



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Bárbara Carollo de Almeida Winter

**CRISPR-Cas9 e a edição genética em embriões humanos: uma análise normativa de seus
riscos e benefícios**

Rio de Janeiro

2023

Bárbara Carollo de Almeida Winter

**CRISPR-Cas9 e a edição genética em embriões humanos: uma análise normativa de seus
riscos e benefícios**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioética, Ética Aplicada e Saúde Coletiva, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioética, Ética Aplicada e Saúde Coletiva, em regime de associação com a Universidade Federal do Rio de Janeiro, a Universidade do Estado do Rio de Janeiro e a Universidade Federal Fluminense.

Orientador: Prof. Dr. Murilo Mariano Vilaça.

Rio de Janeiro

2023

Título do trabalho em inglês: CRISPR-Cas9 and gene editing in human embryos: a normative analysis of its risks and benefits.

W784e Winter, Bárbara Carollo de Almeida.
CRISPR-Cas9 e a edição genética em embriões humanos: uma análise normativa de seus riscos e benefícios / Bárbara Carollo de Almeida Winter. -- 2023.
121 f. : il.color.

Orientador: Murilo Mariano Vilaça.
Dissertação (Mestrado Acadêmico em Bioética, Ética Aplicada e Saúde Coletiva) - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2023.
Bibliografia: f. 106-121.

1. Sistemas CRISPR-Cas. 2. Edição de Genes. 3. Terapia Genética. 4. Bioética. 5. Regulação e Fiscalização em Saúde. I. Título.

CDD 572.86

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Rede de Bibliotecas da Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável pela elaboração da ficha catalográfica: Cláudia Menezes Freitas - CRB-7-5348
Biblioteca de Saúde Pública

Bárbara Carollo de Almeida Winter

CRISPR-Cas9 e a edição genética em embriões humanos: uma análise normativa de seus riscos e benefícios

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioética, Ética Aplicada e Saúde Coletiva, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioética, Ética Aplicada e Saúde Coletiva, em regime de associação com a Universidade Federal do Rio de Janeiro, a Universidade do Estado do Rio de Janeiro e a Universidade Federal Fluminense.

Aprovada em: 31 de outubro de 2023.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Martin Hernan Bonamino
Instituto Nacional do Câncer

Prof. Dr. Dalmir José Lopes Junior
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Murilo Mariano Vilaça (Orientador)
Fundação Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2023

RESUMO

A CRISPR-Cas9 tem revolucionado a terapia genética ao trazer promessas de cura de doenças antes incuráveis. Seu rápido avanço tem contribuído, significativamente, para as pesquisas (e atuais ensaios clínicos) que envolvem seu uso terapêutico a partir da edição somática humana. Nesse interim de descobertas e progressos, no entanto, há incertezas que precisam ser superadas, especialmente aquelas referentes à edição genética germinativa humana. Atualmente, o consenso da comunidade científica internacional proíbe o uso de técnicas de edição genética na linhagem germinativa e em embriões humanos com fins reprodutivos. Mas, o famoso e conhecido descumprimento de tal acordo, ocorrido em 2018, com a ‘criação’ dos primeiros bebês geneticamente modificados, intensificou as preocupações referentes ao uso desmedido da técnica e apontou a necessidade de reforçar a proibição nos documentos regulatórios já existentes. A presente dissertação identificou, no entanto, que, em nível internacional, esses documentos apresentam caráter *soft*, ou seja, não são capazes de impor sanções jurídicas frente violações do acordo. Em nível nacional, tem-se também documentos com caráter *soft* e uma legislação que proíbe a engenharia genética com embriões humanos. No entanto, tal lei (Lei 11.105/2005), criada, inicialmente, para regulamentar o uso de sementes transgênicas na agricultura, conta com apenas um único artigo referente à engenharia genética, carecendo de mais disposições que orientem e regulamentem a técnica. Dessa forma, e em certa medida, a dissertação identificou um maior número de documentos com caráter *soft* em relação às normas *hard*. Como institutos do Direito Internacional, ambas as normas são importantes na criação do ordenamento jurídico interno dos Estados, mas no tão debatido cenário regulatório do uso da CRISPR-Cas9 na edição genética de embriões humanos, é importante ponderar em que medida elas podem contribuir, da melhor maneira possível, para uma regulamentação em nível global que busque o progresso seguro e respeitador das individualidades humanas e a segurança técnica. Conclui-se que é imperioso o contínuo fomento de debates interdisciplinares, com julgamentos normativos, e que incluam a sociedade, da mesma maneira em que regulamentações devem ser revisadas, a fim de assegurar que os limites éticos sejam promovidos, incentivados e respeitados. Ainda, é necessário que pesquisas posteriores aprofundem o panorama regulatório internacional, com o propósito de averiguar, mais profundamente, em que medida a *soft law* e a *hard law* contribuem/podem contribuir ao cenário normativo global.

Palavras-chave: sistemas CRISPR-Cas; edição de genes; terapia genética; regulação; bioética.

ABSTRACT

CRISPR-Cas9 has revolutionized gene therapy by promising cures for previously incurable diseases. Its rapid advancement has contributed significantly to research (and current clinical trials) involving its therapeutic use through human somatic editing. In the interim of discoveries and progress, however, there are uncertainties that need to be overcome, especially those regarding human germline gene editing. Currently, the consensus of the international scientific community prohibits the use of gene editing techniques in the germ line and in human embryos for reproductive purposes. However, the famous and well-known breach of this agreement, which occurred in 2018, with the 'creation' of the first genetically modified babies, intensified concerns regarding the excessive use of the technique and highlighted the need to reinforce the prohibition in existing regulatory documents. This dissertation identified, however, that, at an international level, these documents are soft in nature, that is, they are not capable of imposing legal sanctions against violations of the agreement. At the national level, there are also soft documents and legislation that prohibits genetic engineering with human embryos. However, this law (Law 11,105/2005), initially created to regulate the use of transgenic seeds in agriculture, has only a single article referring to genetic engineering, lacking further provisions that guide and regulate the technique. In this way, and to a certain extent, the dissertation brought together a greater number of documents with a soft nature in relation to hard standards. Both norms are important as institutes of International Law in the creation of the internal legal order of States, but in the much debated regulatory scenario of the use of CRISPR-Cas9 in the genetic editing of human embryos, it is important to consider to what extent they can contribute, in the best way possible, for regulation at a global level that seeks safe progress that respects human individualities and technical security. It is concluded that it is imperative to continually encourage interdisciplinary debates, with normative judgments, and that include society, in the same way that regulations must be reviewed, in order to ensure that ethical limits are promoted, encouraged and respected. Furthermore, it is necessary for further research to delve deeper into the international regulatory panorama, with the purpose of investigating, in more depth, the extent to which soft law and hard law contribute/can contribute to the global normative scenario.

Keywords: CRISPR-Cas systems; gene editing; genetic therapy; regulation; bioethics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Complementariedade de bases na dupla-fita de DNA.....	19
Figura 2 - Fluxo de informação genética (Dogma Central da Biologia Molecular.....	21
Figura 3 - Terapia de edição <i>ex vivo</i> versus <i>in vivo</i>	28
Figura 4 - Representação do Locus CRISPR.....	33
Figura 5 - Processo de reconhecimento e clivagem da sequência-alvo a partir do sistema CRISPRCas9.....	34
Figura 6 - Etapas do sistema imunológico adaptativo mediado por CRISPR-Cas9.....	35
Figura 7 - Mecanismos de reparo celular em resposta ao DSB induzido pela endonuclease Cas9.....	38
Figura 8 - Capacidade de edição do genoma em <i>base editors</i> e <i>prime editors</i>	39
Figura 9 - Representação de uma mutação em divisão mitótica.....	52
Figura 10- Comparações gerais entre a nuclease Cas9 e a nuclease Cas12.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Progressão anual das publicações envolvendo CRISPR-Cas9 registradas na base de dados PubMed.....	13
-------------	--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Diferenças entre células germinativas e células somáticas.....	24
Quadro 2 -	Diferenças entre os vetores virais na terapia gênica.....	26
Quadro 3 -	Características e diferenças entre as técnicas de edição genética.....	31
Quadro 4 -	Diferença entre EGG e EGH.....	42
Quadro 5 -	Certeza x Risco x Incerteza.....	47
Quadro 6 -	Aumento percentual das publicações relativas à CRISPR-Cas9 publicadas na base de dados PubMed entre os anos 2011 e 2022.....	58
Quadro 7 -	Benefícios, Riscos e Desafios do uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana.....	62
Quadro 8 -	Quadro sinótico da <i>soft law</i> na regulamentação da edição genética humana..	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAV	Adeno-Associated Virus
ABE	Adenine Base Editor
ADI	Ação Direta de Inconstitucionalidade
ADN	Ácido Desoxirribonucléico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARN	Ácido Ribonucléico
AsCas12a	Cas12 derivada de <i>Acidaminococcus sp.</i>
BE	Base Editing/Base Editor
CBE	Cytosine Base Editor
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CF	Constituição Federal
CFM	Conselho Federal de Medicina
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CRISPR-Cas9	CRISPR Associated Protein-9
crRNA	CRISPR RNA
CTNBio	Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
DF	Doença Falciforme
Dicol	Diretoria Colegiada
DMD	Distrofia Muscular de Duchenne
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DSB	Double-Strand Break
DUBDH	Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos
EGG	Edição Genética Germinativa
EGH	Edição Genética Hereditária
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
gRNA	RNA-guia
HDR	Homology-Directed Repair
HSC	Hematopoietic Stem Cells
HSPC	Hematopoietic Stem and Progenitor Cells

HIV	Human Immunodeficiency Virus
iPSc	Induced Pluripotent Stem Cell
iRNA	Interference RNA
ISSCR	International Society for Stem Cell Research
LNP	Nanopartículas Lipídicas
NAM	National Academy of Medicine
NAS	National Academy of Science
NASEM	National Academies of Sciences, Engineering and Medicine
NHEJ	Non-Homologous End Joining
NIH	National Institutes of Health
OGM	Organismo Geneticamente Modificado
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAM	Protospacer Adjacent Motif
pegRNA	Primer Editing Guide RNA
PGH	Projeto Genoma Humano
PRRS	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome
PTA	Produto de Terapia Avançada
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
rDNA	DNA Recombinante
RNA	Ribonucleic Acid
RT	Transcriptase Reversa
SCID	Severe Combined Immunodeficiency
SpCas9	Cas9 derivada de <i>Streptococcus pyogenes</i>
sgRNA	Single Guide RNA
TALEN	Transcription Activator-Like Effector Nuclease
TDT	β -Talassemia Dependente de Transfusão
TIMP	Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão
TPI	Tribunal Penal Internacional
tracrRNA	Trans-activating crRNA
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
WHO	World Health Organization
ZFN	Zinc Finger Nuclease
ZFP	Zinc Finger Proteins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	EDIÇÃO GENÉTICA	17
2.1	CONCEITOS BIOLÓGICOS BÁSICOS.....	17
2.2	MANIPULAÇÕES BIOLÓGICAS.....	22
2.2.1	Manipulação genética e Engenharia genética	22
2.2.2	Terapia gênica	23
2.3	EDIÇÃO GENÉTICA: CONCEITO E APONTAMENTOS.....	28
3	CRISPR-CAS9: A NOVA TECNOLOGIA DE EDIÇÃO GENÉTICA	32
3.1	ASPECTOS TÉCNICOS.....	32
3.2	CRISPR-CAS9 E A TERAPIA GÊNICA.....	40
3.3	RISCOS E BENEFÍCIOS.....	45
3.3.1	CONCEITO DE RISCO	45
3.3.2	RISCOS CONHECIDOS	51
3.3.3	BENEFÍCIOS	57
3.4	APLICAÇÕES ATUAIS E POSSIBILIDADES FUTURAS.....	63
4	USO DA CRISPR-CAS9 NA EDIÇÃO GENÉTICA DE CÉLULAS SOMÁTICAS E DE CÉLULAS GERMINATIVAS	71
5	PANORAMA REGULATÓRIO SOBRE O USO DA CRISPR-CAS9 NA EDIÇÃO GENÉTICA EM EMBRIÕES HUMANOS	73
5.1	ANÁLISE CONCEITUAL DA <i>SOFT LAW</i> E DA <i>HARD LAW</i>	73
5.2	O PAPEL DA <i>SOFT LAW</i> NA REGULAMENTAÇÃO DA EDIÇÃO GENÉTICA DA LINHAGEM GERMINATIVA HUMANA.....	80
5.3	O CENÁRIO NORMATIVO BRASILEIRO.....	92
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	102
	REFERÊNCIAS	106

1 INTRODUÇÃO

Os avanços biotecnológicos têm marcado a história da humanidade. Desde meados do século XX, ela tem sido impactada, ainda mais profundamente, por esses avanços e isso se deve, em larga medida, à decifração da estrutura do DNA, em 1953, por James Watson e Francis Crick, e ao mapeamento do genoma humano. O sequenciamento do genoma humano, realizado a partir da atuação conjunta de diversos pesquisadores do mundo no Projeto Genoma Humano, entre o final do século XX e início do XXI, ampliou a capacidade explicativa das biociências de intervenção da biotecnologia. Com a estrutura em dupla-hélice do DNA estabelecida e com o mapeamento do genoma humano, o desafio seria desenvolver formas (tecnologias) de manipular nosso código genético. Inventar uma biotecnologia capaz de modificar o genoma seria um grande avanço para a engenharia genética.

A revolução biotecnológica que vivenciamos tem prometido diminuir o que pode ser considerado como limites biológicos que caracterizam os humanos à condição humana. A cura e prevenção de doenças, bem como a promoção do bem-estar físico e emocional, são alguns exemplos de interesses humanos que poderiam ser promovidos pelas novas biotecnologias (Vilaça; Palma, 2012).

Apesar dos avanços nas pesquisas de engenharia genética ao longo do tempo, foi em 2012 que a ciência alcançou um poder há muito desejado. Com a descoberta da ferramenta¹ CRISPR-Cas9, a possibilidade de manipular o genoma tornou-se mais viável e eficaz.

CRISPR é um acrônimo para *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, que, em tradução livre, significa ‘repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente inter espaçadas’. Em conjunto com a enzima de restrição Cas9, o complexo atua como um mecanismo de imunidade adaptativa de bactérias contra a invasão de vírus e plasmídeos (Doudna; Charpentier, 2014). Fortuitamente, as pesquisadoras Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier identificaram a funcionalidade do complexo CRISPR-Cas9 e, com isso, a possibilidade de utilizá-lo como uma tecnologia de edição gênica. A partir daí, uma nova era

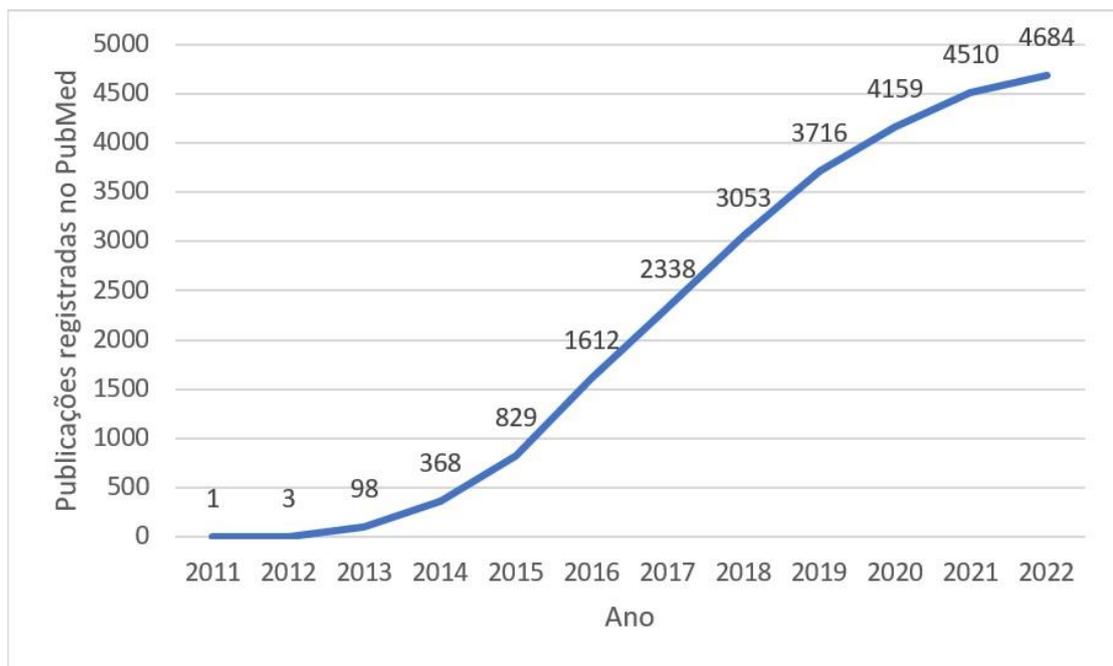
¹ Na dissertação, opto, na grande maioria das vezes, pelo uso do artigo ‘a’ para referir-me à CRISPR-Cas9. Vale ressaltar, no entanto, que ao longo do trabalho utilizo diferentes nomenclaturas para designar-me a ela, como: ‘técnica’, ‘ferramenta’, ‘sistema’ e ‘complexo’. CRISPR-Cas9 é um sistema na medida em que inclui diferentes etapas interligadas e dependentes entre si que culminarão no propósito de edição de genes. É um complexo, uma vez que engloba componentes específicos que atuarão em conjunto a fim de promover a edição. É uma técnica, visto ter sido desenvolvida como uma técnica de edição gênica, ou seja, é um procedimento com fins de edição genética. É uma ferramenta, por ser utilizada como instrumento de manipulação genética.

da engenharia genética se estabeleceu, trazendo esperanças e receios quanto a eticidade de seu uso.

Eficaz, preciso e de baixo custo², o sistema CRISPR-Cas9 rapidamente supriu as limitações existentes no campo da edição genética, chamando a atenção de pesquisadores ao redor do mundo. Segundo um relatório da revista *Nature*, as publicações científicas sobre a CRISPR têm superado o número de publicações sobre demais tecnologias de edição genética (Ledford, 2015). E o relatório *Nuffield*, de 2016, aponta ser notável a rapidez com que a CRISPR-Cas9 foi adotada como técnica experimental e como as pesquisas avançam em várias frentes (Nuffield Council on Bioethics, 2016).

