethical-tampering-hereditary-traits>. Acesso em: 26 fev. 2018.

ONU - UNESCO. **Vigésima Segunda Sessão e Nona Sessão da COMEST.** 2015b. 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. 2018.

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. Acesso em: 6 fev. 2018.

ONU - UNODC. **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. Acesso em: 6 fev. 2018.

ONU MEIO AMBIENTE. **Polição provoca evolução de bactérias resistentes a remédios, revela ONU Meio Ambiente.** 2017. 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.** 2017a. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>. Acesso em: 21 maio 2018.

OPAS/OMS. **OMS publica lista inédita de bactérias resistentes a antibióticos.** 2017b. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-publica-lista-inedita-de-bacterias-resistentes-a-antibioticos/>. Acesso em: 7 jun. 2018.

OPAS - OMS. **OMS divulga lista de doenças prioritárias para pesquisa e desenvolvimento em 2018.** 2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-divulga-lista-de-doencas-prioritarias-para-pesquisa-e-desenvolvimento-em-2018/>. Acesso em: 22 maio 2018.

ORMOND, Kelly E. *et al.* Human Germline Genome Editing. **American journal of human genetics**, [S. l.], v. 101, n. 2, p. 167–176, 2017. DOI: 10.1016/j.ajhg.2017.06.012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28777929>. Acesso em: 4 abr. 2018.

PALEY, Willian. **Teología Natural: ó demonstracion de la existência y de los atributos de la divinidad:** fundada en los denómenos de la naturaleza. Londres: R. Ackermann, 1825. Disponível em: <https://play.google.com/books/reader?id=hQVeAAAaAAJ&printsec=frontcover&output=reader&hl=pt&pg=GBS>. PA5. Acesso em: 29 mar. 2018.

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, Edmund 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**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 191–6, 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11651289>. Acesso em: 16 set. 2018.

PENA, S. D. J.; AZEVEDO, E. S. Projeto Genoma Humano e a medicina preditiva: avanços técnicos e dilemas éticos. **Iniciação à bioética.** Brasília: Conselho Federal de Medicina, 1998.

PENNISI, Elizabeth. Trio of genes supercharged human brain evolution. **Science**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1126/science.aau3428. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/05/trio-genes-supercharged-human-brain-evolution>. Acesso em: 1 jun. 2018.

PERCHARDE, Michelle *et al.* A LINE1-Nucleolin Partnership Regulates Early Development and ESC Identity. **Cell**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1016/j.cell.2018.05.043. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009286741830655X>. Acesso em: 22 jun. 2018.

PESQUISA FAPESP. As bactérias da vida moderna. **Pesquisa Fapesp**, [S. l.], p. 43–45, 2002. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2002/06/43a45-76-pesquisa-bacteria.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2018.

PESSINI, L. Uma descoberta revolucionária na área genética – A CRISPR-CAS9: Em confronto - o entusiasmo científico e interrogações éticas. **Revista Bioética**. v.5 cap.1 p. 19-32, 2017.

PIERRE-SIMON, Laplace. **Essai philosophique sur les probabilités**. 6. ed. Paris. Disponível em: https://fr.wikisource.org/wiki/Essai_philosophique_sur_les_probabilites/1a. Acesso em: 16 ago. 2018.

PORTEUS, Matthew H.; DANN, Christina T. Genome Editing of the Germline: Broadening the Discussion. **Molecular Therapy**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 980–982, 2015. DOI: 10.1038/mt.2015.83. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525001616301241>.

POTTER, Van Rensselaer. **Bioética: ponte para o futuro**. 1. ed. São Paulo, Brasil: Edições Loyola Jesuítas, 2016.

POTTER, Van Rensselaer. **Bioética Global: construindo a partir do legado de Leopold**. São Paulo. 2018.

POTTER VR. **Palestra apresentada em vídeo no IV Congresso Mundial de Bioética**. Tóquio/ Japão: 4 a 7 de novembro de 1998. Texto publicado em *O Mundo da Saúde* 1998;22(6): 370-374.

PRINCE, Daniel J.; O'ROURKE, Sean M.; THOMPSON, Tasha Q.; ALI, Omar A.; LYMAN, Hannah S.; SAGLAM, Ismail K.; HOTALING, Thomas J.; SPIDLE, Adrian P.; MILLER, Michael R. The evolutionary basis of premature migration in Pacific salmon highlights the utility of genomics for informing conservation. **Science Advances**, [S. l.], v. 3, n. 8, p. e1603198, 2017. DOI: 10.1126/sciadv.1603198. Disponível em: <http://advances.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/sciadv.1603198>. Acesso em: 26 jun. 2018.

PRUSINER, S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 216, n. 4542, p. 136–44, 1982. DOI: 10.1126/SCIENCE.6801762. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6801762>. Acesso em: 19 out. 2018.

QIN, Peiwu *et al.* Live cell imaging of low- and non-repetitive chromosome loci using CRISPR-Cas9. **Nature Communications**, [S. l.], v. 8, p. 1–10, 2017. DOI: 10.1038/ncomms14725. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms14725>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

REARDON, Sara. Global summit reveals divergent views on human gene editing. **Nature**, [S. l.], v. 528, n. 7581, p. 173–173, 2015. DOI: 10.1038/528173a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/528173a>. Acesso em: 11 jul. 2018.

REARDON, Sara. Welcome to the CRISPR zoo. **Nature**, [S. l.], v. 531, n. 7593, p. 160–163, 2016. DOI: 10.1038/531160a. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/531160a>. Acesso em: 28 mar. 2018.

REGALADO, Antonio. **Indústria Pede Moratória para a Edição Genética**. 2015. Disponível em: http://www.technologyreview.com.br/read_article.aspx?id=47125. Acesso em: 2 fev. 2018.

REGALADO, Antonio. Gene-edited cattle have a major screwup in their DNA. **MIT Technology Review**, [S. l.], p. 1–11, 2019. Disponível em: https://www.technologyreview.com/s/614235/recombinetics-gene-edited-hornless-cattle-major-dna-screwup/?utm_campaign=site_visitor.unpaid.engagement&utm_source=hs_email&utm_medium=email&utm_content=76429371&_hsenc=p2ANqtz-c_NSIGEOdd3a17cS3_zrYzKpCSmEIYTOFw. Acesso em: 10 dezembro 2019.

REYES, Alvaro Plaza; LANNER, Fredrik. **Towards a CRISPR view of early human development: applications, limitations and ethical concerns of genome editing in human embryos**. [S. l.], 2017. DOI: 10.1242/dev.139683. Disponível em: <http://www.legislation.gov.uk/ukpga/>. Acesso em: 1 ago. 2018.

RIBEIRO, Susan Pereira; ROSA, Daniela Santoro; FONSECA, Simone Gonçalves; MAIRENA, Eliane Conti; POSTÓL, Edilberto; OLIVEIRA, Sergio Costa; GUILHERME, Luiza; KALIL, Jorge; CUNHA-NETO, Edecio. 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**, [S. l.], v. 5, n. 6, p. e11072, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0011072. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0011072&type=printable>. Acesso em: 4 jul. 2018.

RICARTE FILHO, Júlio C. M.; KIMURA, Edna Teruko. MicroRNAs: Nova Classe de Reguladores Gênicos Envolvidos na Função Endócrina e Câncer. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abem/v50n6/a18v50n6.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2018.

RICCI, Clarisse Gravina. **A, B e Z-DNA**: Caracterização Conformacional e Importância Biológica. 2007. [S. l.], 2007. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/69826/000607383.pdf?sequence=1>. Acesso em: 28 jul. 2018.

RICKLEFS, Robert E. *et al.* Avian migration and the distribution of malaria parasites in New World passerine birds. **Journal of Biogeography**, [S. l.], v. 44, n. 5, p. 1113–1123, 2017. DOI: 10.1111/jbi.12928. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jbi.12928>. Acesso em: 4 jun. 2018.

ROADMAP EPIGENOMICS PROJECT. **Roadmap Epigenomics Project**. 2007. Disponível em: <http://www.roadmapepigenomics.org/>. Acesso em: 8 ago. 2018.

RODRIGUES, Luan Christ. Riscos biotecnológicos ambientais e participação social: por uma gestão democrática da biotecnologia gene drive na atuação da ctnbio. **Revista Jurídica - FURB**, [S. l.], v. 22, no 49, p. 1–44, 2018. Disponível em: <https://proxy.furb.br/ojs/index.php/juridica/article/view/7785/4118>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

RUTGERS, Thomas R. Meagher. **Evolução, Ciência e Sociedade**. 1. ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética, 2002. Disponível em: https://www.sbg.org.br/sites/default/files/evolucao_ciencia_e_sociedade.pdf. Acesso em: 10 dezembro 2018.

SALMAN, Ana Karina Dias. **Conceitos básicos de genética de populações**. Porto Velho. Disponível em: www.cpafro.embrapa.br. Acesso em: 23 jul. 2018.

SALVATO, Fernanda; LABATE, Carlos Alberto. **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>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

SANCHES, Mário Antonio. **Brincando de Deus - bioética e as marcas sociais da genética**. [s.l.: s.n.].

SANDER, Jeffrey D.; JOUNG, J. Keith. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. **Nature biotechnology**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 347–55, 2014. DOI: 10.1038/nbt.2842. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24584096>. Acesso em: 4 set. 2018.

SANGIONI, Luis Antônio; PEREIRA, Daniela Isabel Brayer; VOGEL, Fernanda Silveira Flores; BOTTON, Sônia de Avila. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 91–99, 2013. DOI: 10.1590/S0103-84782012005000122. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000100016&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 10 dezembro 2018.

SANTOS, Vanessa Dos. **O que são plasmídeos?** - Brasil Escola. 2018. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/o-que-e/biologia/o-que-sao-plasmideos.htm>. Acesso em: 4 jul. 2018.