A CRISPR-Cas9 tem despertado crescente interesse, o que se revela, em parte, pelo crescente número de publicações. A título de ilustração, numa pesquisa na base de dados PubMed, utilizando a palavra-chave “CRISPR-Cas9”, encontramos o gráfico a seguir.

Gráfico 1- Progressão anual das publicações envolvendo CRISPR-Cas9 registradas na base de dados PubMed



Fonte: autoria própria, a partir das informações coletadas na base de dados PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

² Enquanto as técnicas ZFN e TALEN (anteriores à CRISPR-Cas) abrangem um custo de € 30.000,00 e € 10.000,00, respectivamente, a ferramenta CRISPR-Cas9 tem um custo de aproximadamente € 20,00 e € 30,00 (Lacadena, 2017).

Ainda que diversas pesquisas estejam sendo realizadas com o intuito de estudar suas aplicações em células somáticas com fins terapêuticos, há, entretanto, uma área permeada por mais incertezas e que requer cautela nesse campo científico: a edição genética da linhagem germinativa humana.

Falar em manipulação do genoma da linhagem germinativa e de edição genética de gametas ou embriões humanos, significa entrar em um debate cercado por incertezas, riscos e desafios. Isso porque, diferente da edição de células somáticas, a edição de células germinativas permite a alteração genética de todas as células diferenciadas de um organismo, assegurando, dessa forma, que tais alterações sejam transmitidas à prole (Baltimore *et al.*, 2015). Qualquer possível dano causado por uma mutação genética *off-target*, por exemplo, seria transmitida à descendência podendo, por conseguinte, pôr em risco a espécie humana.

Segundo Sganzerla e Pessini (2020), alguns cientistas afirmam que estamos vivendo uma nova era da história humana, chamada de antropoceno, na qual o ser humano assume possíveis ônus e bônus pelas mudanças realizadas tanto em si próprio, como no planeta, incluindo as mudanças genômicas. Nesse sentido, o advento da CRISPR-Cas9 se torna um novo divisor de águas da engenharia genética, ficando explícito, por um lado, o crescente interesse de estudiosos, pesquisadores e profissionais técnicos que buscam a maior compreensão e aprimoramento da técnica e, por outro, as incertezas técnicas e questões normativas a respeito da manipulação do DNA humano.

Embora os usos da CRISPR-Cas9 desponham como potencialmente muito promissores, ainda há incertezas relevantes em relação às suas implicações. Em meio a essas incertezas, não parece ser aconselhável assumir uma postura extremista, seja tecnofóbica, seja tecnoutópica. Ou seja, mais do que afirmações categóricas a favor ou contra o que parece ser fundamental é o desenvolvimento de mais estudos, a fim de ampliar nosso entendimento técnico, bem como a compreensão dos seus desafios normativos decorrentes da utilização da técnica na manipulação genética de embriões humanos.

Segundo Baltimore e colaboradores (2015) seria interessante a promoção do debate entre a comunidade científica, o público não especializado, representantes de instituições estatais e do setor privado interessado no desenvolvimento de produtos biotecnológicos, a fim de analisar as aplicações responsáveis dessa biotecnologia. Minha pesquisa insere-se nesse esforço conjunto e assumo como postulado o entendimento de que o rápido avanço das pesquisas científicas deve ser acompanhado de debates críticos, tanto no campo normativo quanto científico, a fim de identificar as reais aplicações da técnica, seus potenciais riscos e benefícios, as questões éticas levantadas e como enfrentá-las via regulação.

Na pesquisa, com base em Baylis e colaboradores (2020), adotarei a seguinte nomenclatura: a) edição do genoma germinativo (ou edição genética germinativa) (EGG), destinada às modificações genéticas na linha germinal (células precursoras, óvulos, espermatozoides ou embriões em estágio inicial)³ em laboratório, ou seja, sem fins reprodutivos; b) edição do genoma hereditário (ou edição genética hereditária) (EGH), destinada às modificações genéticas na linha germinal com fins reprodutivos, ou seja, com transferência dos embriões geneticamente modificados para um útero, visando ao nascimento de bebês geneticamente modificados (Baylis *et al.*, 2020).

Embora não se restrinja a ele, a motivação da minha pesquisa deve-se, em parte, a um famoso caso de descumprimento da moratória ocorrido em 2018. O consenso que tinha sido estabelecido pela comunidade científica e vinha sendo respeitado desde 2015 foi posto em xeque diante da notícia de que os primeiros bebês geneticamente modificados teriam sido ‘criados’, o que abalou toda comunidade acadêmica e representou uma afronta aos postulados éticos (Hupffer; Berwig, 2020). Oye revela sua preocupação com o fato de a ciência estar avançando mais rápido que as mudanças regulatórias (Oye *et al.*, 2014) e Jennifer Doudna afirmou ter ficado horrorizada com o experimento de He Jiankui (cientista responsável pela edição gênica das bebês Lulu e Nana), destacando a importância de uma regulamentação ética e científica, a fim de evitar que novas violações voltem acontecer (*apud* Sganzerla; Pessini, 2020).

Reafirmando o postulado da pesquisa, o amplo debate em torno do uso da CRISPR-Cas9 com fins de edição gênica em células embrionárias se mostra de fundamental importância, sobretudo no que se refere à regulamentação da técnica. Nesse sentido, é necessário o conhecimento dos documentos regulatórios disponíveis em nível nacional e internacional, sejam eles aplicados à *soft law* ou à *hard law*, para que, dessa forma, os debates tenham fundamentação teórica, a fim de discutir a eticidade e legalidade da técnica, os avanços científicos e seus possíveis usos clínicos.

Aqui é importante destacar, no entanto, que os conceitos de *soft law* e *hard law* são relativos ao Direito Internacional, ou seja, às normas internacionais. No âmbito da *soft law*, as regulamentações oferecem apenas um conjunto de orientações/recomendações que comumente são chamadas de *guidelines*. Em outras palavras, ela não é vinculativa do ponto

³ Vale esclarecer que tanto gametas (óvulos e espermatozoides) quanto embriões não fazem parte da linhagem germinativa. A linhagem germinal se refere à linhagem celular precursora aos gametas. No entanto, para facilitar a nomenclatura e melhor diferenciar edição genética em linhagem germinativa e em embrião humano de edição genética em células somáticas humanas, utilizo a nomenclatura proposta por Baylis e colaboradores (2020).

de vista da coerção. No âmbito da *hard law*, por outro lado, a discussão ocorre a partir de regulamentações vinculativas sancionatórias configurando, por exemplo, os tratados e convenções. Esclarecido isso, destaco que no presente trabalho utilizo, por analogia, tais conceitos de *soft law* e *hard law* para também discorrer sobre a regulamentação nacional.

Minha hipótese é que, por mais que debates sejam fomentados, que diretrizes, resoluções e documentos afins sejam criados e que haja regulamentações domésticas que orientem, minimamente, o uso da ferramenta, há carência de uma regulamentação *hard law* que resguarde, legalmente e em nível internacional, a sociedade contra eventuais usos ilegais da técnica e crie punições efetivas contra aqueles que a violarem. Na presente dissertação, então, meu objetivo geral é analisar o quadro regulatório nacional (*soft* e *hard law*) e internacional (documentos internacionais *soft law* destinados aos diferentes Estados) aplicável ao referido uso da CRISPR-Cas9, a fim de prover uma espécie de diagnóstico crítico acerca da sua (in)suficiência. A análise será realizada por meio de uma revisão narrativa da literatura.

A dissertação se constitui de seis capítulos, sendo o primeiro destinado à introdução. No capítulo 2, intitulado *Edição Genética*, diferencio conceitos biológicos indispensáveis à discussão sobre a CRISPR-Cas9 como técnica de edição genética terapêutica. O capítulo é dividido em três seções, a saber: 2.1 *Conceitos biológicos básicos*; 2.2 *Manipulações biológicas* e; 2.3 *Edição genética: conceito e apontamentos*. Na seção 2.1, apresento um breve contexto histórico e explico conceitos biológicos iniciais à discussão. Na seção 2.2, diferencio e faço uma explanação sobre importantes conceitos referentes a manipulações biológicas, dividindo a seção em duas subseções: 2.2.1 *Manipulação genética e Engenharia genética* e; 2.2.2 *Terapia gênica*. Por fim, na seção 2.3, ressalto o conceito e a finalidade da edição genética e aponto as técnicas disponíveis capazes de promover tal edição.

O capítulo três, intitulado *CRISPR-Cas9: a nova tecnologia de edição genética*, é dividido em quatro seções. Na seção 3.1, *Aspectos técnicos*, analiso as questões técnicas da CRISPR-Cas9, demonstrando como o sistema de edição gênica, por essa ferramenta, funciona. Na seção 3.2, *CRISPR-Cas9 e a terapia gênica*, apresento a funcionalidade da CRISPR-Cas9 como uma técnica de terapia gênica, destacando os pré-requisitos do uso da edição genética nesse campo e apontando as diferenças de seu uso em células somáticas e germinativas, discussão crucial para o debate em questão. A seção 3.3, *Riscos e benefícios*, destina-se a demonstrar os riscos e benefícios da técnica na edição do genoma humano, que servirão como base para a discussão normativa mais adiante. Para isso, ela é subdividida em três subseções: 3.3.1 *Conceito de risco*, onde diferencio os importantes conceitos de risco, incerteza, perigo e álea; 3.3.2 *Riscos conhecidos*, onde apresento os riscos conhecidos e

registrados na literatura; 3.3.3 *Benefícios*, onde aponto os benefícios conhecidos e os benefícios em potencial. Na última seção, 3.4 *Aplicações atuais e possibilidades futuras*, apresento possíveis aplicações da edição genética humana, a partir da exemplificação de pesquisas realizadas que demonstram o cenário atual e possibilidades futuras do uso da CRISPR-Cas9 no campo terapêutico.

No capítulo 4, *Uso da CRISPR-Cas9 na edição genética de células somáticas e células germinativas*, trago alguns apontamentos complementares às informações já apresentadas em outras seções sobre a edição de células somáticas e germinativas, e saliento as diferenças normativas presentes nesses dois tipos de edição gênica.

O capítulo 5, intitulado *Panorama regulatório sobre o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética em embriões humanos*, destina-se a criar um panorama regulatório a partir da análise da regulamentação existente sobre o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana. Para tal propósito, divido o capítulo em três seções: 5.1 *Análise conceitual da soft law e da hard law*; 5.2 *O papel da soft law na regulamentação da edição genética da linhagem germinativa humana*; 5.3 *O cenário normativo brasileiro*. Na seção 5.1, destaco as diferenças conceituais presentes entre os termos *soft law* e *hard law* e resalto as diferenças e impactos que elas podem ter em processos regulatórios. Na seção 5.2, reúno os documentos de *soft law* (declarações, relatórios, recomendações e diretrizes) relacionados à edição genética humana por CRISPR-Cas9 e faço uma análise de sua efetividade na regulamentação da técnica. Por último, na seção 5.3, apresento o cenário normativo brasileiro, destacando documentos representativos de *soft* e *hard law*.

No capítulo 6, destinado às *Considerações finais*, demonstro a necessidade do fomento de mais debates interdisciplinares e da criação de uma legislação específica, em nível internacional, que regulamente a técnica CRISPR-Cas9 na edição genética humana, incluindo a importante e polêmica edição germinativa humana.

2 EDIÇÃO GENÉTICA

Antes de iniciar a discussão sobre a CRISPR-Cas9, é necessário definir alguns conceitos-chave, bem como destacar algumas informações básicas sobre o funcionamento genético, a fim de buscar a máxima clareza e, com isso, promover a melhor compreensão da técnica. A diferenciação de conceitos biológicos básicos e a compreensão técnica do uso da CRISPR-Cas9 na edição genética são imprescindíveis para um debate normativo com qualidade científica.

Sendo assim, divido o capítulo em três seções. Na primeira, defino conceitos biológicos básicos e traço um breve histórico dos avanços biotecnológicos que culminaram na engenharia genética. Na segunda seção, diferencio e explico aspectos relacionados à manipulação genética, engenharia genética e terapia gênica. Na terceira, defino o conceito de edição genética e faço alguns apontamentos sobre ela, criando um subsídio conceitual antes de iniciar a discussão sobre a CRISPR-Cas9.

2.1 CONCEITOS BIOLÓGICOS BÁSICOS

A ciência avança por meio de descobertas de diversos pesquisadores ao longo do tempo. O atual estágio de desenvolvimento, então, é precedido por uma série de achados de pesquisa. Abaixo, faço um breve resgate dos antecedentes científicos no campo da genética que viabilizaram a engenharia genética, sem a intenção de realizar uma reconstrução detalhada e debatida.

Em 1865, o monge agostiniano Gregor Mendel apresentou o resultado de seus estudos com cruzamento de ervilhas à sociedade e, em 1866, publicou o artigo “Experimentos em hibridização de plantas” propondo as leis da hereditariedade (Leis de Mendel). Seu trabalho ficou no anonimato por trinta e cinco anos, até ser descoberto por três cientistas simultaneamente: Hugo de Vries (Holanda), Carl Correns (Alemanha) e Eric von Tshermak-Sevsenegg (Áustria). O trabalho de Mendel, entretanto, foi mais amplamente divulgado por William Bateson, biólogo inglês responsável por criar o termo “genética” (Astrauskas *et al.*, 2009; Henig, 2001; Verdival, 2022). A partir da descoberta do estudo de Mendel, a genética se iniciou como uma nova área de estudo científico e Gregor Mendel passou a ser considerado o ‘pai da genética’.

Em 1909, o dinamarquês Wilhelm Johannsen⁴ criou o termo ‘gene’ (Johannsen, 1909) para classificar a unidade fundamental de hereditariedade proposta por Mendel. Os genes, por sua vez, são segmentos do ácido desoxirribonucleico (DNA⁵) que apresentam o material genético da célula contido nos cromossomos.

O DNA, como um ácido nucleico, foi descoberto por Friedrich Miescher, em 1869. Já o DNA, como a molécula da hereditariedade, foi descoberto, em 1944, por Oswald Avery, Colin MacLeod e Macllyn McCarty (Avery; Macleod; Mccarty, 1944). Mas os avanços científicos vão atingir um novo patamar somente em 1953, com a elucidação da estrutura tridimensional do DNA por James Watson e Francis Crick.

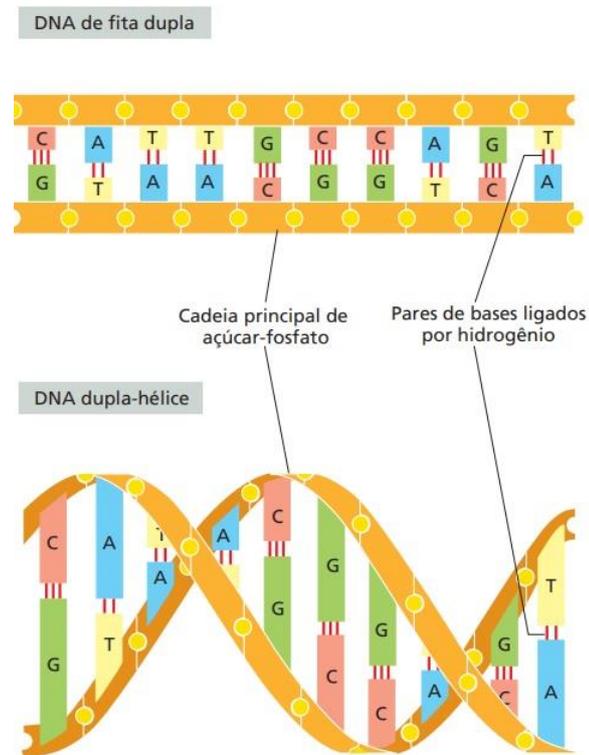
O experimento de Watson e Crick, que lhes rendeu o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1962 (The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 1962), foi possível graças a experimentos como o de Erwin Chargaff, que comprovou a equivalência entre as bases nitrogenadas A=T e C=G, e ao experimento de Rosalind Franklin e Maurice Wilkins, que identificou a estrutura helicoidal da molécula de DNA a partir dos estudos difração de raios-X (Góes-Favoli, 2017).

James Watson e Francis Crick, em um artigo publicado na revista científica *Nature*, descreveram seus achados sobre a identificação da estrutura tridimensional do DNA. O DNA é um ácido nucléico formado por duas cadeias polinucleotídicas helicoidais, antiparalelas e complementares. Há quatro bases nitrogenadas presentes no DNA: adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C), que se unem em pares por complementariedade de bases (Fig. 1). Essa complementariedade se dá a partir da união das bases nitrogenadas purinas e pirimidinas, por ligações do tipo pontes de hidrogênio, formando os pares de bases A=T e G=C (Watson; Crick, 1953). A compreensão do pareamento de bases é de fundamental importância para o entendimento das técnicas de edição genética, uma vez que a complementariedade das fitas é o ponto-chave da transmissão às gerações futuras.

⁴ Wilhelm Johannsen também foi o responsável por cunhar os termos ‘genótipo’ e ‘fenótipo’, diferenciando a informação genética presente no DNA das características físicas externas dos indivíduos (Johannsen, 1909).

⁵ A sigla DNA, em inglês, significa deoxyribonucleic acid. Em português traduz-se para ácido desoxirribonucleico (ADN). No entanto, mesmo na língua portuguesa, é frequente a utilização da sigla em inglês.

Figura 1 – Complementariedade de bases na dupla-fita de DNA



Fonte: Alberts *et al.*, 2017 (adaptado).

Segundo a *Regra de Chargaff*, o número de A é sempre igual ao de T e o número de G é sempre igual ao de C, sendo a soma das purinas igual a das pirimidinas (Chargaff, 1950). Uma vez que as fitas do DNA são complementares, é possível que a partir de uma única fita molde (fita-mãe) seja sintetizada uma outra fita complementar a ela (fita-filha). Dessa forma, a duplicação do DNA é possível ao se separar as fitas, cada uma servindo de molde para a síntese de outras. Esse processo, denominado ‘replicação semiconservativa’, foi descrito pelos norte-americanos Matthew Meselson e Franklin Stahl em 1958 (Meselson; Stahl, 1958), comprovando que a informação genética é preservada e transmitida às futuras gerações (Góes-Favoni, 2017).

Outro importante marco científico aconteceu logo após a descoberta da estrutura do DNA, com a apresentação do Dogma Central da Biologia Molecular por Crick, em 1970, na revista *Nature* (Crick, 1970). Crick postula que o fluxo de informação genética segue do DNA para o RNA, ao explicitar os processos de transmissão e expressão do genoma, a partir da replicação e transcrição do DNA e a tradução do ácido ribonucleico (RNA).