SAVI C, Nata SA; SCHWANK ZURICH, Gerald. Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing. **Translational Research**. [S. l.], v. 168, p. 15–21, 2016. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.09.008. Disponível em: [https://www.translationalres.com/article/S1931-5244\(15\)00332-1/pdf](https://www.translationalres.com/article/S1931-5244(15)00332-1/pdf). Acesso em: 25 abr. 2018.

SCHRODINGER, Erwin. **What is life?** Reino Unido.

SCHWEITZER, Albert. **An Anthology**. 1. ed. Boston: Beacon, 1947.

SENDER, Ron; FUCHS, Shai; MILO, Ron. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. **PLOS Biology**. [S. l.], v. 14, n. 8, p. e1002533, 2016. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533. Disponível em: <https://erc.europa.eu/funding-and-grants>. Acesso em: 11 ago. 2018.

SEUÁNEZ, Héctor N. **The Phylogeny of Human Chromosomes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979. v. 1 DOI: 10.1007/978-3-642-67260-6. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-67260-6>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

SHEN, Helen. First monkeys with customized mutations born. **Nature**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1038/nature.2014.14611. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature.2014.14611>. Acesso em: 10 ago. 2017.

SHERKOW, Jacob S. Law, history and lessons in the CRISPR patent conflict. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 33, n. 3, p. 256–257, 2015. DOI: 10.1038/nbt.3160. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nbt.3160>. Acesso em: 28 mar. 2018.

SGANZERLA, Anor; PESSINI, Leo. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-cas9: entusiasmoscientífico e inquietações éticas. **Saúde em Debate** [online]. v. 44, n. 125, pp. 527-540, 2020. <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012519>. Acesso em: 25 abr. 2022.

SGANZERLA, A.; ROHREGGER, R. Prudência: a virtude da bioética na civilização tecnológica. Thaumazein: **Revista Online de Filosofia**, v. 10, n. 19, p. 67-74, 2017.

SILAS, Sukrit; MOHR, Georg; SIDOTE, David J.; MARKHAM, Laura M.; SANCHEZ-AMAT, Antonio; BHAYA, Devaki; LAMBOWITZ, Alan M.; FIRE, Andrew Z. Direct CRISPR spacer acquisition from RNA by a natural reverse transcriptase-Cas1 fusion protein. **Science**, [S. l.], v. 351, n. 6276, 2016. DOI: 10.1126/science.aad4234.

SILVA, George; POIROT, Laurent; GALETTO, Roman; SMITH, Julianne; MONTOYA, Guillermo; DUCHATEAU, Philippe; PÂQUES, Frédéric. Meganucleases and other tools for targeted genome engineering: perspectives and challenges for gene therapy. **Current gene therapy**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 11–27, 2011. DOI: 10.2174/156652311794520111. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21182466>. Acesso em: 3 out. 2018.

SILVA, Vânia; MEDEIROS, Julliane Dutra. Genética Bacteriana. In: Universidade Federal de Juiz de Fora - Laboratório De Microbiologia 2018, Juiz de Fora. **Anais** [...]. Juiz de Fora Disponível em: <http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/Genética-Bacteriana-1.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2018.

SILVEIRA, Evanildo da. Mosquitos transgênicos serão soltos em Juazeiro, na Bahia, para combater a dengue. **Revista Pesquisa FAPESP - ed. 180**, São Paulo, p. 76–79, 2011. Disponível em: https://issuu.com/pesquisafapesp/docs/edi_o_180?e=4497040/11993411. Acesso em: 15 jun. 2017.

SILVEIRA PRADO, Enrique A.; PÉREZ AMORES, Alfredo. Historia de las armas biológicas y el bioterrorismo. **REDVET - Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 11, núm. 3, p. 10. Málaga, 2010. Disponível em: http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310B/031B_HV06.pdf<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet-http://revista.veterinaria.orgVol.11,No03B,Marzo/2010-http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310B.html>. Acesso em: 11 set. 2018.

SIMÃO-SILVA, Daiane Priscila; CUNHA, Thiago Rocha Da; HEISLER JR., André Martins; RODRIGUES, Otávio Augusto. **Terapia Gênica hereditária: igualdades e desigualdades na sociedade futura**. 1. ed. Curitiba: CRV, 2017. v. 5 DOI: 10.24824/978854441820.8.

SINGH, Neenu; MANSHIAN, Bella; JENKINS, Gareth J. S.; GRIFFITHS, Sioned M.; WILLIAMS, Paul M.; MAFFEIS, Thierry G. G.; WRIGHT, Chris J.; DOAK, Shareen H. NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. **Biomaterials**, [S. l.], v. 30, n. 23–24, p. 3891–3914, 2009. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.009. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961209004062>. Acesso em: 9 dez. 2018.