A expressão gênica se dá com a produção de uma molécula de RNA a partir de uma fita-molde de DNA, em um processo chamado transcrição. Embora as bases nitrogenadas

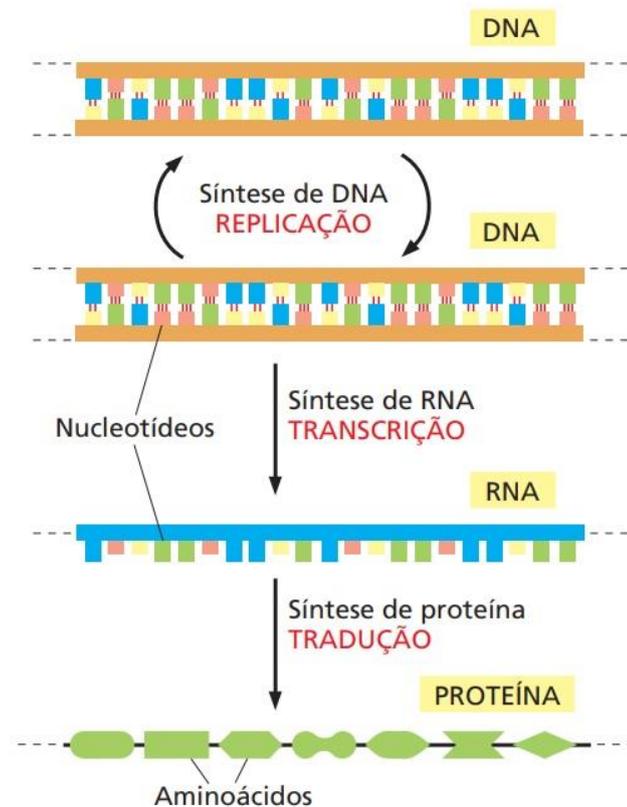
sejam ligeiramente diferentes, a sequência de nucleotídeos da molécula de RNA produzida representa, fielmente, uma porção da informação genética do DNA, uma vez que a fita de RNA será, necessariamente, complementar à fita-molde de DNA (conceito esse que será fundamental no entendimento da técnica CRISPR-Cas9). Um transcrito é, portanto, um RNA mensageiro (mRNA), sintetizado a partir de uma fita-molde de DNA, que codifica diferentes proteínas. Os transcritos atuam como intermediários na transferência da informação genética, guiando a síntese de proteínas em um processo chamado tradução (Alberts *et al.*, 2017).

Nesse contexto, é importante destacar o papel do gene como unidade fundamental da hereditariedade. Genes são segmentos específicos de DNA que contém instruções necessárias para a síntese de uma proteína ou de uma molécula de RNA. Em todas as células, a expressão desses genes é regulada de acordo com a necessidade, sendo alguns ativados e outros inativados. Essa regulação, por sua vez, se dá a partir de sequências de DNA regulador que se intercalam com segmentos codificantes (Alberts *et al.*, 2017).

O genoma humano é formado por sequências codificantes e não-codificantes de DNA. O DNA codificante (*éxons*) contém os genes que fornecem a informação genética necessária para a expressão gênica acontecer (transcrição e tradução). O DNA não-codificante (*íntrons*) é composto por sequências que atuam na regulação do DNA e por sequências de função ainda desconhecida. Resumidamente, os genes são compostos por *éxons* intercalados com *íntrons*, sendo que a maior parte (98%) é composto por *íntrons* e uma pequena parte (2%) é formada por *éxons* que codificam proteínas. Ou seja, a maior parte do genoma humano é composto por regiões que não codificam proteínas (Alberts *et al.*, 2017; Nussbaum *et al.*, 2008).

Sumariamente, a expressão gênica envolve: a duplicação do DNA (replicação); síntese de RNA, a partir de uma fita-molde de DNA (transcrição) e; síntese de proteínas (tradução) (Fig. 2). Os genes contêm, em seus *éxons*, a informação genética para a síntese proteica, mas, qualquer modificação (mutação) nesses genes pode afetar o organismo de alguma forma, provocando alterações físicas, cognitivas ou possíveis doenças (Alberts *et al.*, 2017; Nussbaum *et al.*, 2008). Daí o interesse em editar tais genes a fim de corrigir mutações danosas.

Figura 2 – Fluxo de informação genética (Dogma Central da Biologia Molecular)



Fonte: Alberts *et al.*, 2017 (adaptado).

Os experimentos de Watson e Crick e a elucidação do Dogma Central da Biologia Molecular contribuíram para a transposição da genética para uma *práxis* que ultrapassa o campo teórico (Verdival, 2022).

Um ‘divisor de águas’ nos estudos genéticos foi o Projeto Genoma Humano (PGH), que reuniu pesquisadores de diversos países na busca por sequenciar todo o genoma humano. O sequenciamento completo foi finalizado na década de 2000 e, mais do que determinar a sequência do DNA e localizar os milhares de genes nas células cromossômicas, o PGH teve como finalidade fulcral a investigação terapêutica a partir do estudo do papel dos genes na saúde e na doença (Buxó I Rey, 1999). Dessa forma, torna-se possível localizar possíveis genes causadores de doenças e sequenciar trechos de importância terapêutica (Verdival, 2022).

A partir daí, o interesse pelas pesquisas voltadas à manipulação genética com finalidades terapêuticas se intensificou. Com a possibilidade de modificar o DNA em regiões específicas, ativando ou silenciando genes de interesse, deu-se início à chamada Engenharia Genética.

2.2 MANIPULAÇÕES BIOLÓGICAS

Feito os aportes necessários para a compreensão de temas biomédicos tão complexos, podemos seguir a discussão para tópicos mais específicos. Mais uma vez, deparamo-nos com conceitos análogos ao buscar uma diferenciação entre os termos ‘manipulação genética’ e ‘engenharia genética’.

2.2.1 Manipulação genética e Engenharia Genética

Segundo Sá e Naves (2021, p. 197), a manipulação genética se refere “às técnicas de engenharia genética consistentes na modificação de material genético”. E, para Penna e Canola (2009, p. 78), as manipulações genéticas “dizem respeito à modificação celular, podendo tal atividade ser realizada em células vegetais ou animais”.

Em concordância com Malanda (2006), é importante que o conceito de manipulação genética não se confunda com o de engenharia genética. Segundo o autor, a manipulação genética concerne a biotecnologias capazes de modificar o genoma. Dessa forma, toda manipulação genética configura uma engenharia genética, mas nem toda técnica de engenharia genética representa, necessariamente, uma manipulação genética (*apud* Verdival, 2022).

A engenharia genética, por sua vez, engloba “um conjunto de técnicas de análises moleculares que permitem estudos de caracterização, expressão e modificações do material genético” (Cordeiro, 2003).

Nesse sentido, a engenharia genética engloba diferentes técnicas, tanto as que viabilizam a manipulação genômica, quanto as que abrangem o manejo de células. Em síntese, a manipulação genética diz respeito a técnicas voltadas a alterações no genoma, sendo uma espécie de engenharia genética. A engenharia genética, por outro lado, engloba também outras técnicas como, por exemplo, a clonagem e a reprodução assistida que não envolve alteração gênica.

A engenharia genética teve início em 1973, quando Stanley Cohen e Herbert Boyer divulgaram a descoberta do DNA recombinante (rDNA) (Cohen *et al.*, 1973), uma tecnologia capaz de criar um DNA artificial – um DNA geneticamente modificado, a partir da combinação de sequências de DNA que naturalmente não ocorreriam juntas (Moreira, 2014a).

O advento da tecnologia do DNA recombinante só foi possível, no entanto, graças à descoberta das enzimas de restrição pelos norte-americanos Hamilton Smith e Daniel Nathans

e pelo suíço Werner Arber, o que lhes rendeu o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1978 (The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 1978). Também chamadas de ‘tesouras genéticas’, as enzimas de restrição representam um tipo de endonuclease capaz de clivar a dupla-fita do DNA em locais específicos (Moreira, 2014b).

As pesquisas científicas avançaram gradualmente e a engenharia genética passou “da simples observação dos fatos para a explicação dos mesmos” (Barth, 2005, p. 364). Novas biotecnologias de manipulação genética surgiram acompanhadas de promessas terapêuticas para doenças que, até então, não tinham cura/tratamento.

A fim de não estender demasiadamente a discussão de temas que são importantes, mas não são meu foco de pesquisa, destacarei, na seção ‘2.3 Edição genética: conceito e apontamentos’, uma dentre as possíveis técnicas de engenharia genética: a edição genética. Antes, porém, discorrerei sobre a terapia gênica, uma das técnicas mais importantes da engenharia genética.

2.2.2 Terapia gênica

A terapia gênica humana, também chamada de terapia genética, representa uma das aplicações mais importantes da engenharia genética⁶. Na década de 1980, William French Anderson, considerado o pai da terapia gênica, indicou a possibilidade de usar o princípio da combinação de genes do DNA recombinante em tratamentos terapêuticos (Furtado, 2017).

Em 1990, Anderson e sua equipe conseguiram autorização da *Food and Drug Administration* (FDA) para realizar a primeira terapia em uma paciente com Imunodeficiência Combinada Grave (SCID, do inglês *Severe Combined Immunodeficiency*) (Anderson; Blaese; Culver, 1990). O tratamento obteve sucesso e impulsionou o avanço nas pesquisas com terapia genética (Naam, 2005).

A terapia gênica consiste na modificação do material genético via correção de genes mutados ou alterações sítio-específicas (Gonçalves; Paiva, 2017; Santos; Moraes Filho; Alves, 2020). Ela pode ser classificada quanto a dois aspectos, a saber: a) o tipo celular a ser manipulado; e b) a forma de entrega às células. Em relação ao aspecto ‘a’, o tratamento pode ser realizado tanto com a terapia gênica de células somáticas, quanto com a terapia gênica de

⁶ É imprescindível salientar que engenharia genética não é terapia gênica. As terapias genéticas são técnicas de engenharia genética. Como frisa Verdival (p. 99, 2022), “engenharia genética é gênero, terapia genética é espécie”.

células germinativas. E cabe aqui esclarecer a diferença entre células somáticas e células germinativas, antes de seguir com a explanação sobre a terapia gênica.

As células que formam o organismo humano são de dois tipos: células germinativas e células somáticas. As células germinativas dão origem aos gametas (óvulos e espermatozoides) que representam as células reprodutivas, ou seja, capazes de transferir suas informações genéticas a futuras gerações. As células somáticas, por outro lado, configuram todas as demais células do organismo – células adultas, já diferenciadas – e apresentam dois conjuntos cromossômicos (diploide), enquanto as células germinativas apresentam um conjunto cromossômico (haploide)⁷ (Alberts *et al.*, 2017; Nussbaum *et al.*, 2008). No quadro abaixo, sintetizo, de forma esquemática, as diferenças entre elas.

Quadro 1- Diferenças entre células germinativas e células somáticas

Célula germinativa	Célula somática
Gametas (óvulo e espermatozoide)	Demais células do corpo (p.ex., célula muscular)
Haploide (n)	Diploide (2n)
Divisão celular: meiose	Divisão celular: mitose
Tem caráter de transmissibilidade genética	Não tem caráter de transmissibilidade genética

Fonte: autoria própria.

Qualquer tipo de alteração promovida na linhagem somática ficará restrita àquele indivíduo que se submeteu à terapia gênica, uma vez que as células somáticas são células diferenciadas, incapazes de gerar células reprodutivas (responsáveis pela transmissibilidade genética). Alterações efetuadas na linhagem germinal, por sua vez, estarão presentes tanto no indivíduo que passou pela terapia como serão transmitidas à sua descendência.

⁷ As células somáticas humanas apresentam 46 cromossomos arranjados em 23 pares no núcleo das células. Desses 23 pares, 22 são chamados autossomos e o par restante é chamado de sexual. Os cromossomos autossomos são semelhantes em homens e mulheres, enquanto que os cromossomos sexuais diferem entre eles: as mulheres apresentam dois cromossomos X e os homens apresentam um cromossomo X e um cromossomo Y. No processo de divisão celular nos primeiros estágios de vida do embrião, um membro de cada par dos cromossomos é herdado do pai e outro é herdado da mãe (Nussbaum *et al.*, 2008).

A possibilidade de realizar alterações (terapêuticas e não-terapêuticas) em nível germinal e o caráter de transmissibilidade genética às gerações futuras são aspectos significativos, que acarretam questões ético-jurídicas relacionadas aos “direitos das gerações futuras, manifestados, mais especificamente, no direito à vida, à preservação da espécie humana e ao conhecimento da origem biológica e identidade genética” (Verdival, 2022).

Em vista disso, e diante da falta de um conhecimento pleno sobre os riscos que essas biotecnologias podem trazer, especialmente em nível germinal, debates bioéticos são fomentados a fim de discutir os problemas éticos referentes à edição genética humana por CRISPR-Cas9. Voltarei a esse tópico mais adiante, onde discorrerei mais profundamente sobre o debate bioético em torno da engenharia genética.

A segunda classificação das terapias genéticas diz respeito ao aspecto ‘b’ – classificação quanto à forma de entrega à célula. A inserção de um gene saudável na célula-alvo se dá através de um carreador molecular chamado ‘vetor’, o qual não pode ser imunogênico, ou seja, não deve provocar resposta inflamatória no paciente. Além disso, ele deve corrigir deficiências, aumentar as funções normais e ser seguro para o paciente, para os profissionais envolvidos no procedimento e para o meio ambiente (Oliveira *et al.*, 2018). Há três grupos de vetores principais, a saber: plasmidiais, nanoestruturados e virais, sendo estes últimos os mais utilizados, por apresentarem maior eficácia na entrega (Gonçalves; Paiva, 2017; Linden, 2010).

O principal desafio da terapia gênica está na entrega do gene terapêutico à célula-alvo. Realizar esta entrega de forma segura, precisa e eficaz é o foco de excelência das pesquisas científicas. E uma das formas de entrega, como já mencionado, é via vetores virais. A entrega via vetores virais se dá a partir da inserção do gene terapêutico no genoma viral. Após ser injetado no paciente, o vírus não-replicante insere o material genético na célula do hospedeiro que, por sua vez, irá expressar essa informação gênica contendo o gene terapêutico (Stephens *et al.*, 2009). A fim de inibir a imunogenicidade, é fundamental que o vírus utilizado seja não-replicante, ou seja, incapaz de se replicar dentro da célula e, conseqüentemente, causar infecção. Dessa forma, ao assumir a função de ‘carreador’, o vírus passa a ser chamado de vetor (Oliveira *et al.*, 2018).

Apesar da eficácia na entrega do transgene, certos vetores, como os adenovírus, apresentam algumas desvantagens pelo risco patogênico que carregam. Os adenovírus são altamente imunogênicos e, dessa maneira, superestimulam o sistema imunológico do paciente – mesmo sendo incapazes de causar doença. Além disso, esses vetores são pouco precisos em relação ao local onde eles se ligam no DNA da célula de interesse (Furtado, 2017; Vannucci

et al., 2013). Um recente exemplo do risco de desenvolvimento de resposta imunológica contra os vetores adenovirais foi visto no desenvolvimento de uma forma grave de trombose após vacinação contra a SARS-Cov-2, que utilizou adenovírus para a expressão das proteínas imunogênicas do vírus (Lima, 2023).

Em vista disso, outros vetores virais podem ser mais indicados no contexto da terapia gênica. Os vírus adenoassociados (AAV), por exemplo, são menos imunogênicos, o que produz uma resposta imunológica mais baixa, quando comparado àquela estimulada por adenovírus (Furtado, 2017). De fato, observa-se, nos últimos anos, um significativo avanço na engenharia de vetores com a minimização dos riscos. Os vetores baseados em AAV têm ganhado mais espaço na terapia gênica pela sua baixa imunogenicidade, segurança e diversidade de sorotipos, o que viabiliza seu uso no tratamento de diversas doenças (Lima, 2023). Uma lista de vetores virais e suas diferenças pode ser vista no quadro 2.

Quadro 2- Diferenças entre os vetores virais na terapia gênica

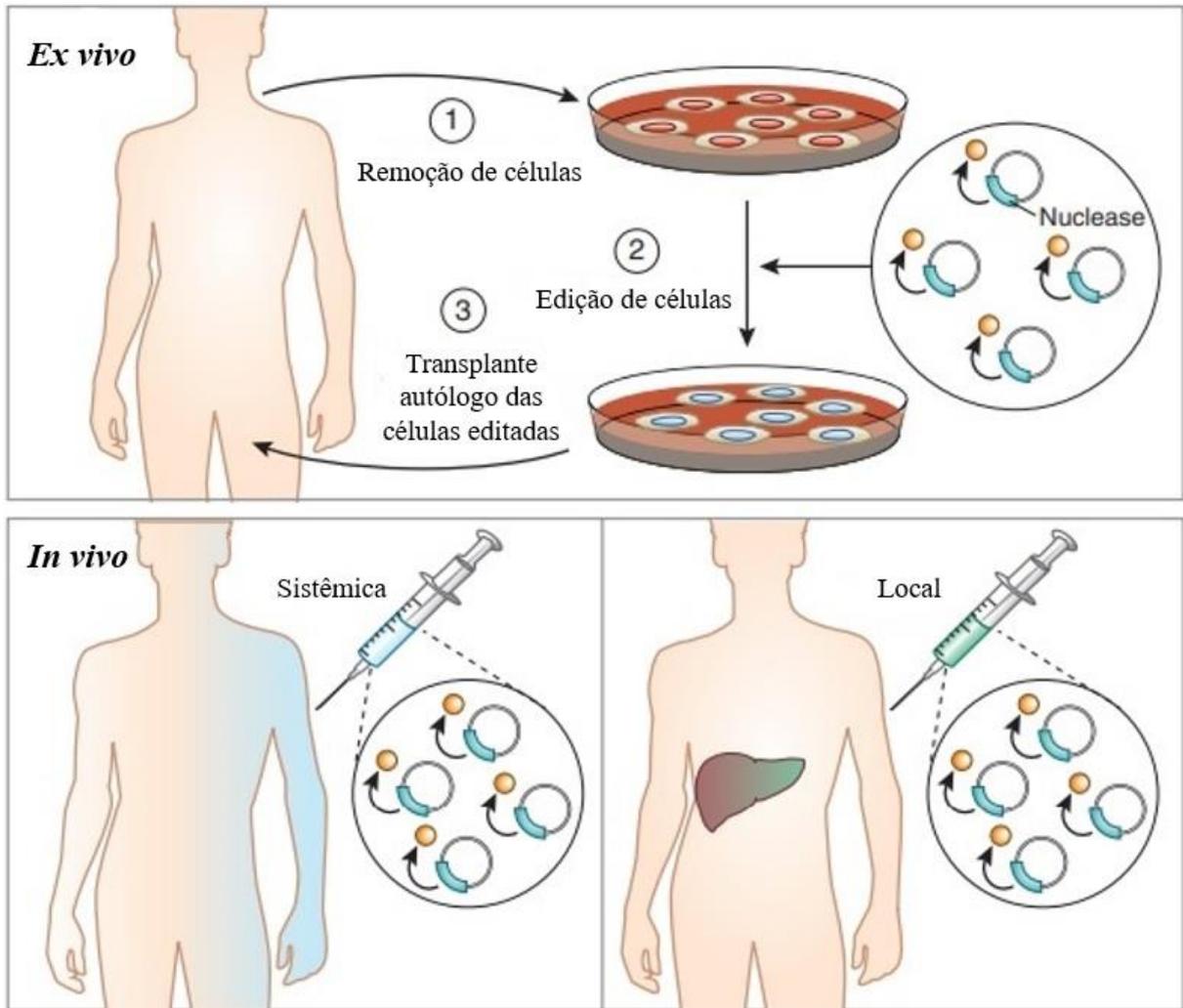
	Retrovírus	Lentivírus	Herpesvírus	Adenovírus	Adeno-associado	Plasmídeo
Provírus	RNA	RNA	RNA	DNA	DNA	DNA
Capacidade	~ 9 kB	~ 10kB	> 30 kB	~ 30 kB	4,6 kB	ilimitado
Integração no genoma do receptor	sim	sim	sim	não	raríssima	não
Rearranjos do transgene	+	-	-	-	-	-
Duração da expressão do transgene	longa	longa	transitória	transitória	longa em células pós mitóticas	transitória
Transdução de células pós mitóticas	-	+	+++	+++	++	+

Imunidade preexistente no receptor	não	não	sim	sim	sim	não
Efeitos adversos	mutagênese insercional	mutagênese insercional	resposta inflamatória	resposta inflamatória	leve resposta inflamatória	não
Transmissão em linhagem germinativa	-/+	+	-	-	-/+	-

Fonte: Linden, 2010 (adaptado).