SMEETS, Hubert J. M.; SALLEVELT, Suzanne C. E. H.; DREESEN, Jos C. F. M.; DE DIE-SMULDERS, Christine E. M.; DE COO, Irenaes F. M. Preventing the transmission of mitochondrial DNA disorders using prenatal or preimplantation genetic diagnosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [S. l.], v. 1350, n. 1, p. 29–36, 2015. DOI: 10.1111/nyas.12866.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA CLÍNICA. **Testes preditivos** [online]. 2007 Disponível em: http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/091.pdf acesso em: 05 out. 2019.

SOUZA, Carolina Fischinger Moura De. **Um estudo clínico, bioquímico, histoquímico e genético-molecular de pacientes com doenças do DNA mitocondrial**. 2005. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [S. l.], 2005. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/5504/000516141.pdf?sequence=1>. Acesso em: 6 jul. 2018.

SOUZA, Soares Correa de *et al.* **Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome**. [S. l.], 2016. DOI: 10.1038/srep28774. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep28774.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2018.

STOKSTAD, Erik. European court ruling raises hurdles for CRISPR crops. **Science**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1126/science.aau8986. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/07/european-court-ruling-raises-hurdles-crispr-crops>. Acesso em: 30 jul. 2018.

SUPREMO TRIBUNAL FEDERAL - STF. **Biossegurança e Células-Tronco Bibliografia, Legislação e Jurisprudência Temática**. Brasília-DF.

SUPREMO TRIBUNAL FEDERAL - STF. Ação Direta de Inconstitucionalidade 3510 - Ementário no 2403-1 **Coordenadoria de Análise de Jurisprudência - DJe no 96**, Brasília-DF, Brasil, 2010. p. 134–659. Disponível em: <http://redir.stf.jus.br/paginadorpub/paginador.jsp?docTP=AC&docID=611723>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SUTTER, Petra 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. Disponível em: <http://assembly.coe.int/nw/xml/XRef/Xref-XML2HTML-en.asp?fileid=23730&lang=en>. Acesso em: 28 mar. 2018.

SZULWACH, Keith E. *et al.* Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. **The Journal of cell biology**, [S. l.], v. 189, n. 1, p. 127–41, 2010. DOI: 10.1083/jcb.200908151. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20368621>. Acesso em: 16 fev.2018.

SZULWACH, Keith E. *et al.* Integrating 5-Hydroxymethylcytosine into the Epigenomic Landscape of Human Embryonic Stem Cells. **PLoS Genetics**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. e1002154, 2011. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002154. Disponível em: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1002154>. Acesso em: 16 fev. 2018.

TATTO, Nilto; ANANIAS, Patrus. PDC 889/2018 - Projeto de Decreto Legislativo de Sustação de Atos Normativos do Poder Executivo. Susta o Artigo 1º e seu anexo bem como o § 4º do artigo 2º Resolução Nº 16, de 15 de janeiro de 2018 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, CTNBio, que Estabelece os requisitos técnicos para apresentação de consulta à CTNBio sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão. Brasil, 2018. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=2168477>. Acesso em: 5 dez. 2019.

THE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES; ASSOCIATION OF MEDICAL RESEARCH CHARITIES; BBSRC; MEDICAL RESEARCH COUNCIL; WELLCOME TRUST. Genome editing in human cells initial joint statement. **The Academy of Medical Sciences**, [S. l.], 2015. Disponível em: <https://wellcome.ac.uk/sites/default/files/wtp059707.pdf>. Acesso em: 18 set. 2018.

THE HINXTON GROUP. **Statement on Genome Editing Technologies and Human Germline Genetic Modification**. [S. l.], 2015. DOI: 10.1080/15265161.2015.1103814. Disponível em: www.hinxtongroup.org. Acesso em: 18 set. 2018.

THE NOBEL FOUNDATION. **The Nobel Prize in Chemistry**. 2020. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/>. Acesso em: 25 fev. 2021.

THOMPSON, Tasha Q. *et al.* Anthropogenic habitat alteration leads to rapid loss of adaptive variation and restoration potential in wild salmon populations. **bioRxiv**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1101/310714. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/310714>. Acesso em: 26 jun. 2018.

TOLEDO, Karina. **Vacina brasileira contra a Aids será testada em macacos**. 2013. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/vacina-brasileira-contra-a-aids-sera-testada-em-macacos/17655/>. Acesso em: 4 jul. 2018.

TOLEDO, Karina. Estudo desvenda evolução de moscas varejeiras. **FAPESP**, [S. l.], p. 2–4, 2017. a.

TOLEDO, Karina. Drogas que modulam a expressão gênica são testadas em modelo de diabetes. **Agência FAPESP**, [S. l.], p. 2–5, 2017. b. Disponível em: http://agencia.fapesp.br/print/drogas_que_modulam_a_expressao_genica_sao_testadas_em_modelo_de_diabetes/23690/.

TOMOKO, Ohta. Synonymous and nonsynonymous substitutions in mammalian genes and the nearly neutral theory. **Journal of Molecular Evolution**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 56–63, 1995. DOI: 10.1007/BF00166595. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00166595>. Acesso em: 4 set. 2018.

TOSI, Giuseppe; FERREIRA, Lúcia de Fátima Guerra; TORELLY, Marcelo D.; ABRÃO, Paulo. **Justiça de transição direito à justiça, à memória e à verdade**. João Pessoa: UFPR, 2015.

TURANO, Helena; GOMES, Fernando; MEDEIROS, Micheli; OLIVEIRA, Silvane; FONTES, Livia C.; SATO, Maria I. Z.; LINCOPAN, Nilton. 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**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 80–82, 2016. DOI: 10.1016/J.DIAGMICROBIO.2016.06.005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889316301651>. Acesso em: 12 jun. 2018.

UMA longa história de horrores. **Revista FAPESP**, [S. l.], v. 69, 2001. Disponível em: www.fapesp.br. Acesso em: 11 set. 2018.

UN ENVIRONMENT. **Frontiers 2017 - Emerging Issues Of Environmental Concern**. Nairobi: United Nations Environment Programme, 2017. a. Disponível em: <http://www.un.org/Depts/Cartographic/english/htmain.htm>. Acesso em: 11 jun. 2018.

UN ENVIRONMENT. **Frontiers 2017: Emerging Issues of Environmental Concern**. 2017b. Disponível em: <https://www.unenvironment.org/resources/frontiers-2017-emerging-issues-environmental-concern>. Acesso em: 11 jun. 2018.

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. Acesso em: 6 fev. 2018.

UNESCO. **Declaração Internacional sobre Bioética e Direitos Humanos**: Resolução aprovada pela Conferência Geral da UNESCO na sua 33a Sessão. Paris. Unesco, 2005 Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180por.pdf> acesso em: 04 maio 2020.

UNESCO. **Declaração Internacional sobre os Dados Genéticos Humanos**: Paris. Unesco, 2004.

UNESCO. **Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos**. UNESCO 2005a. p. 1–7. Disponível em: unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180por.pdf.

UNESCO. **Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos**: da teoria à prática - 2001. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0012/001229/122990por.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2018.

UNESCO. **Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. O mundo da saúde**, [S. l.], 2005. b.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE. **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.

UNODA - ONU. **Convention on the Prohibition of the Development, Production and Stockpiling of Bacteriological (Biological) and Toxin Weapons and on their Destruction**. 2018. Disponível em: <https://www.un.org/disarmament/wmd/bio/>. Acesso em: 11 set. 2018.

URNOV, Fyodor D.; REBAR, Edward J.; HOLMES, Michael C.; ZHANG, H. Steve; GREGORY, Philip D. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. **Nature Reviews Genetics**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 636–646, 2010. DOI: 10.1038/nrg2842. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrg2842>. Acesso em: 4 set. 2018.

VALKIUNAS, Gediminas. **Avian Malaria Parasites and other haemosporidia**. Russian and French. Disponível em: file:///C:/Users/norto/OneDrive/Documentos/9780203643792_preview.pdf. Acesso em: 26 jun. 2018.

VAN ERP, Paul B. G.; BLOOMER, Gary; WILKINSON, Royce; WIEDENHEFT, Blake. The history and market impact of CRISPR RNA-guided nucleases. **Current Opinion in Virology**, [S. l.], v. 12, p. 85–90, 2015. DOI: 10.1016/j.coviro.2015.03.011. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1879625715000425>. Acesso em: 28 mar. 2018.

VASCONCELOS, Maria José Vilaça de; FIGUEIREDO, José Edson Fontes. **Edição de genoma com nuclease “Zinc Finger”**. 1. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. Disponível em: www.embrapa.br/fale-conosco. Acesso em: 3 out. 2018.

VASILEVA, E. A.; SHUVALOV, O. U.; GARABADGIU, A. V.; MELINO, G.; BARLEV, N. A. Genome- editing tools for stem cell biology. **Cell Death and Disease**, [S. l.], v. 6, 2015. DOI: 10.1038/cddis.2015.167. Disponível em: www.nature.com/cddis. Acesso em: 9 set. 2018.

VASSENA, R.; HEINDRYCKX, B.; PECO, R.; PENNINGS, G.; RAYA, A.; SERMON, K.; VEIGA, A. Genome engineering through CRISPR/Cas9 technology in the human germline and pluripotent stem cells. **Human Reproduction Update**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 411–419, 2016. DOI: 10.1093/humupd/dmw005. Disponível em: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmw005>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

VELJI, Anvar; BRYANT, John H. Ética na saúde global. In: **Compreendendo a saúde global**. 2a ed. Porto Alegre. p. 586.

VERMEULEN, E. *Et al.* Public attitudes towards preventive genomics and personal interest in genetic testing to prevent disease: a survey study. **Eur J Public Health**, v. 24, n. 5, p. 768-775, 2014. VOGEL, Friedrich; MOTULSKY, Arno G. **Genética Humana: Problemas e Abordagens**. 3. ed. Rio de Janeiro.

WAIZBORT, Ricardo. Teoria social e biologia: perspectivas e problemas da introdução do conceito de história nas ciências biológicas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 633–653, 2001. DOI: 10.1590/S0104-59702001000400007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-59702001000400007&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 10 dezembro 2018.