Ainda é importante salientar que a terapia gênica pode ser realizada a partir de duas formas: *in vivo* e *ex vivo*. Na forma *ex vivo*, a população de células-alvo é removida do paciente, modificada pelas ferramentas adequadas de entrega de genes *in vitro* – p. ex. tecnologias de edição genética – e, por fim, devolvida ao paciente a partir de transplante autólogo ou alogênico. Para que a terapia de edição *ex vivo* seja bem-sucedida, é imprescindível que as células-alvo estejam aptas a sobreviverem fora do corpo. Na forma *in vivo*, os vetores contendo os genes terapêuticos são entregues diretamente ao paciente, onde a modificação genética ocorre *in situ*. A terapia *in vivo* pode ser alcançada através de uma injeção local no tecido afetado ou através de uma injeção sistêmica de vetores com tropismo aos tecidos-alvo específicos (conforme ilustrado na fig. 3 à direita e à esquerda, respectivamente). No entanto, a terapia *in vivo* traz o significativo risco de modificação genética em tecido germinativo, situação essa de difícil controle (Barboza *et al.*, 2020; Cox; Platt; Zhang, 2015; Tamura; Toda, 2020).

Figura 3 - Terapia de edição *ex vivo* versus *in vivo*



Fonte: Cox; Platt; Zhang, 2015 (adaptado).

A inserção aleatória de genes terapêuticos no genoma do hospedeiro a partir da terapia gênica, no entanto, levantou preocupações em relação à mutagênese insercional e a ativação de oncogenes. Isso evidenciou, segundo Tamura e Toda (2020), a necessidade da criação de uma nova tecnologia capaz de inserir, intencionalmente, genes em sítios específicos do genoma. Essa necessidade passou a ser vislumbrada a partir do advento das tecnologias de edição genética, abordadas a seguir.

2.3 EDIÇÃO GENÉTICA: CONCEITO E APONTAMENTOS

Desde o sequenciamento genético decorrente do sucesso do Projeto Genoma Humano, o grande alvo dos pesquisadores da área era desenvolver uma tecnologia capaz de promover modificações pontuais no genoma humano de forma segura, precisa e eficaz. Esse tem sido o

grande projeto da ciência genética e, também, o grande desafio da medicina (Gonçalves; Paiva, 2017; Santos; Moraes Filho; Alves, 2020).

A edição genética é um procedimento de engenharia genética capaz de alterar a expressão gênica de um indivíduo a partir da inserção, remoção ou alteração de uma sequência genética. Metaforicamente, a expressão ‘edição’ faz referência à edição de um texto. Da mesma forma que letras, palavras ou, até mesmo, trechos inteiros podem ser adicionados, deletados ou modificados em um texto, o ‘livro da vida’ – alusão ao genoma humano – também poderia ser editado (Furtado, 2019; Verdival, 2022).

A caracterização do genoma humano como o ‘livro da vida’ teve início durante o Projeto Genoma Humano, com os genes representando as ‘frases’ do livro e as ‘letras’ A, C, G e T (letras iniciais das bases nitrogenadas do DNA) formando o ‘alfabeto genético’ (Nuffield Council on Bioethics, 2016). Segundo o relatório *Nuffield* (2016), a partir dessa metáfora, é possível distinguir o editor – aquele que promove a edição – do *autor criativo*. E ainda destaca outras metáforas já usadas para se referir à edição genética, como: ‘reescrita do genoma’ (sugere uma intervenção mais substancial); ‘cirurgia do genoma’ (evoca o corte e remoção de trechos do DNA); ‘bala mágica’ (que elimina características genéticas indesejáveis sem danos colaterais ou consequências adversas).

De qualquer forma, a alusão ao genoma humano como o ‘livro da vida’ é a metáfora utilizada atualmente e, segundo o mesmo relatório, é importante que essa metáfora não “dissimule questões éticas significativas por meio do uso de eufemismos ou desvie o raciocínio ao estender demais o poder da analogia” (Nuffield Council on Bioethics, 2016, p. 20).

Resumidamente, as técnicas de edição genética se baseiam em três etapas: reconhecimento da sequência-alvo, clivagem da dupla-fita do DNA e reparo molecular (Tobita; Guzman-Lepe; Collin De L'hortet, 2015). Diferentemente de outras técnicas de engenharia genética, a edição permite realizar ‘cortes’ em sítios específicos do DNA e, se antes a estratégia utilizada pela terapia gênica era de ‘copiar e colar’ (*genome addition*), hoje, a terapia gênica utiliza a estratégia de ‘recortar e colar’ (*genome editing*) (Tobita; Guzman-Lepe; Collin De L'hortet, 2015).

A edição genética começou a ganhar espaço a partir da descoberta das endonucleases de restrição – um tipo de enzima capaz de clivar a dupla-fita do DNA em locais específicos. Biotecnologias, como as ‘tesouras genéticas’, foram criadas e, nesse contexto, destacam-se as técnicas ZFNs (*Zinc Fingers Nucleases*) e TALENs (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*).

ZFNs são fusões do domínio de clivagem de DNA inespecífico da endonuclease de restrição FokI e *zinc finger proteins* (ZFPs) que reconhecem e clivam sequências específicas do DNA a partir de *double-strand breaks* (DSBs) (Kim *et al.*, 2011). Sua projeção, entretanto, é difícil e demorada (Tamura; Toda, 2020).

TALENs consistem em fusões de um domínio de ligação ao DNA derivado de nucleases TALE e o domínio de clivagem da endonuclease de restrição FokI (Becker; Boch, 2021). Os TALENs têm múltiplos domínios de repetição de 33-35 aminoácidos que reconhecem um único par de bases, levando ao alvo onde ocorrerá DSBs (Tamura; Toda, 2020). Em síntese, essa foi a primeira ferramenta projetada capaz de atingir qualquer *locus* genômico com alta especificidade e precisão (Becker; Boch, 2021).

Ambas as técnicas eram verdadeiras promessas científicas na área de edição genômica, mas o desafio em projetar e validar as proteínas para um *locus* específico do DNA, além da simplicidade de uso e baixo custo (Quadro 3) da ferramenta CRISPR-Cas9, as tornaram pouco funcionais (Doudna; Charpentier, 2014; Hupffer; Berwig, 2020).

O advento da CRISPR-Cas9, uma técnica eficaz, simples, precisa e de baixo custo, superou rapidamente tais limitações, uma vez que a sequência-alvo é alcançada de forma muito mais precisa através da utilização de uma molécula de RNA-guia (gRNA), ao invés de proteínas projetadas para cada sequência de interesse (Polstein; Gersbach, 2015). Além disso, diferente das técnicas anteriores, a CRISPR-Cas9 é *multiplex*, ou seja, é capaz de alcançar vários genes de uma só vez (Doudna; Charpentier, 2014).

Dessa forma, as ‘tesouras genéticas’ – técnicas caras⁸ e de alta complexidade – dão lugar aos ‘bisturis genéticos’ – mais simples, precisos e de baixo custo – e, aos poucos, o complexo CRISPR-Cas9 se tornou o novo alvo das pesquisas de engenharia genética (Hupffer; Berwig, 2020; Marfany, 2019). Como aponta Verdival (2022), possibilidades custosas, complexas e remotas dão lugar a uma realidade mais simples, menos custosa e factível.

⁸ Segundo Ledford, a técnica ZFN custa em torno de \$5.000,00 para ser encomendada e é de difícil projeção, enquanto a CRISPR-Cas9 custa em torno de \$30,00 e é de mais simples manipulação/manuseio (Ledford, 2015).

Quadro 3 - Características e diferenças entre as técnicas de edição genética

	ZFNs	TALENs	CRISPR/Cas9
Comprimento do alvo de DNA reconhecido	9–18bp	30–40bp	22bp + sequência PAM
Reconhecimento de DNA	Interação multimérica proteína-DNA	Interação proteína-DNA	Interação RNA-DNA
Projeção da nuclease	Difícil	Viável	Fácil
Custo	Alto	Moderado	Baixo
Taxa de sucesso da projeção da nuclease	Baixo	Alto	Alto
Potenciais efeitos <i>off-target</i>	Sim	Sim	Sim
Especificidade	Moderado	Alto	Moderado
Sensibilidade à metilação do DNA	Desconhecido	Sensível à metilação CpG	Não sensível à metilação CpG

Fonte: Tamura; Toda, 2020 (adaptado).

3 CRISPR-CAS9: A NOVA TECNOLOGIA DE EDIÇÃO GENÉTICA

A descoberta da aplicação da técnica CRISPR-Cas9 na edição genética revolucionou a percepção da engenharia genética. Segundo Santaló (2017), isso se deve a quatro aspectos fundamentais: i) a especificidade da técnica em promover modificações sítio-específicas; ii) a eficiência e a facilidade na produção de modificações; iii) a maior acessibilidade à técnica, tendo em vista a maior simplicidade de aplicação; iv) a versatilidade do uso que levou ao surgimento de novas variantes (Santaló, 2017).

Com a intenção de explicar a técnica CRISPR-Cas9 de forma mais objetiva possível, para, assim, iniciar a discussão normativa, divido o capítulo em quatro seções.

Na primeira, destaco alguns aspectos técnicos básicos para a compressão do funcionamento da técnica na edição genética humana. Na segunda seção, apresento a CRISPR-Cas9 como uma das técnicas da terapia gênica. Na terceira seção, explico o conceito de risco, apresento os riscos e desafios conhecidos e listo os benefícios que a técnica apresenta. E, na quarta e última seção, apresento as aplicações da CRISPR-Cas9, discorrendo, brevemente, sobre algumas pesquisas laboratoriais e clínicas já realizadas e seus resultados.

3.1 ASPECTOS TÉCNICOS

Pode-se dizer que os estudos sobre a CRISPR tiveram início em 1987, quando Yoshizumi Ishino e colaboradores identificaram um *locus* peculiar no genoma da bactéria *Escherichia coli* (Ishino *et al.*, 1987). Essa região consistia em uma série de Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespçadas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) (Mojica *et al.*, 2000), que formam o acrônimo CRISPR – sigla somente criada em 2002 para nomear tais repetições⁹ (Jansen *et al.*, 2002).

Essa região de repetições nada mais é que uma série de curtas sequências separadas por espaçadores que se repetem regularmente. As repetições, por sua vez, são chamadas palindrômicas por serem idênticas, mesmo quando lidas em sentido invertido (Jinek *et al.*, 2013).

As sequências CRISPR só começaram a ser elucidadas a partir de estudos do pesquisador Francisco Juan Martínez Mojica, realizados em 1993, 2000 e 2005 (Mojica; Juez;

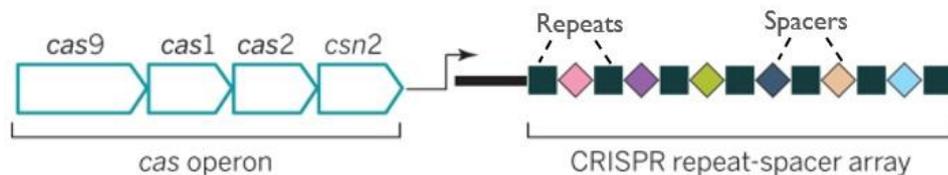
⁹ Antes de receber uma denominação específica, pesquisadores se referiam à CRISPR de maneira diversa, o que levava a uma nomenclatura confusa. Sendo assim, e a fim de evitar divergências na nomenclatura, Jansen e colaboradores (2002), em conjunto com Mojica e colaboradores, definiram e estabeleceram o acrônimo CRISPR (Jansen *et al.*, 2002).

Rodriguez-Valera, 1993; Mojica *et al.*, 2000; Mojica *et al.*, 2005). CRISPRs foram detectados em diversas bactérias e *archaeas*¹⁰ (Mojica *et al.*, 2000) e, a partir de descobertas – como a derivação viral e plasmidial de muitas sequências espaçadoras de CRISPRs (Mojica *et al.*, 2005) e o fato do *locus* CRISPR ser transcrito (Tang *et al.*, 2002) – foi proposto que o complexo CRISPR-Cas representava um sistema de defesa adaptativo.

Esse sistema de defesa adaptativo contra vírus e plasmídeos é mediado por uma molécula de RNA capaz de detectar, de forma específica, sequências de ácidos nucleicos estranhos, identificando, assim, a presença de material genético invasor (Jinek *et al.*, 2012). A endonuclease Cas (e aqui a análise se restringirá à Cas9)¹¹, por sua vez, é responsável por gerar *double-strand breaks* (DSBs) que clivam a dupla-fita do DNA invasor em locais específicos (Jinek *et al.*, 2013).

O sistema CRISPR-Cas (Fig. 4) é composto por genes Cas, organizados em *operon*¹², e por CRISPR *array* (matriz CRISPR), formado por espaçadores intercalados por sequências de repetições idênticas (Jinek *et al.*, 2012).

Figura 4 - Representação do *Locus* CRISPR



Fonte: Doudna; Charpentier, 2014 (adaptado).

Há três tipos de sistemas CRISPR-Cas (I, II e III). Cada um apresenta mecanismos moleculares distintos que convergem para o mesmo objetivo: reconhecer e clivar ácidos nucleicos exógenos. O que difere entre eles, basicamente, é a proteína Cas utilizada e o mecanismo de ação escolhido (Doudna; Charpentier, 2014; Santos *et al.*, 2016).

Os sistemas CRISPR-Cas tipo I e III, semelhantes entre si, utilizam endonucleases Cas especializadas que processam os pré-crRNA. Após a maturação do precursor, cada crRNA

¹⁰ *Archaea* é um domínio representado por organismos procariotos que compartilham características tanto de bactérias quanto de eucariotos (Reece, 2015).

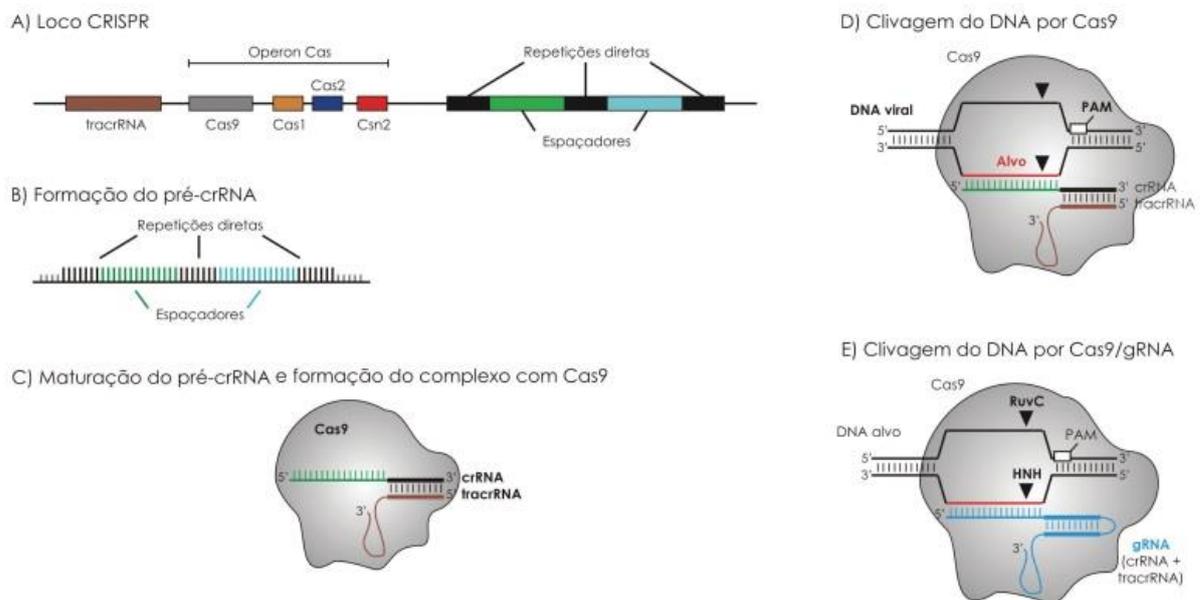
¹¹ Existe nove tipos de proteína Cas, cada uma específica para cada sistema CRISPR-Cas. As proteínas Cas1 e Cas2 estão presentes nos três tipos de sistema (Tipo I, Tipo II e Tipo III); As Cas5, Cas6 e Cas 7 nos Tipo I e Tipo III; Cas3 e Cas8 exclusivas do Tipo I; Cas9 exclusiva do Tipo II e Cas10 exclusiva do Tipo III (Pereira *et al.*, 2016). Minha análise se restringirá à Cas9, específica do sistema CRISPR-Cas Tipo II – meu alvo de interesse.