WATSON, James Dewey. **DNA: o segredo da vida**. São Paulo. Disponível em: <http://www.embraer.com/pt-BR/ConhecaEmbraer/Paginas/Home.aspx>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

WATTS, Geoff; BRAUDE, Peter; FLINTER, Frances; HARDING, Sian; LEWENS, Tim; PARKER, Michael. Novel techniques for the prevention of mitochondrial DNA disorders: An ethical review. **Nuffield Council on Bioethics**, [S. l.], p. 18–97, 2012. DOI: 978-1-904384-26-7. Disponível em: http://nuffieldbioethics.org/wp-content/uploads/2014/06/Novel_techniques_for_the_prevention_of_mitochondrial_DNA_disorders_compressed.pdf. Acesso em: 18 set. 2018.

WEAVER, Ian C. G.; CERVONI, Nadia; CHAMPAGNE, Frances A.; D’ALESSIO, Ana C.; SHARMA, Shakti; SECKL, Jonathan R.; DYMOV, Sergiy; SZYF, Moshe; MEANEY, Michael J. Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature Neuroscience**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 847–854, 2004. DOI: 10.1038/nn1276.

WEBBER, Bruce L.; RAGHU, S.; EDWARDS, Owain R. Opinion: Is CRISPR-based gene drive a biocontrol silver bullet or global conservation threat? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 112, n. 34, p. 10565–10567, 2015. DOI: 10.1073/pnas.1514258112. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/pnas/112/34/10565.full.pdf>. Acesso em: 16 maio 2018.

WEINBERGER, Ariel D.; GILMORE, Michael S. CRISPR-Cas: To Take Up DNA or Not—That Is the Question. **Cell Host & Microbe**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 125–126, 2012. DOI: 10.1016/J.CHOM.2012.07.007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312812002399>. Acesso em: 30 ago. 2018.

WILLIAMS, C. George. **Adaptation and natural selection** - A Critique of Some Current Evolutionary Thought. New Jersey.

WOESE, Carl R.; FOX, George E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, [S. l.], v. 74, n. 11, p. 5088–5090, 1977. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC432104/pdf/pnas00033-0388.pdf>. Acesso em: 4 set. 2018.

WORLD BANK. The World Bank Annual Report 2005. **The World Bank**, World Bank Annual Report. Washington, EUA, World Bank Annual Report, 2005. DOI: 10.1596/978-0-8213-6133-7. Disponível em: http://siteresources.worldbank.org/INTANNREP2K5/Resources/51563_English.pdf. Acesso em: 17 set. 2018.

YANG, Ziheng; NIELSEN, Rasmus. Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates under realistic evolutionary models. **Mol Biol Evol**, [S. l.], v. 17, n. January, p. 32–43, 2000. Disponível em: https://watermark.silverchair.com/mbev_17_01_0032.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKA_c485ysgAAAbgwgG0BgkqhkiG9w0BBwagggGIMIIBoQIBADCCAzoGCSqGS1b3DQEhATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMP8DSjhtOvnEly7uRAGeQgIIBa3zr0t0F08hjJmwLoz2-4fKcrttk2hpC_13iN6N Acesso em: 10 dezembro 2018.

YOUNGSON, Neil A.; WHITELAW, Emma. Transgenerational Epigenetic Effects. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 233–257, 2008. DOI: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164445. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.genom.9.081307.164445>. Acesso em: 3 ago. 2018.

ZATZ, Mayana. **Genética**: escolhas que nossos avós não faziam. 1. ed. São Paulo: Globo Livros, 2012.

ZENG, Yanting *et al.* Correction of the Marfan Syndrome Pathogenic FBN1 Mutation by Base Editing in Human Cells and Heterozygous Embryos. **Molecular Therapy**, [S. l.], v. 0, n. 0, 2018. DOI: 10.1016/J.YMTHE.2018.08.007. Disponível em: [https://www.cell.com/molecular-therapy-family/molecular-therapy/fulltext/S1525-0016\(18\)30378-2](https://www.cell.com/molecular-therapy-family/molecular-therapy/fulltext/S1525-0016(18)30378-2). Acesso em: 31 ago. 2018.

ZETSCHKE, Bernd *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**, [S. l.], v. 163, p. 759–771, 2015. DOI: 10.1016/j.cell.2015.09.038. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.038><http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.038>. Acesso em: 1 ago. 2018.

ZEVIANI, Massimo; DI DONATO, Stefano. Mitochondrial disorders. **Brain**, [S. l.], v. 127, n. 10, p. 2153–2172, 2004. DOI: 10.1093/brain/awh259. Disponível em: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awh259>. Acesso em: 9 dez. 2018.

ZHANG, Sarah. **Tudo o que você precisa saber sobre a CRISPR, nova ferramenta de edição de DNA - Gizmodo Brasil**. 2015a. 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 2016.

ZHANG, Sarah. Tudo o que você precisa saber sobre a CRISPR, nova ferramenta de edição de DNA -Gizmodo Brasil. **Gizmodo Basil**, [S. l.], p. 1, 2015. b. Disponível em: <http://gizmodo.uol.com.br/tudo-o-que-voce-precisa-saber-sobre-a-crispr-nova-ferramenta-de-edicao-de-dna/>. Acesso em: 10 dezembro 2018.

ZHANG, Xiao-Hui; TEE, Louis Y.; WANG, Xiao-Gang; HUANG, Qun-Shan; YANG, Shi-Hua. Off-target Effects in CRISPR/Cas9-mediated Genome Engineering. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, [S. l.], v. 4, 2015. DOI: 10.1038/MTNA.2015.37. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S216225311630049X>. Acesso em: 22 fev. 2018.

NORTON NOHAMA, M.Sc - Programa de Pós-Graduação em Bioética, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

DAIANE PRISCILA SIMÃO-SILVA, Ph.D. - Genitore consultoria - Guarapuava

ROGÉRIO SAAD VAZ, BMD, Ph.D. - Faculdades Pequeno Príncipe -FPP / Centro Universitário de Telêmaco Borba-UNIFATEB. Coordenação do Núcleo de Internacionalização

THIAGO ROCHA DA CUNHA, BMD, Ph.D. - Programa de Pós-Graduação em Bioética, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

MARTA LUCIANE FISCHER, PhD. - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

ISRAEL GOMY, MD, PhD. - Faculdades Pequeno Príncipe

KATHERINE ATHAYDE TEIXEIRA DE CARVALHO, MD, PhD. - Faculdades Pequeno Príncipe & Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe.

ANDRÉ LUIZ FONSECA DIAS PAES - Faculdades Pequeno Príncipe (FPP)

FREDY AUGUSTO WEBER REYNOSO - Faculdades Pequeno Príncipe (FPP)

ARIELA VICTORIA BORGMANN - Faculdades Pequeno Príncipe (FPP)

ISABELLE MARIE WISLEY - Faculdades Pequeno Príncipe (FPP)

NICOLE SOARES WIENS - Universidade Positivo

SARAH RODMANN PEREIRA - Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

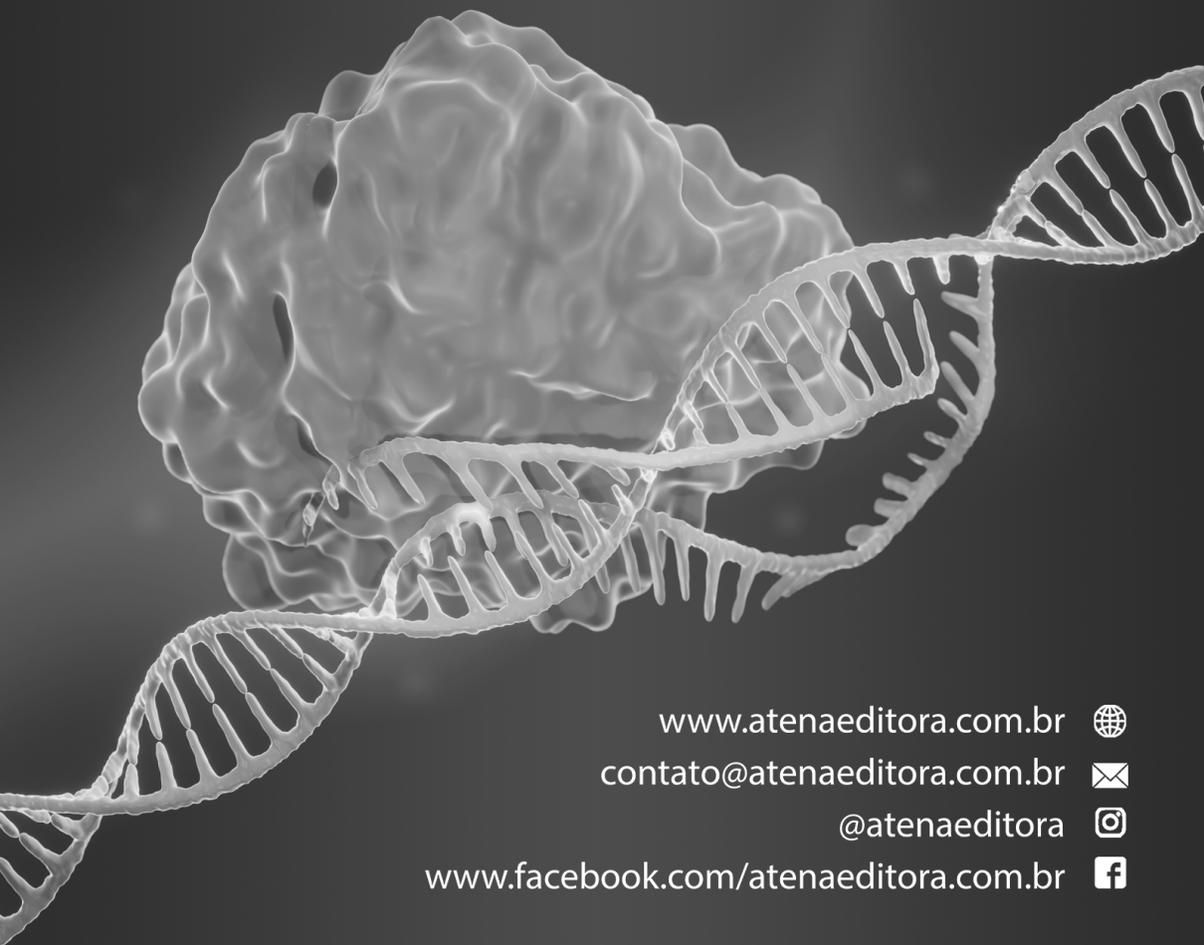
ROBERTO HIROCHI HERAI - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Escola de Medicina e Ciências da Vida / Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