¹² O operon representa um agrupamento de genes organizado em sequência e transcrito por um único promotor. Eles são comuns em bactérias, mas raros em organismos eucariontes, uma vez que, nesses últimos, os genes são regulados e transcritos de forma individual (Alberts *et al.*, 2017).

(CRISPR RNA) se une a um grande complexo de proteínas multi-Cas, tornando-se responsáveis pelo reconhecimento e clivagem dos ácidos nucleicos exógenos – necessariamente complementares ao crRNA (Jinek, 2012).

O sistema CRISPR-Cas tipo II é mais simples, em comparação aos sistemas I e III, e requer apenas uma proteína para o reconhecimento e clivagem do DNA invasor – a proteína Cas9. Nesse sistema (Fig. 5), o pré-crRNA é processado em um crRNA maduro com o auxílio de um *trans-activating crRNA* (tracrRNA). O crRNA e o tracrRNA se fundem em um duplex de RNAs, formando o *single guide RNA* (sgRNA) que direcionará a Cas9 à sequência-alvo no DNA invasor por meio do reconhecimento de um domínio PAM (*protospacer adjacent motif*). Feito o reconhecimento, a Cas9 promove a clivagem eficaz da dupla-fita do DNA exógeno (Charpentier, 2015; Doudna; Charpentier, 2014; Ma; Zhang; Huang, 2014).

Figura 5- Processo de reconhecimento e clivagem da sequência-alvo a partir do sistema CRISPR-Cas9

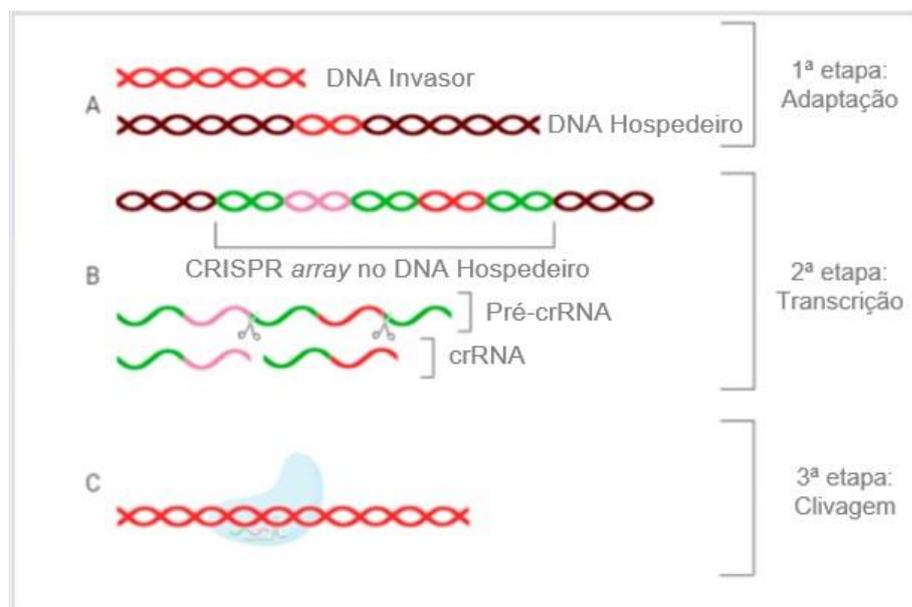


Fonte: Pereira *et al.*, 2016 (adaptado).

Em síntese, enquanto os sistemas tipo I e tipo III usam um grande complexo de proteínas Cas guiado por crRNA, o sistema tipo II requer apenas uma única proteína (Cas9) para reconhecer e clivar a sequência-alvo do DNA invasor. Essa propriedade provou ser muitíssimo útil para aplicações de engenharia genômica (Doudna; Charpentier, 2014) sendo o sistema CRISPR-Cas9 utilizado em larga escala nas pesquisas científicas e, por isso, meu foco de estudo será nesta ferramenta.

O sistema de defesa imunológico das bactérias e *archaeas* mediado por CRISPR-Cas9 acontece em 3 fases: adaptação, transcrição e clivagem (Fig. 6). A fase adaptativa é marcada pelo reconhecimento e inserção de fragmentos curtos do DNA invasor na extremidade proximal da matriz CRISPR (*CRISPR array*) como um novo protoespaçador. Na segunda fase, ocorre a transcrição do *locus* CRISPR em um precursor-crRNA (pré-crRNA) que, posteriormente, dará origem a CRISPR RNAs (crRNAs) individuais. No terceiro e último estágio, crRNAs maduros formam complexos com as proteínas Cas sendo capazes de reconhecer diferentes sequências genéticas exógenas complementares a eles. Em síntese, o crRNA-Cas9 é responsável pela clivagem do material genético invasor a partir do (i) reconhecimento da sequência-alvo pelo crRNA e (ii) DSBs pela Cas9 (Doudna; Charpentier, 2014; Jinek, 2012; Sternberg *et al.*, 2014).

Figura 6- Etapas do sistema imunológico adaptativo mediado por CRISPR-Cas9



Fonte: Alcantara *et al.*, 2019 (adaptado).

A fase adaptativa ocorre, inicialmente, em uma primeira infecção com a memorização do elemento genético invasor. Isso se dá, como já descrito anteriormente, a partir da incorporação desse elemento genético invasor ao *CRISPR array* no genoma bacteriano. As sequências CRISPR, dessa forma, constituem uma memória genética que impedem a reinfecção do hospedeiro em possíveis infecções futuras, ou seja, a bactéria fica imunizada (Charpentier, 2015). Como metaforizado por Wiedenheft, Sternberg e Doudna (2012), o CRISPR se torna um ‘cartão de vacinação’ molecular, armazenando um registro genético de infecções passadas.

Após a elucidação do mecanismo de defesa bacteriano a partir dos sistemas CRISPR, propôs-se o uso do complexo CRISPR-Cas9 como uma ferramenta de engenharia genética. Uma vez que é possível produzir *in vitro* um RNA-guia sintético e uma proteína Cas9, as pesquisadoras Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier identificaram a possibilidade de utilizar esse sistema como uma ferramenta de edição genética¹³ (Jinek *et al.*, 2012; Jinek *et al.*, 2013).

O uso da CRISPR-Cas9 na edição genética, a partir da compreensão do seu papel no mecanismo de defesa bacteriano, ocorre, basicamente, em três etapas: i) identificação específica da sequência de interesse a ser editada; ii) produção da endonuclease Cas9 com a clivagem da dupla-fita do DNA; iii) ativação de mecanismos de reparo celular endógenos, pós DSB, seja por recombinação homóloga, seja por recombinação não-homóloga.

Em relação à etapa 'i', as sequências de interesse comumente utilizadas nas pesquisas científicas provêm de disfunções que caracterizam doenças genéticas. A possibilidade de corrigir tais disfunções traz esperança de cura de doenças até então consideradas incuráveis (mais adiante, na seção 3.4, destacarei alguns avanços das pesquisas clínicas, seus resultados e perspectivas futuras). A etapa 'ii' acontece a partir da ação do gRNA que guia, especificamente, a Cas9 para a região de interesse que deve ser clivada. Na etapa 'iii', os DSBs são reparados por vias moleculares intrínsecas do organismo (Fig. 7), a saber: reparo direcionado por homologia (HDR, do inglês *homology-directed repair*) ou reparo por junção de extremidade não-homóloga (NHEJ, do inglês *non-homologous end joining*).

O reparo por NHEJ atua na maior parte do ciclo celular e consiste na junção das duas extremidades (não dependentes de homologia) do DNA após DSB. Esse tipo de reparo é propenso ao erro pelo risco de gerar mutações do tipo *indel* (inserção ou deleção) ou substituição no sítio de junção ou próximo a ele. Essas mutações podem comprometer a funcionalidade final do gene-alvo o que, frequentemente, resulta em seu nocaute/*knockout* (inativação). Dessa forma, o reparo por NHEJ pode ser empregado para promover o silenciamento da expressão gênica (Almeida; Souza, 2021; Molinari *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2016).

O reparo por HDR, por outro lado, é baseado em recombinação homóloga. Normalmente, a clivagem da dupla-fita do DNA a partir da Cas9 não gera extremidades

¹³ As aplicações da ferramenta CRISPR-Cas9 não se restringem à edição genética humana. Como veremos na seção 3.4, a técnica também é utilizada em outras áreas, como na biotecnologia agrícola e na engenharia microbiana.

homólogas sendo necessária, desta forma, a inserção de um DNA-molde, homólogo a ambas as extremidades, para que o reparo por homologia possa acontecer (Pereira *et al.*, 2016).

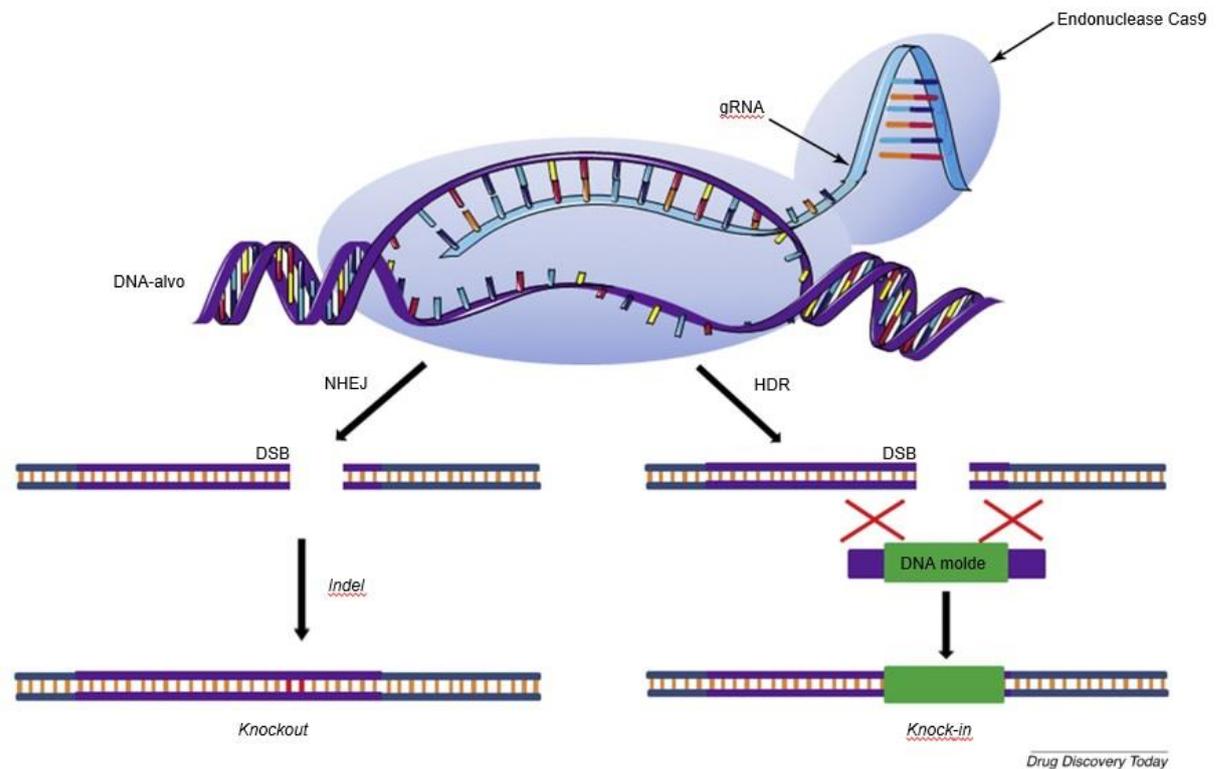
Em comparação à NHEJ, a via HDR é menos propensa ao erro, uma vez que repara a quebra a partir da cópia exata da sequência de DNA fornecida pela fita-molde. Mas, por outro lado, enquanto o reparo por NHEJ ocorre em todas as etapas do ciclo celular¹⁴, a via HDR ocorre apenas nas fases S e G2 da intérfase no ciclo sendo, desta maneira, a via de reparo menos utilizada (Molinari *et al.*, 2020).

O reparo via HDR pode ser empregado para: a) promover inserções no DNA ou; b) promover uma substituição alélica. Na situação ‘a’, ocorre a introdução (*knock-in*) de novas sequências de DNA no genoma, podendo ser utilizado para a adição de transgenes. Na situação ‘b’, ocorre a troca de bases específicas com o intuito de promover alterações pontuais (Pereira *et al.*, 2016; Almeida; Souza, 2021).

Em síntese, a escolha da via de reparo deve basear-se no motivo pelo qual a ferramenta CRISPR-Cas9 está sendo utilizada (silenciamento gênico, substituição alélica ou inserção de um transgene) e na presença ou ausência de um DNA doador. Na presença do DNA-molde, o HDR é ativado e culmina na inserção de transgenes ou em substituições alélicas no genoma. Na ausência do DNA-molde, a via por NHEJ é ativada produzindo, frequentemente, mutações *indel*.

¹⁴ O ciclo celular é um conjunto de eventos pelos quais a célula passa para duplicar-se. Esse evento, essencial à renovação celular, é dividido em quatro fases sequenciais (G1, S, G2 e M) organizados em duas etapas: Intérfase e Mitose. A intérfase, caracterizada como a etapa duradoura do ciclo, é formada pelas fases G1, S e G2 e, resumidamente, é a etapa que antecede e prepara a célula para a divisão celular. A mitose, por sua vez, é uma etapa mais rápida onde ocorre a divisão celular, em si, com a geração de duas células-filhas idênticas a partir de uma célula-mãe. Esta etapa é dividida em: prófase, metáfase, anáfase, telófase e citocinese (Alberts *et al.*, 2017).

Figura 7- Mecanismos de reparo celular em resposta ao DSB induzido pela endonuclease Cas9



Fonte: Liu; Saber; Haisma, 2019 (adaptado).

Em síntese, a eficiência do reparo mediado por NHEJ e HDR varia de acordo com o tipo celular. Por ser mais ativo que o HDR, o reparo pela via NHEJ dificulta o tratamento de doenças que requerem correção ou inserção de genes do que aquelas que requerem inativação de genes. A via HDR, por sua vez, se restringe a células em divisão, limitando, consequentemente, os tratamentos que exigem modificações precisas no genoma de células mitóticas diminuindo, assim, a gama de doenças que poderiam ser reparadas (Bollen *et al.*, 2018; Cox; Platt; Zhang, 2015).

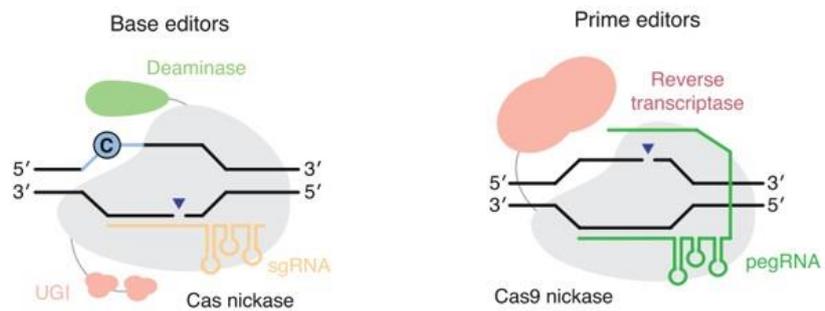
Não obstante, DSBs, muitas vezes, resultam em efeitos indesejáveis (Nelson *et al.*, 2022). O reparo de DSBs pode ser estimulado pela via HDR, no entanto, esse processo é ineficiente na maioria dos tipos celulares terapeuticamente relevantes (Cox; Platt; Zhang, 2015). Embora seja menos propensa a erros, a via HDR apresenta, em si, uma eficiência limitada e altas taxas de mutações *indel*, o que anula o potencial benefício de reparo (Kantor; McClements; Maclaren, 2020).

Com a intenção de contornar essas limitações, foram desenvolvidas novas estratégias de reparo: o *base editing* (BE) e o *prime editing* (PE) (Kantor; McClements; Maclaren, 2020).

Os *base editors* (Komor *et al.*, 2016) e *prime editors* (Anzalone *et al.*, 2019), em contraste ao sistema CRISPR-Cas9 visto até o momento, são capazes de instalar, eficientemente, alterações precisas nas células sem a necessidade de DSBs (Nelson *et al.*, 2022).

Há duas classes de *base editors* descritas até o momento: os *base editors* de citosina (CBEs) e os *base editors* de adenina (ABEs) (Kantor; McClements; Maclaren, 2020). Esses sistemas apresentam uma Cas9 fusionada a uma deaminase, permitindo a instalação de todas as quatro mutações de transição (C→T, T→C, A→G e G→A) (Gaudelli *et al.*, 2017). Em contrapartida, os *prime editors* permitem a instalação de praticamente qualquer mutação local, incluindo mutações de transição e transversão e mutações de inserção e exclusão (Fig. 8) (Anzalone *et al.*, 2019). Logo, tanto BEs quanto PEs permitem substituições precisas de nucleotídeos de maneira programável e sem a exigência de um DNA doador (Kantor; McClements; Maclaren, 2020).

Figura 8- Capacidade de edição do genoma em *base editors* e *prime editors*



Conversão de bases	Apenas 4 C → T, G → A A → G, T → C	Todas as 12 possíveis C → T, G → A, A → G T → C, C → A, C → G G → C, G → T, A → C A → T, T → A, T → G
Inserções	Não	Sim
Deleções	Não	Sim

Fonte: baseado em Mannarino, 2022 e adaptado de Anzalone; Koblan; Liu, 2020.

O sistema *prime editing* foi descrito, pela primeira vez, por Anzalone e colaboradores (2019) e representou uma importante atualização dos sistemas de edição CRISPR-Cas, ao superar limitações do sistema *base editing* em realizar edições de bases precisas para além das quatro mutações de transição descritas anteriormente (Gaudelli *et al.*, 2017).

Os *prime editors* (PEs) utilizam uma Cas9 *nickase* fundida a uma transcriptase reversa (RT) projetada e um gRNA, que aqui chamamos de *primer editing guide* RNA (pegRNA) (Anzalone *et al.*, 2019).

Simplificadamente, o PE1 usa uma RT fundida à nickase programável por RNA e um pegRNA para copiar diretamente a informação genética da extensão no pegRNA para o genoma alvo. PE2 usa um RT projetado para aumentar a eficiência de edição e o PE3, por sua vez, corta o fio não editado para induzir sua substituição e aumentar, ainda mais, a eficiência da edição (Anzalone *et al.*, 2019).

O estudo de Anzalone e colaboradores (2019) ainda demonstrou a capacidade de PE1 em instalar, diretamente, transversões, inserções e deleções direcionadas sem a necessidade de DSBs ou DNA-molde; a capacidade de PE2 em instalar mutações de transversão, inserção e deleção de nucleotídeo único com eficiência consideravelmente superior a PE1 e; a eficiência 3x superior de PE3 em relação a PE2, embora com uma faixa de *indels* maior.

Em suma, a edição pelo sistema *prime editing* apresenta atividade *off-target* menor, eficiência superior aos reparos por HDR e características que superam e complementam o sistema *base editing*. Por fim, “ao permitir transições, transversões, inserções e exclusões precisas e direcionadas nos genomas de células de mamíferos, sem a necessidade de DSBs, DNA-molde ou reparo por HDR, o *prime editing* fornece uma nova capacidade de ‘busca e substituição’ que expande, substancialmente, o escopo de edição do genoma” (Anzalone *et al.*, 2019, p. 6).

Na seara terapêutica, os sistemas BE e PE tem potencial notável na correção de mutações causadoras de doenças. O PE pode corrigir até ~89% das variantes genéticas humanas patogênicas (Anzalone *et al.*, 2019) e o BE pode ser aplicado a doenças autossômicas dominantes (Kantor; McClements; Maclaren, 2020). Ademais, atualizações de BE, como o ‘CRISPR-Pass’ – que utilizam *base editors* de adenina – podem ser favoráveis na correção de doenças caracterizadas por terminações prematuras (Lee *et al.*, 2019). Dessa forma, o potencial terapêutico dos *base editors* e *prime editors* de DNA são notáveis (Kantor; McClements; Maclaren, 2020).

3.2 CRISPR-CAS9 E A TERAPIA GÊNICA

Apresentados os aspectos técnicos próprios da técnica CRISPR-Cas9, podemos passar para a análise de sua aplicação como uma ferramenta de terapia gênica.

Dentre as opções de aplicação da edição genética (como será visto na seção 3.4), uma das principais se destina ao desenvolvimento de novos modelos terapêuticos (Verdival, 2022). Diversas doenças, especialmente as de base genética, não apresentam tratamentos curativos eficazes (Barboza *et al.*, 2020). Doenças genéticas hereditárias atingem, aproximadamente, 6% a 8% da população mundial, o que, segundo Gemma Marfany, representa um “alto impacto sanitário e social” (Marfany, 2019, p. 22). Dessa maneira, o desenvolvimento de técnicas de edição genética ganha importância ética frente à possibilidade de diminuir o impacto que certas doenças causam na sociedade. A importância ética na redução dos impactos coletivos, contudo, não exclui a importância dos benefícios individuais que podem ser conquistados.

Nessa seara, os conceitos de terapia gênica e edição genética podem se confundir, mas é imprescindível destacar que os termos não são sinônimos. A edição genética, aplicada ao campo terapêutico, se configura como uma técnica de terapia gênica, uma vez que esta diz respeito às técnicas que buscam promover intervenção terapêutica genética. Nem toda terapia gênica, entretanto, utiliza a edição genética para exercer sua função (como visto na seção 2.2.2 sobre terapia gênica); a CRISPR-Cas9, por sua vez, é uma das ferramentas de edição genética (Meirelles; Verdival, 2020). Em síntese, a edição genética é uma das técnicas possíveis de terapia gênica, enquanto a CRISPR-Cas9 é uma das técnicas de edição genética.

Sinteticamente, há dois pré-requisitos a serem considerados antes de realizar a edição genética por CRISPR-Cas9: i) o objetivo pelo qual se busca fazer a alteração gênica e; ii) o tipo de célula-alvo em que ocorrerá a alteração. Quanto ao aspecto ‘i’, a edição genética pode ser realizada de três formas, a fim de se alcançar três objetivos diferentes: (1) silenciamento gênico, com o objetivo de promover uma mutação local; (2) reversão de uma sequência, com o objetivo de reparar uma mutação local; (3) inserção de um transgene, com fins terapêuticos.

Quanto ao aspecto ‘ii’, a edição genética, como alvo terapêutico, pode ser aplicada a dois diferentes grupos de células: células somáticas (células especializadas do organismo humano) e células germinativas (células precursoras – células reprodutivas que darão origem às demais células do corpo humano). Dessa forma, e como já destacado também na seção 2.2.2, as alterações realizadas em nível somático ficam restritas ao indivíduo editado, enquanto as alterações em nível germinal são transmitidas às gerações futuras.

A edição genética na linhagem germinativa é ainda subdividida em duas possibilidades, a saber, a edição germinativa com fins reprodutivos, ou edição genética hereditária (EGH), e a edição germinativa sem fins reprodutivos, ou edição genética

germinativa (EGG) (Baylis *et al.*, 2020). A diferença entre esses dois tipos de edição pode ser vista, de forma esquemática, no quadro 4 a seguir.

Quadro 4- Diferença entre EGG e EGH

EGG	EGH
Modificações na linhagem germinativa	Modificações na linhagem germinativa
Sem fins reprodutivos	Com fins reprodutivos
Embrião deve ser descartado no prazo máximo de 14 dias de desenvolvimento	Embrião é implantado em um útero para iniciar a gravidez e, futuramente, ocorrer o nascimento do bebê geneticamente modificado

Fonte: autoria própria.

Ainda na seara sobre as possíveis aplicações da terapia genética, William French Anderson, em um trabalho publicado em 1985, afirma que há pelo menos quatro tipos de aplicação de terapia gênica na engenharia genética, a saber: a) terapia gênica em células somáticas; b) terapia gênica na linhagem germinativa; c) terapia gênica na engenharia genética de aprimoramento; d) terapia gênica na engenharia genética eugênica (Anderson, 1985).

Para ele, a aplicação em células somáticas é eticamente menos controversa por ser tecnicamente mais simples; a aplicação em linhagem germinal levanta questões éticas e requer um maior conhecimento técnico; a engenharia genética de aprimoramento, segundo ele, traz sérias preocupações éticas; e o pesquisador acredita que a engenharia genética eugênica seria impossível, tanto na época em que ele publicou o artigo quanto no futuro (Anderson, 1985).

A edição do genoma humano, especialmente o genoma germinal, traz diversos questionamentos normativos (que serão abordados detalhadamente no capítulo 5), tanto pelo caráter de irreversibilidade das alterações produzidas, quanto pela transmissão à prole, pelos riscos conhecidos e desconhecidos e pelo impacto que pode causar na espécie humana a longo prazo. Sendo assim, a edição genética humana, de uma forma geral, suscita questões éticas, jurídicas, sociais, científicas e econômicas.

Diante de tais fatores, há um consenso estabelecido pela comunidade científica, que proíbe a edição genética na linhagem germinativa humana com fins reprodutivos (EGH) (Baltimore, *et al.*, 2015). Esse consenso, entretanto, não se configura como uma regulamentação. Inclusive, não há regulamentação em nível internacional para tal proibição. Dessa maneira, a ilicitude do uso da CRISPR-Cas9 dependeria da legislação interna dos países, sendo autorizada apenas a EGG em pesquisas laboratoriais, com embriões inviáveis e no prazo máximo de 14 dias de desenvolvimento, levando-se em consideração o cumprimento de tal legislação (Sganzerla; Pessini, 2020).

A respeito do prazo de 14 dias de desenvolvimento embrionário mencionado, é importante destacar alguns pontos recentes e relevantes oriundos dessa discussão.

A regra dos 14 dias surgiu na década de 1970, após o nascimento do primeiro bebê de proveta (proveniente de uma fertilização *in vitro*). Representando um consenso internacional, ela permite que embriões humanos sejam cultivados em laboratório até o prazo máximo do 14º dia de desenvolvimento pós fertilização *in vitro*. Esse prazo específico foi estabelecido a partir da premissa de que só depois do 14º dia começa a ocorrer a diferenciação celular, ou seja, a partir desse marco, as células deixam de ser indiferenciadas e inicia-se o desenvolvimento embrionário individual (seria o início da vida humana individual) (Cesarino, 2007). A regra se transformou em lei em alguns países, como Japão e Reino Unido, e em outros se configura como uma recomendação, sem restrição federal, como Estados Unidos da América (EUA) e China (Peng *et al.*, 2022).

No Brasil, a recomendação advém da Resolução CFM nº 2.320, de 20 de setembro de 2022, estabelecendo que “o tempo máximo de desenvolvimento de embriões *in vitro* é de até 14 (quatorze) dias” (Conselho Federal de Medicina, 2022, p. 6).

Não obstante, a *International Society for Stem Cell Research* (ISSCR) elaborou um projeto sobre o prazo de cultivo embrionário em laboratórios de pesquisa, defendendo a possibilidade de ultrapassar o limite dos 14 dias. Depois de 40 anos de sua criação (e adoção em nível internacional)¹⁵, a regra foi posta em crescente pressão, dado os recentes avanços biotecnológicos e os debates políticos (Peng *et al.*, 2022).

Em sua mais recente diretriz, uma nova recomendação foi proposta em relação ao cultivo embrionário:

¹⁵ A regra dos 14 dias é “uma das regras mais acordadas internacionalmente na ciência e na medicina reprodutiva até à data” (Appleby; Bredenoord, 2018, p. 1).

Recomendação 2.2.2.1: Dado os avanços na cultura embrionária humana e o potencial para que tal investigação produza conhecimentos benéficos que promovam a saúde e o bem-estar humanos, a ISSCR apela às academias nacionais de ciência, às sociedades acadêmicas, aos financiadores e aos reguladores para liderarem conversas públicas que abordem o significado científico, bem como as questões sociais e éticas levantadas ao permitir tal pesquisa. Caso um amplo apoio público seja alcançado dentro de uma jurisdição e se as políticas e regulamentações locais permitirem, um processo especializado de supervisão científica e ética poderia avaliar se os objetivos científicos necessitam e justificam o tempo em cultura superior a 14 dias, garantindo que apenas um número mínimo de embriões seja utilizado para atingir os objetivos da pesquisa (International Society for Stem Cell Research, 2021, p. 13).

Dessa forma, a cultura *in vitro* de embriões humanos para além dos 14 dias de desenvolvimento é removida da Categoria 3 de pesquisa para a Categoria 2¹⁶, não descartando “as preocupações éticas e sociais por ela suscitadas e tendo em conta a responsabilidade social de ser transparente ao longo de todo o processo” (Lovell-Badge *et al.*, 2021, p. 1402), conforme destacado na Recomendação 2.2.2.1.

Vale ressaltar que as diretrizes da ISSCR não são juridicamente vinculativas (Boiani *et al.*, 2022), ou seja, elas atuam como “recomendações que promovem um comportamento responsável por parte da comunidade científica” (Shetty; Noguez, 2022, p. 738), sendo imperioso que os pesquisadores respeitem a jurisdição local.

Sendo assim, a orientação sobre a extensão do limite de 14 dias proposta pela ISSCR (2021) não configura uma declaração de consenso global (Foreman *et al.*, 2023), embora possa influenciar¹⁷ politicamente cenários jurídicos de outros países e orientações científicas internacionais (Boiani *et al.*, 2022; Foreman *et al.*, 2023).

Tal discussão influencia diretamente a abordagem normativa a respeito da CRISPR-Cas9 como meio de terapia gênica. A “ciência é imparável” (Lacadena, 2017, p. 4) e cientistas são motivados a ir além em suas pesquisas em prol do avanço biotecnológico. Entretanto, a mudança proposta pela ISSCR levanta importantes questões éticas.

Segundo Shetty e Noguez (2022), uma das maiores críticas sobre as diretrizes revisadas de 2021 se concentra no fato de não ter sido estabelecido um novo limite de tempo

¹⁶ Em suas Diretrizes, a ISSCR propõe três categorias de pesquisa. A Categoria 2 inclui permissão para pesquisas com embriões, certas quimeras e modelos de embriões baseados em células-tronco após aprovação por um processo especializado de revisão científica e ética. A pesquisa deve cumprir a legislação e política locais e deve utilizar o número mínimo de embriões necessários para alcançar o objetivo da pesquisa. A Categoria 3 inclui pesquisas que são proibidas. Na última Diretriz (2021), essa categoria foi subdividida em Categoria 3A e Categoria 3B. A Categoria 3A inclui pesquisas atualmente proibidas por serem inseguras ou levantarem questões éticas não resolvidas (p.ex. edição genética da linhagem germinativa humana). A Categoria 3B inclui pesquisas atualmente proibidas devido à falta de fundamentação científica convincente ou amplamente consideradas antiéticas em nível internacional (p.ex. clonagem reprodutiva humana). (International Society for Stem Cell Research, 2021).

¹⁷ Leis nacionais têm prioridade sobre diretrizes, mas isso não exclui a influência que estas podem exercer no cenário político internacional (Boiani *et al.*, 2022; Foreman *et al.*, 2023).

aos pesquisadores que venham ultrapassar os 14 dias. A falta de um limite orientador é vista como irresponsável e pode enviar “uma mensagem errada sobre se a comunidade científica compreende e respeita o valor que a sociedade atribui aos embriões humanos” (Shetty; Noguez, 2022, p. 738). Apoiadores da extensão da regra dos 14 dias, por outro lado, afirmam que ultrapassar esse limite pode viabilizar que novos tratamentos para doenças humanas sejam criados impulsionando, possivelmente, a medicina regenerativa (Appleby; Bredenoord, 2018).

Discutir a extensão da regra dos 14 dias no cenário da edição genética germinativa também se faz necessário. Considerando que apenas pesquisas sem fins reprodutivos (EGG) são permitidas, excluindo, portanto, as edições genéticas hereditárias, a possibilidade de cultivar embriões em laboratório para além dos 14 dias impacta as questões bioéticas já existentes sobre o assunto.

Os questionamentos normativos a respeito do uso da CRISPR-Cas9 na edição germinativa humana, no entanto, serão abordados, mais detalhadamente, no capítulo 5. Antes disso, torna-se necessário adentrar, previamente, na discussão sobre os desafios, riscos e benefícios advindos do uso dessa ferramenta com fins de edição genética humana.

3.3 RISCOS E BENEFÍCIOS

A simplicidade e facilidade do uso da CRISPR-Cas9 na manipulação genética torna tal técnica atraente aos olhos de pesquisadores de diversos locais do mundo. No entanto, se por um lado temos a alta versatilidade, eficácia e baixo custo de seu uso – com a potencial promessa de promover tratamentos inovadores para doenças genéticas – por outro há desafios técnicos que precisam ser superados para que ela seja utilizada com a máxima eficácia e segurança na clínica (Ledford, 2015). Não obstante, antes de adentrar na discussão sobre esses aspectos, é indispensável conceituar e pontuar as diferenças entre risco, perigo e incerteza.

3.3.1 Conceito de risco

A sociedade de risco, segundo Lopez (2010), nasceu no Pós-Segunda Guerra Mundial, período marcado pelo rápido desenvolvimento científico-tecnológico a partir das pesquisas desumanas realizadas durante a guerra. Esses avanços nas pesquisas acabaram criando “a era

do medo e da incerteza, na qual a única certeza é o presente, sendo que mesmo este nos escorre pelas mãos” (Lopez, 2010, p. 15).

A ideia de risco nem sempre esteve presente na humanidade, mas hoje ela assume uma nova importância no contexto da modernidade (Giddens, 2007). Para Lopez:

O mundo vive com medo. Os meios para controle dos diversos riscos são ilusórios; servem para nos apaziguar psicologicamente, pois o risco, na verdade, também só existe se a sociedade o coloca como tal. Sem a construção social da ideia de seus diversos tipos, como os pessoais (saúde, vida, integridade física), econômicos, sociais, genéticos, nucleares, às futuras gerações, etc., ele não existe. No fundo, há uma ideia abstrata, ou melhor, num primeiro momento, o risco é uma abstração criada pela coletividade, evidentemente, com fundamentos verdadeiros ou não, porquanto o papel da mídia em informar, criar ou exagerar sobre perigos e ameaças é de fundamental importância na formação desse medo. (Lopez, 2010, p. 22).

De fato, o conceito de risco, segundo Vaz (2004), tem ganhado destaque nos últimos tempos e essa enorme relevância, por conseguinte, torna necessário que esclarecimentos conceituais sejam feitos.

A ideia de risco começou a ser usada nos séculos XVI e XVII por exploradores ocidentais em suas navegações pelo mundo e, segundo Giddens, a palavra *risk* parece ter surgido no inglês a partir do espanhol ou do português – idiomas utilizados em “navegações rumo a águas não cartografadas” (Giddens, 2007, p. 32).

Vaz (2004) também destaca as origens etimológicas da palavra risco, que advém do francês *risqué* e deriva do italiano *rischio*, ressaltando também que seu uso começou por volta do século XVI, no contexto da navegação comercial, uma vez que “estava em jogo a distribuição de lucros nesse empreendimento outrora aventureiro” (Vaz, 2004, p. 112).

Com o passar do tempo, o termo passa de uma orientação espacial à uma orientação temporal, baseando-se em probabilidades e incerteza (Giddens, 2007). Dessa forma, o prudente adquire a virtude da previsão, em uma “tentativa de trazer um acontecimento futuro indesejável para o presente, calculá-lo e definir os modos de enfrentá-lo” (Vaz, 2004, p. 112-113).

O conceito de risco pode ser, muitas vezes, confundido com outros termos como incerteza. Risco “se refere a infortúnios ativamente avaliados em relação a possibilidades futuras” (Giddens, 2007, p. 33). Ele se caracteriza quando é possível calcular a probabilidade de certo evento acontecer no futuro. Na incerteza, por outro lado, não há como calcular/mensurar a probabilidade de o mesmo acontecer (Vaz, 2004). Percebe-se, então, que a ideia de risco surge em sociedades orientadas para o futuro, estabelecendo, assim, “uma relação epistemológica de conhecimento parcial do futuro” (Vaz, 2004, p. 113). Uma

diferenciação esquemática entre os conceitos de risco e incerteza está demonstrada no quadro 5.