ELIS ROSANE SADE - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

CRISPR

E EDIÇÃO GENÔMICA:

Técnica, **bioética** e controvérsias



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

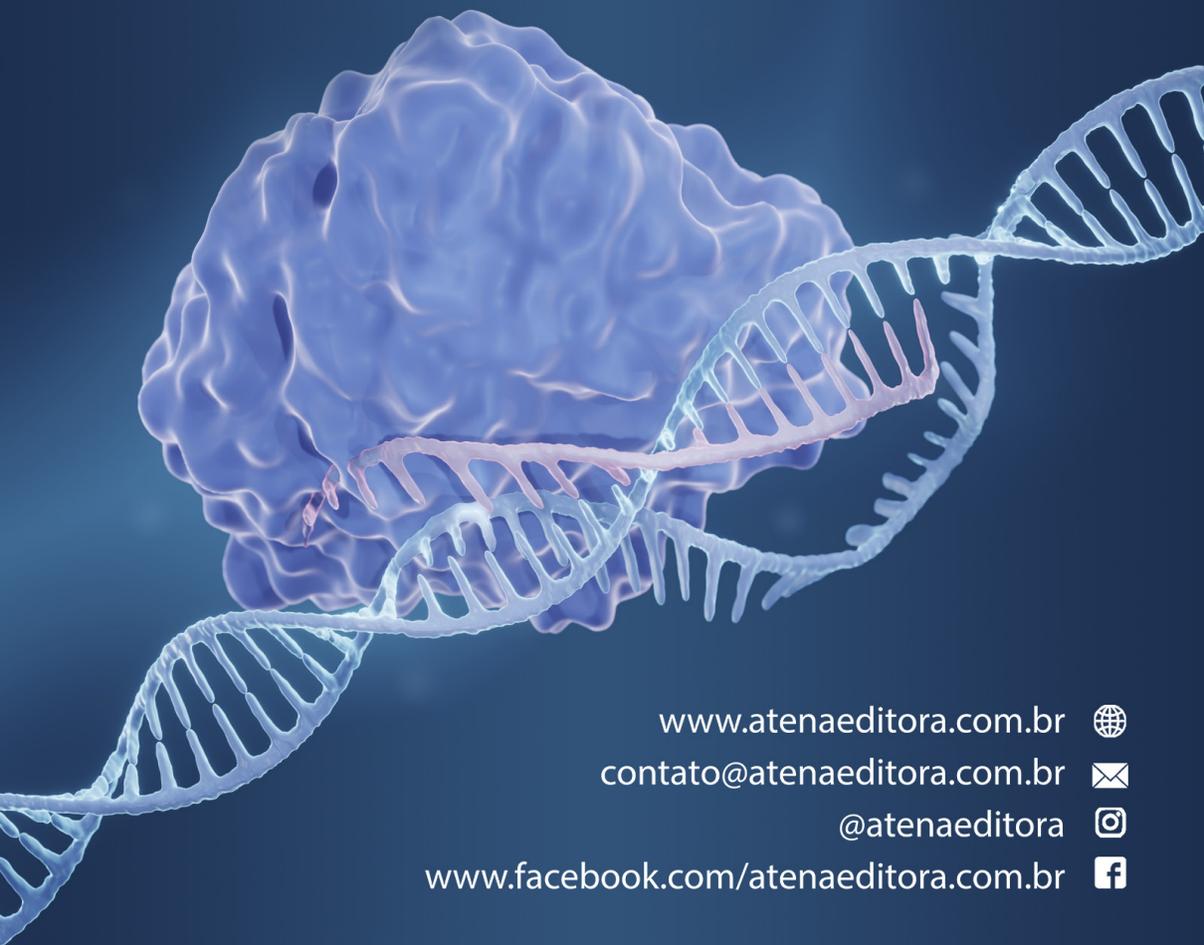
www.facebook.com/atenaeditora.com.br 


Ano 2023

CRISPR

E EDIÇÃO GENÔMICA:

Técnica, **bioética** e controvérsias



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 


Ano 2023