Quadro 5- Certeza x Risco x Incerteza

Tipos de risco	Certeza (sem risco)	Risco (risco conhecido)	Incerteza (risco desconhecido)
Descrição	Todas as informações possíveis são conhecidas; os resultados são certo	Resultados potenciais e probabilidade são quantificáveis/mensuráveis usando estatísticas e modelagem (p.ex. loteria)	Ou o resultado é conhecido, mas a probabilidade não é conhecida ('Knightian uncertainty' [...]), ou ambos os resultados possíveis e sua probabilidade não são conhecidos ('radical uncertainty' – ibid.) (p. ex. terremotos)
Abordagem necessária		Capacidade de entender o que as previsões significam	Capacidade de reconhecer quando algo não pode ser conhecido
		Lógica	Intuição
		Análise estatística	Heurística
Medidas de controle		Existe a possibilidade de desenvolver medidas de controle, que, se aplicadas em tempo hábil, podem prevenir ou mitigar os danos previstos, sem eliminá-los	Além do controle

Fonte: Vilaça; Lavazza (2022, p. 7), adaptado de Campbell; Clarke (2018, p. 23).

Outros esclarecimentos devem ser feitos, como a diferenciação entre ‘risco’, ‘perigo’ e ‘álea’. Perigo é “tudo aquilo que ameaça ou compromete a segurança de uma pessoa ou uma coisa. É conhecido e real. Perigo é concreto” (Lopez, 2010, p. 24). Álea, segundo Lopez, é:

um acontecimento totalmente inevitável para o qual não há, geralmente, possibilidade de previsão. Os perigos que vêm daí são incalculáveis. [...] É o *acaso*. Geralmente a álea vem dos fatos da natureza, mas pode também aparecer no uso de produtos ou durante o desempenho de algum serviço ou atividade. [...] As noções de força maior e caso fortuito são identificadas com a álea, o *acaso (hazard)*. Esses acontecimentos funcionam como excludentes da responsabilidade civil (CC, art. 393, parágrafo único) (Lopez, 2010, p. 24-25).

Risco é “o perigo eventual mais ou menos previsível, diferentemente da álea (imprevisível) e do perigo (real). O risco é abstrato” (Lopez, 2010, p. 25).

Para Vaz (2004, p. 115), perigo é “um mal contingente, identificado e atribuído a alguma coisa, pessoa ou situação como uma característica intrínseca delas”. Risco é a “possibilidade de dano e mede a exposição ao perigo”. Em síntese, enquanto perigo é uma ameaça real e existente que pode ser constatada, o risco é abstrato e se dá a partir de um cálculo probabilístico do potencial de perigo.

A confusão conceitual entre *risco* e *perigo* se dá uma vez que o risco é a probabilidade de o dano proveniente do perigo acontecer no futuro. Para exemplificar, Lopez (2010) traz o exemplo do cigarro. O consumidor desse produto conhece (e é alertado na própria embalagem) os perigos de seu uso, mas tem a escolha de assumir o risco de sofrer os danos à saúde que podem ser causados a ele. Portanto, a possibilidade de dano envolve um perigo, que, por sua vez, envolve um risco de que algo perigoso, de fato, cause um dano (Lopez, 2010).

Feito os esclarecimentos, é necessário destacar um último ponto. Não é possível falar em risco sem pensar em formas de evitá-lo. A ideia de risco, desde sua origem, está relacionada ao desenvolvimento de sistemas de seguro: “o seguro é a base a partir da qual as pessoas estão dispostas a assumir riscos”, “diz respeito à provisão de segurança” (Giddens, 2007, p. 35). Dessa forma, “evitar um evento futuro indesejável torna-se a base de decisões individuais e coletivas; de fato, torna-se um dever, uma obrigação moral. Não agir se precavendo contra *riscos* é cada vez mais socialmente visto como negativo” (Vaz, 2004, p. 116).

Nessa seara de prevenção de danos, é forçoso ressaltar a diferença entre aquilo que Giddens (2007) chama de risco externo e risco fabricado. Segundo ele, o risco externo é “o

risco experimentado como vindo de fora, das fixidades da tradição ou da natureza”; já o risco fabricado é “o risco criado pelo próprio impacto de nosso crescente conhecimento sobre o mundo [...], diz respeito a situações em cujo confronto temos pouca experiência histórica” (Giddens, 2007, p. 36). Ou seja, o risco externo é fruto de acontecimentos externos, advindos da natureza e não produzidos pelo homem. Já o risco fabricado representa os riscos influenciados/criados pela ação humana. Podemos tomar como exemplo os riscos ambientais ligados ao aquecimento global que, segundo Giddens, é influenciado pela crescente globalização. Em síntese, utilizando as palavras do autor:

“A melhor maneira que encontro para elucidar a distinção entre os dois tipos de risco é a que se segue. Em toda cultura tradicional, poderíamos dizer, e na sociedade industrial até o início da presente época, os seres humanos se inquietaram com os riscos provenientes da natureza externa – de más colheitas, enchentes, pragas ou fomes. A certa altura, porém – muito recentemente em termos históricos –, passamos a nos inquietar menos com o que a natureza pode fazer conosco, e mais com o que nós fizemos com a natureza. Isso assina a transição do predomínio do risco externo para o do risco fabricado.” (Giddens, 2017, p. 36-37).

Dessa forma, o risco fabricado pode ser caracterizado como os riscos à saúde provenientes do uso de novas biotecnologias (conforme será abordado na próxima seção). Esses riscos, segundo Giddens (2007), são potencializados com a globalização cada vez mais intensa e com a facilidade na comunicação em tempo real, uma vez que a difusão de conhecimentos, experiências e tecnologias se amplia a partir de conexões internacionais mais estreitas, estimulando, por conseguinte, o progresso científico (Giddens, 2007; Lopez, 2010).

Os maiores riscos atuais podem surgir do rápido progresso científico: “quanto mais inovações, mais riscos” (Lopez, 2010, p. 30), no entanto, é necessário salientar que não há uma relação direta comprovada que associe, diretamente, o incremento das inovações ao aumento de riscos. Há inovações que, inclusive, diminuem certos riscos, como o surgimento de algumas doenças, por exemplo. Não obstante, deve-se ponderar quanto a rapidez com que essas inovações surgem. Já foi discutido no presente trabalho sobre a velocidade com que a ciência avança, ultrapassando os debates bioéticos. É notório que novas questões surgem antes mesmo que antigos debates bioéticos possam ser superados. Sendo assim, é interessante refletir sobre a associação entre o rápido progresso científico e o aumento dos riscos atuais.

Giddens (2007, p. 41) afirma que nossa relação com a ciência e com a tecnologia está mudando à medida que elas “se intrometem em nossas vidas”. Em outras palavras, o sociólogo afirma que nossa relação com a ciência e com a tecnologia não é mais a mesma: “na sociedade ocidental a ciência atuou por cerca de dois séculos como uma espécie de tradição.

[...] Era algo que a maioria das pessoas respeitava, mas que permanecia externo às atividades delas. Os leigos 'consultavam' os especialistas." (Giddens, 2007, p. 40). Hoje, nós temos uma relação mais direta com a ciência e com a tecnologia. Conforme Giddens afirma, a ciência é fluida e achados científicos, especialmente em situações de risco fabricado, podem discordar entre si. Desta maneira, fica para o indivíduo a responsabilidade na tomada de decisão, o que evidencia a postura ativa pela qual a sociedade deve ter perante às inovações tecnológicas.

Aqui, entretanto, cabe o questionamento sobre em que medida a população está interessada em conhecer os achados científicos e, a partir deles, ser protagonista nas tomadas de decisão. Giddens (2017, p. 41) afirma que “cada vez que uma pessoa decide o que comer, o que tomar no café da manhã, se café descafeinado ou comum, ela toma uma decisão no contexto de informações científicas e tecnológicas conflitantes e mutáveis”, mas, até que ponto as pessoas buscam essas informações científicas e, de fato, as aplica em seu cotidiano? Considerando a complexidade técnica da CRISPR-Cas9 e o desafio em incluir a sociedade nos debates acadêmicos, em que medida essa sociedade, de fato, apresenta uma postura ativa diante das inovações tecnológicas?

Tendo em mente esses questionamentos, e englobando a perspectiva da edição genética, é significativo ressaltar que, nos EUA, a ferramenta CRISPR-Cas9 tem sido comercializada para uso doméstico. Nesse caso, qualquer pessoa pode comprar kits CRISPR (*DIY Bacterial Gene Engineering CRISPR Kit*), como os oferecidos pelo site ‘the-odin.com’ (Odin, 2023), e recebê-los em sua casa. Seria esse um exemplo de proximidade entre o indivíduo e a ciência defendido por Giddens?

Esses são questionamentos para uma futura pesquisa, todavia, a proximidade entre a ciência e a vida cotidiana não parece ser, de todo, verdadeira. É relevante, portanto, incluir a população nos debates bioéticos, inclusão essa destacada por diversos documentos (como será apontado no capítulo 5) que incentivam as discussões interdisciplinares, abarcando a opinião pública. É fundamental que haja essa proximidade, afinal, os possíveis impactos (positivos ou negativos) que a CRISPR-Cas9 pode trazer, irão recair sobre essa mesma sociedade.

Diante dessa realidade, é importante destacar a responsabilidade do Estado em promover o equilíbrio entre o estímulo ao progresso científico-tecnológico e a segurança do mesmo a fim de garantir a proteção individual. Isso porque as inovações, em um nível global, impactam diretamente os indivíduos e, diante disso, os governos estatais devem exercer medidas ativas e correlacionadas com a ciência (Giddens, 2007). Com a ampliação do risco fabricado, Giddens identifica o surgimento de problemas na administração de risco, cuja responsabilidade é dos Estados. Estes, por sua vez, precisam comunicar-se entre si

objetivando o advento de soluções para problemas atuais que tais riscos possam gerar, especialmente porque, segundo o autor, “poucos riscos de novo estilo têm a ver com as fronteiras nacionais” (Giddens, 2007, p. 43). Por conseguinte, hoje o conceito de risco evidencia o peso que a ciência tem na política e na vida cotidiana humana (Vaz, 2004).

Enquanto Lopez (2010) associa o aumento dos riscos à expansão do progresso científico, Giddens (2007, p. 43-44) destaca que “nossa época não é mais perigosa - nem mais arriscada - que as de gerações precedentes, mas o equilíbrio de riscos e perigos se alterou”. Conforme o sociólogo, os perigos que nós mesmos criamos são tão ameaçadores (ou mais) quanto aos perigos externos. Há aqueles que podem afetar tanto o coletivo (p.ex. aquecimento global), quanto o indivíduo de forma mais direta (p. ex. consumo indiscriminado de bebidas alcoólicas a longo prazo), mas, não podemos adotar uma postura negativa em relação ao risco, ele precisa ser sempre disciplinado.

De uma forma geral, portanto, o risco deve ser sempre identificado, quantificado, analisado e disciplinado (Giddens, 2007) para que tomadas de decisão sejam devidamente respaldadas por fatores minimamente objetivos de segurança. Embora minha abordagem sobre o conceito de risco não recubra sua complexidade, penso que é possível seguirmos para a próxima seção do trabalho, na qual serão abordados os riscos relacionados ao uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana.

3.3.2 Riscos conhecidos

Admitindo que o conceito de risco está relacionado à possibilidade de causar dano, podemos seguir com a discussão sobre os riscos conhecidos ainda existentes do uso da ferramenta CRISPR-Cas9 na edição do genoma humano e, mais especificamente, na EGG e EGH.

Alguns aspectos merecem atenção na busca pela segurança e excelência do uso da CRISPR-Cas9 na edição gênica humana: (i) estabelecer uma metodologia precisa e eficiente de clivagem e reparo nas células; (ii) conseguir realizar uma entrega eficaz e específica dos componentes do complexo a diferentes tipos de tecidos e órgãos; (iii) compreender como controlar as diferentes vias de reparo; (iv) definir, previamente, o resultado mutacional de reparo do DNA após DSBs (Barrangou; Doudna, 2016). Alcançar esses aspectos permitirá a superação dos atuais riscos conhecidos, como será abordado a seguir.

mosaicismo “pode afetar significativamente a precisão da terapia genética quando a tecnologia CRISPR-Cas9 é usada” (Tu *et al.*, 2017, p. 1).

Não obstante, a presença do mosaicismo não indica, necessariamente, alguma indicação clínica. Há indivíduos mosaicos que são clinicamente normais e nesses casos, inclusive, eles raramente são investigados (Nussbaum *et al.*, 2008). Sendo assim, a ocorrência de mosaicismo na linhagem germinativa proveniente de edição gênica não determina, obrigatoriamente, que o indivíduo seja afetado. Todavia, as mutações serão, indispensavelmente, transmitidas à descendência (Clemente; Rosenvald, 2020).

Em uma pesquisa com embriões de primatas não humanos, Tu e colaboradores (2017) identificaram que a redução da meia-vida da Cas9 pode diminuir as mutações do mosaico em embriões em estágios iniciais de desenvolvimento, mas não eliminá-las completamente. O mosaicismo, entretanto, ainda representa um significativo obstáculo para a edição genética mediada por CRISPR-Cas9 com fins terapêuticos (Tu *et al.*, 2017).

Outro risco conhecido foi identificado por pesquisadores logo após a comprovação de que a ferramenta CRISPR-Cas9 poderia ser utilizada na edição genética de mamíferos (Fu *et al.*, 2013). Tal risco é caracterizado como mutações *off-target* (mutações fora do alvo) ou mutações não-intencionais e uma das explicações para sua ocorrência é o não reconhecimento da sequência-alvo pelo sgRNA (Nidhi *et al.*, 2021). Muhammad Naeem e colaboradores (2020) afirmam que a especificidade da Cas9 é maior em bactérias, uma vez que seu genoma é 1.000 vezes menor que o genoma eucariótico. Por essa razão, o complexo sgRNA/Cas9, apesar de ser largamente utilizado na edição genética humana, é limitado pelos efeitos fora do alvo (Nidhi *et al.*, 2021) que podem variar amplamente (Doench *et al.*, 2016).

Há indícios de que a otimização de gRNA e Cas9 possa minimizar as modificações gênicas *off-target* (Nidhi *et al.*, 2021) a partir da projeção de gRNAs mais específicos e da redução das concentrações de Cas9 (Tu *et al.*, 2017; Doench *et al.*, 2016; Fu *et al.*, 2013; Hsu *et al.*, 2013). Essa estratégia, entretanto, não se traduz em uma solução simples para reduzir os efeitos *off-target* (Fu *et al.*, 2013).

Além disso, no contexto da terapia genética, a implementação da CRISPR-Cas9 em terapias clínicas traz uma importante preocupação, justamente pela alta frequência dos efeitos *off-target*²⁰ que podem causar graves riscos em tais terapias (Naeem *et al.*, 2020; Uddin; Rudin; Sem, 2020).

²⁰ Segundo Zhang e colaboradores (2015), os efeitos *off-target* foram observados em uma frequência $\geq 50\%$, o que produz grande preocupação, principalmente em aplicações terapêuticas e clínicas (Zhang *et al.*, 2015).

Em vista disso, outras alternativas estão sendo testadas a fim de minimizar os efeitos fora do alvo produzidos pela edição genética por CRISPR. Vale ressaltar que o sistema mais eficiente e, portanto, o mais utilizado é o CRISPR-Cas9, não obstante, suas limitações em relação aos efeitos *off-target* evidencia a necessidade da formulação de modelos mais especializados e seguros.

Dessa forma, outras endonucleases Cas estão sendo estudadas para aprimorar a edição gênica a partir de novos modelos CRISPR-Cas. Zhang e colaboradores (2021) demonstraram que a Cas12 pode ser uma boa alternativa para a minimização dos efeitos *off-target*. Antes, porém, é fundamental realizar uma breve explicação sobre ela (Fig. 9) para sua melhor compreensão.

A nuclease Cas12 é classificada como uma Cas de classe II. Apresentando duas subunidades catalíticas iguais (RuvC), ela desempenha cortes em diferentes posições do DNA gerando pontas coesivas – diferente da Cas9 que apresenta subunidades catalíticas diferentes (RuvC e HNH), gerando pontas cegas. Ademais, seu gRNA é formado apenas pelo crRNA (aproximadamente 42 nucleotídeos), enquanto o gRNA da Cas9 é formado por crRNA e tracrRNA (aproximadamente 100 nucleotídeos) (Anzalone; Koblan; Liu, 2020).

Outro ponto que merece destaque é a respeito da sequência PAM requerida. A Cas9, derivada de *Streptococcus pyogenes* (SpCas9), tem como alvo sequências NGG PAM que limitam consideravelmente seu espaço de direcionamento a regiões gênicas normalmente ricas em GC (Jinek *et al.*, 2012; Mali *et al.*, 2013). Já a Cas12, derivada de *Acidaminococcus sp.* (AsCas12a), tem como alvo sequências TTTV PAM, o que amplia, consideravelmente, o espaço de edição do genoma para inserir sequências gênicas ricas em AT (Zetsche *et al.*, 2015). Além disso, estudos mostram que AsCas12a é mais específica que SpCas9, o que reduz os efeitos *off-target* (Kleinstiver *et al.*, 2016).

Figura 10- Comparações gerais entre a nuclease Cas9 e a nuclease Cas12



Classificação	Classe II, tipo II	Classe II, tipo V
Subunidades catalíticas	RuvC e HNH	RuvC e RuvC
Cortes/pontas geradas	Cego/pontas cegas	Coesivo/pontas coesivas
RNA guia	crRNA + tracrRNA (~100nt)	crRNA (~42nt)
Sequência PAM requerida	NGG - Downstream	TTTV - Upstream

Fonte: Mannarino, 2021, adaptado de Anzalone; Koblan; Liu, 2020.

Em síntese, o modelo de edição gênica por CRISPR utilizando a AsCas12a tem despertado interesse para um possível uso clínico. Sua alta especificidade reduz os efeitos *off-target* e seu gRNA (~42nt) é mais facilmente fabricado quimicamente por ser menor que o gRNA da SpCas9 (~100nt) (Zhang *et al.*, 2021).

Não obstante, a baixa eficiência de edição da AsCas12a em células vivas ainda torna sua adesão muito menor que a da SpCas9. Dessa forma, pesquisas estão sendo realizadas buscando a criação de mutantes da AsCas12a que mantenham sua alta especificidade e apresentem uma maior eficiência de edição. Por conseguinte, esse novo modelo expandiria o espaço de edição do genoma terapêutico, reduziria a complexidade da produção do gRNA e diminuiria os riscos de mutações *off-target* (Zhang *et al.*, 2021).

Outras pesquisas estão em andamento com o propósito de buscar novos modelos e formas que minimizem os efeitos fora do alvo produzidos por edição genética a partir da CRISPR-Cas9. O risco de mutações não-intencionais ao usar esse sistema de edição gênica, especialmente em embriões de camundongos e células somáticas humanas, representa uma importante limitação do uso do sistema CRISPR-Cas9 na clínica (Nidhi *et al.*, 2021). Já houve um significativo refinamento tecnológico para diminuir esse risco, no entanto, é imprescindível que mais pesquisas sejam fomentadas para avaliar o risco, aprimorar a precisão das nucleases e buscar metodologias que detectem os efeitos *off-target* (Davies, 2019).

Vale ressaltar que o objetivo desta seção não é esgotar a discussão sobre tal aspecto, mas apenas elucidar alguns dos riscos conhecidos do uso da CRISPR-Cas9 na edição gênica e apontar uma possibilidade de diminuir tal risco.

Por fim, outro risco relatado é a ativação de p53 por CRISPR-Cas9. Considerado como o ‘guardião do genoma’, p53²¹ é um gene supressor de tumor que é ativado em situações de danos no DNA celular. Sua ativação permite que tais danos sejam reparados diminuindo, assim, a probabilidade de formação de células cancerígenas. Mutações no gene p53, no entanto, promovem a perda de sua função e, desta maneira, as células que apresentam danos em seu DNA não são reparadas e acabam por continuar seu processo de divisão celular, propagando, portanto, as mutações potencialmente oncogênicas (Alberts *et al.*, 2017; Nussbaum *et al.*, 2008).

Dois diferentes estudos publicados em 2018, na revista *Nature*, demonstraram uma superexpressão de p53 após edição genética com CRISPR-Cas9, (Ihry *et al.*, 2018; Haapaniemi *et al.*, 2018). De fato, já está bem documentado que os DSBs induzidos pela CRISPR-Cas9 ativam a via p53 (Xu *et al.*, 2023), sugerindo o aumento do risco de desenvolvimento de células cancerígenas. Isso porque a expressão de p53 durante a edição genética dificulta a eficácia da edição, a sobrevivência celular e o potencial enxerto (Ihry *et al.*, 2018; Haapaniemi *et al.*, 2018).

Como divulgado por Ihry e colaboradores (2018) e Haapaniemi e colaboradores (2018), cortes na molécula de DNA por CRISPR-Cas9 ativavam o gene p53, estimulando, assim, às células a iniciarem uma resposta protetora contra os cortes de CRISPR-Cas9 o que, conseqüentemente, diminui a eficácia da edição.

Uma pesquisa de Bowden e colaboradores (2020), identificou que a ferramenta CRISPR-Cas9 pode inativar genes tanto de células normais quanto de células sem a proteína p53, funcionando melhor, no entanto, em células sem a p53. Dessa forma, a presença funcional de p53 na célula pode limitar a capacidade da CRISPR-Cas9 na edição genética, mas as evidências ainda são inconclusivas (Bowden *et al.*, 2020).

Esse cenário, no entanto, pode ser revertido com a inativação de p53, mas isso levaria ao aumento do risco de desenvolvimento de células cancerígenas, o que configura um risco do uso da técnica na terapia gênica (Nidhi *et al.*, 2021; Verdival, 2022).

²¹ Gene supressor de tumor está ligado à regulação da proliferação celular. Diante de sinais de dano celular, tal gene é ativado podendo retardar a divisão celular, permitindo o reparo do dano no DNA ou, em casos de danos não reparados, induzir a morte celular a partir de apoptose (morte celular programada) (Fett-Conte; Salles, 2002; Nussbaum *et al.*, 2008).

Em suma, é possível que os efeitos de p53 possam variar de acordo com o tipo celular e com as diferentes mutações do gene. É imprescindível, portanto, uma maior compreensão sobre como os sistemas de reparo aos danos no DNA celular podem interferir em futuros experimentos com CRISPR-Cas9 (Bowden *et al.*, 2020).

Como ocorre com o advento de outras biotecnologias inovadoras, “desconsiderar os riscos representa conduta inaceitável” (Clemente; Rosenvald, 2020, p. 239). É, imperioso, portanto, que esses pontos sejam discutidos a fim de alcançar a excelência técnica antes de sua liberação para uso clínico.

O objetivo da presente seção foi expor tais riscos de forma objetiva e o mais clara possível, com o propósito de contribuir com a discussão do debate sobre o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana, especialmente na EGG. Feito isso, seguiremos para a apresentação de seus benefícios.

3.3.3 Benefícios

O advento da CRISPR-Cas trouxe novas possibilidades de exploração científica, fomentadas, especialmente, pela sua eficiência técnica, baixo custo e facilidade de uso, quando comparada a técnicas anteriores mais complexas e custosas. Desde seu prelúdio, a partir de um artigo publicado por Doudna e Charpentier em 2012, a ferramenta foi amplamente aceita pela comunidade científica e, rapidamente, novas atualizações e possibilidades de uso foram criadas (Jinek *et al.*, 2012; Barrangou; Doudna, 2016).

É imperioso que, nesse interim pelo qual passamos com o aumento anual das pesquisas envolvendo tal ferramenta, os riscos e benefícios decorrentes de seu uso sejam ponderados e avaliados. Dito isso, e após discorrer sobre os riscos na seção anterior, a presente seção se deterá na apresentação dos benefícios da CRISPR-Cas9 na edição genética humana. É importante ressaltar que os sistemas CRISPR-Cas podem ser aplicados na manipulação de qualquer sequência genética, podendo modificar genes de humanos, vegetais e animais (Nuffield Council on Bioethics, 2016). No entanto, como o foco da dissertação é a edição genética humana (e, mais precisamente, a edição genética em embriões humanos), me deterei aos benefícios decorrentes de seu uso com esse propósito. Ao final, um quadro comparativo entre riscos e benefícios será apresentado.

Inicialmente, é importante destacar a promoção do avanço tecnocientífico, alavancado pela descoberta da CRISPR-Cas9, na edição genética. Muito se fala sobre o rápido progresso que a CRISPR-Cas9 teve/tem, em parte, evidenciado pelo crescente aumento anual das

publicações científicas relacionadas a ela. De fato, da bibliografia consultada no presente trabalho, que por ser resultado de uma revisão narrativa possui importantes limites, destaca-se a rápida aceitabilidade que tal ferramenta recebeu, seja pela ampla gama de possíveis aplicações, seja pela sua simplicidade técnica ou pelo vislumbre de conquistas futuras. Conforme já destacado na Introdução do trabalho, e com o intuito de analisar esse aumento de publicações, uma pesquisa na base de dados PubMed (Gráfico 1) comprovou tal crescimento.

Reconhecemos que a ampliação das publicações relacionadas à CRISPR-Cas9 não representa um benefício em si, mas, a título de complementação, destacamos uma breve análise do gráfico 1 (presente na Introdução), complementado com o quadro 6, apresentado a seguir.

Quadro 6- Aumento percentual das publicações relativas à CRISPR-Cas9 publicadas na base de dados PubMed entre os anos 2011 e 2022

Intervalo anual	Número de publicações	Aumento de publicações (em relação ao ano interior)	Aumento percentual (em relação ao ano interior)
2011	1	-	-
2012	3	2	200%
2013	98	95	3.100%
2014	368	270	275%
2015	829	461	125%
2016	1612	783	94%
2017	2338	726	45%
2018	3053	715	30%
2019	3716	663	22%
2020	4159	443	12%

2021	4510	351	8%
2022	4684	174	4%

Fonte: autoria própria a partir do cálculo percentual das informações coletadas na base de dados PubMed e identificadas no Gráfico 1.

Como é possível verificar, em 2011, apenas uma publicação relacionada a CRISPR-Cas9 foi encontrada e tanto essa, quanto as três publicações identificadas em 2012, se referem a sua aplicação em microrganismos. Já em 2013, observa-se as primeiras pesquisas com sua aplicação na engenharia genética humana. Enquanto em 2011 e 2012 foram registradas 1 e 3 publicações, respectivamente, em 2013 contabilizaram-se 98 publicações. Esse significativo aumento pode ser explicado pelo advento da CRISPR-Cas9, em 2012, e pela sua ampla aceitação por parte da comunidade científica.

Como demonstrado no gráfico 1 e apresentado no quadro 6, o ápice de crescimento do número de publicações referentes à CRISPR-Cas9 ocorreu em 2016, com 783 novas publicações em relação ao ano anterior. Somente em 2022, registrou-se o significativo número de 4684 publicações, indicando a contínua ascensão do número de publicações, mas, por outro lado, é possível observar um declínio em seu crescimento, ao identificar apenas 174 novas publicações entre os anos 2021 e 2022.

Em suma, o advento da CRISPR-Cas9, impulsionado, especialmente, pela sua precisão, maior facilidade de uso e baixo custo – quando comparado a biotecnologias de edição gênica precedentes, como ZFNs e TALENs (Quadro 3) – contribuiu para a ampliação dos avanços científicos, estimulado pela sua rápida adesão em laboratórios em nível global e pelo consequente pico no número de publicações (Doudna; Charpentier, 2014).

Além do avanço tecnocientífico, observa-se, também, que os estudos utilizando o sistema CRISPR-Cas9 com fins terapêuticos têm promovido o aperfeiçoamento das terapias genéticas e celulares, contribuindo, substancialmente, para os avanços médicos (Furtado, 2019). Esses avanços já podem ser observados – em diferentes escalas – nas áreas de: infectologia, oncologia, hematologia, neurologia, dermatologia, oftalmologia, pneumologia e transplante de órgãos (Maeder; Gersbach, 2016) – melhor abordados na seção 3.4.

Com efeito, pode-se dizer que a essência da pesquisa de edição genética, utilizando a CRISPR-Cas9, é a busca pela cura de doenças antes incuráveis – sendo esse um importante e potencial benefício da técnica. Esse esperançoso cenário, inclusive, foi apresentado em março de 2023, em Londres, durante o *Third International Summit on Human Genome Editing*

(detalhadamente exemplificado na seção 5.2) – evento cujo foco é reunir pesquisadores internacionais para discutir os avanços científicos da técnica e as implicações éticas envolvidas (The Royal Society, 2023a). Durante o evento, foi apresentado um estudo de caso com a presença da paciente Victoria Grey²² portadora da doença falciforme há trinta e quatro anos.

Grey foi a primeira pessoa a receber tratamento experimental de terapia gênica para doença falciforme utilizando CRISPR-Cas9. Ela agora produz hemácias falciformes em baixa quantidade e, desde seu tratamento, em 2019, ela relatou não ter tido crises fortes de dor (Kupferschmidt, 2023; Mellor, 2022). A paciente será acompanhada ao longo dos próximos anos, buscando-se verificar a eficácia do tratamento, mas os resultados promissores dessa edição somática representam uma grande esperança na cura de doenças antes incuráveis (The Royal Society, 2023a).

Outras aplicações da CRISPR-Cas9 serão apresentadas na próxima seção (3.4) e os ganhos que ela traz à terapia gênica representa um dos principais – senão o principal – benefícios oriundos da CRISPR.

Dessa forma, as possibilidades terapêuticas que surgem a partir da edição na terapia gênica são verdadeiras promessas que atraem o interesse de pesquisadores especializados. Além disso, as conquistas terapêuticas advindas após a descoberta da CRISPR-Cas9 ainda contribuem na prevenção de doenças, impulsionando a medicina preditiva, preventiva e de precisão.

Fazendo um breve adendo, é pertinente distinguir as terminologias 'preditiva' e 'preventiva' – alvo de possíveis confusões conceituais. A medicina preditiva indica a possibilidade de um indivíduo manifestar, no futuro, uma doença de base genética. Ou seja, concerne em identificar geneticamente a predisposição que um indivíduo tem em desenvolver determinada doença antes que a sintomatologia apareça. A medicina preventiva, por sua vez, relaciona-se a práticas que buscam tratar a doença de forma antecipatória, a fim de evitar sua manifestação ou, nos casos de progressão, evitar seu agravamento (Verdival, 2022).

Por conseguinte, os avanços da CRISPR-Cas9 aplicada à terapia genética contribuem para o aumento de precisão da medicina preditiva e para o aumento das possíveis formas de tratamento preventivo – para doenças que ainda carecem de tratamentos (Verdival, 2022).

²² “Victoria Gray é uma esposa de 37 anos e mãe de quatro filhos. Ela luta contra a doença falciforme tipo *ss* há 34 anos. Lidar com dores insuportáveis, múltiplas transfusões de sangue, inúmeras visitas ao hospital e analgésicos que drenam energia quase tornaram a vida insuportável. Em 2018, ela tomou a decisão de mudar sua vida ao tentar a terapia genética. Foi uma das melhores decisões que ela já tomou. Victoria espera que a sua história reacenda a tocha da esperança na vida de muitas outras pessoas cuja luz começou a diminuir como a dela” (The Royal Society, 2023b).

Nessa seara, ainda é importante destacar o impacto que tais avanços têm na medicina de precisão. A medicina de precisão diz respeito ao uso de procedimentos que buscam promover um tratamento individual, baseado em informações genéticas do paciente e em fatores ambientais. Dessa forma, seu objetivo é desenvolver diagnósticos, tratamentos e métodos preventivos individualizados, a partir das informações fornecidas pelo seu perfil genético e levando em consideração os fatores externos aos quais está exposto (Arai *et al.*, 2019). Em síntese, ela “tem por objetivo maximizar a efetividade do tratamento médico e a prevenção de doenças ao levar em consideração a variabilidade genética individual, o meio ambiente e o estilo de vida dos pacientes” (Negri; Uziel, 2020, p. 7).

O desenvolvimento de softwares²³ capazes de interpretar e correlacionar dados genéticos em larga escala aliado ao aumento à acessibilidade genética produzido, por sua vez, pelo barateamento dos testes genéticos, têm impulsionado as pesquisas envolvendo a medicina de precisão (Negri; Uziel, 2020). Assim, torna-se possível levantar um panorama específico sobre a correlação entre doenças específicas e o estado de saúde de pacientes selecionados (Verdival, 2022).

Em consequência, junto aos avanços médicos surgem questões normativas referentes à privacidade genética da população. Segundo Arai e colaboradores (2019), as características clínicas e genéticas devem ser disponibilizadas e compartilhadas em bancos de dados, mas, ao mesmo tempo, devem permanecer anônimas a fim de garantir a confidencialidade da informação genética e impedir que elas sejam correlacionadas à identidade dos pacientes.

Perfis genéticos têm natureza sensível, pessoal, familiar e social (Verdival, 2022) e a principal preocupação relativa à confidencialidade das informações diz respeito ao uso indevido das informações genéticas para outros fins que não seja terapêutico. Isso pode levar a uma discriminação genética, uma vez que o histórico genético de um paciente pode fornecer previsões quanto a sua condição de saúde futura e ser utilizada por seguradoras, empregadores etc. (Arai *et al.*, 2019). Logo, é imperioso que mecanismos de proteção normativos acompanhem os avanços nas medicinas preditiva, preventiva e de precisão, de maneira a resguardar a individualidade e confidencialidade genética de pacientes sob pesquisa.

A fim de sintetizar as informações apresentadas a respeito dos benefícios, riscos e desafios da edição genética humana por meio da CRISPR-Cas9, optou-se pela formulação do

²³ “Técnicas como sequenciamento de nova geração e microarray geram dados genômicos em grande quantidade, que precisam ser organizados e comparados com padrões para possibilitar a interpretação dos resultados. As ferramentas de bioinformática permitem que dados sobre expressão gênica e suas variações possam ser processados, viabilizando sua interpretação e posterior correlação com doenças ou condições de saúde” (Negri; Uziel, 2020).

quadro apresentado a seguir. Vale destacar que a seção 3.3.2 se deteve-se aos riscos conhecidos relacionados a limitações da técnica em si. Sendo assim, diferencio, no quadro 7, os riscos técnicos e os riscos éticos – sendo esses últimos apresentados no capítulo 5.

Quadro 7 - Benefícios, Riscos e Desafios do uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana

Benefícios	Riscos técnicos	Riscos éticos	Desafios
Impulsiona o avanço tecnocientífico.	Mosaicismo.	Transmissibilidade das alterações à prole. ²⁴	Ter uma metodologia precisa e eficaz de clivagem e reparo celular.
Baixo custo.	Mutações <i>off-target</i> .	Irreversibilidade das alterações produzidas.	Desafio na entrega dos componentes do complexo CRISPR-Cas9 às células-alvo.
Promessa de cura de doenças antes incuráveis.	Superexpressão de p53.	Possibilidade de aumentar a desigualdade.	Controlar, de forma eficaz, as diferentes vias de reparo celular.
Aperfeiçoamento da terapia gênica.		Manipulação da natureza humana.	Definir, previamente, o resultado mutacional de reparo do DNA após DSBs.
Impulsiona o avanço das medicinas preditiva, preventiva e de precisão.		Impacto que pode causar na espécie humana a longo prazo.	

Fonte: autoria própria a partir das informações contidas na seção 3.3 e no capítulo 5.

²⁴ Vale ressaltar, como será destacado no capítulo 4, que a transmissibilidade genética não é um risco em si. Traços normais/positivos são transmitidos à prole, da mesma forma que os traços negativos o são. Os textos levantados na revisão, entretanto, apontam, de uma maneira geral, para a transmissibilidade genética como um risco, uma vez que toda alteração genética, irreversível, será transmitida à descendência, o que impacta na bioproteção das gerações presentes e futuras (Hupffer; Berwig, 2020).

Sumariamente, os riscos e benefícios provenientes de uma biotecnologia devem sempre ser analisados. Feita tal análise, é imprescindível que uma relação risco-benefício seja estabelecida, a fim de criar subsídios que orientem os debates normativos e possíveis aprovações para uso clínico.

A era das tecnologias disruptivas traz novos desafios diante dos rápidos avanços científicos. Sendo assim, devemos estimular o progresso seguro e respeitador das individualidades humanas, potencializar os benefícios, diminuir os riscos e respeitar os limites bioéticos estabelecidos.

3.4 APLICAÇÕES ATUAIS E POSSIBILIDADES FUTURAS

A eficácia e simplicidade do sistema CRISPR-Cas9 em manipular qualquer sequência genômica permitiram sua aplicação em diferentes organismos celulares, seja para eliminar doenças genéticas a partir da edição de genes humanos, seja para criar plantas mais resistentes ou para eliminar patógenos (Barrangou; Doudna, 2016; Ledford, 2015).

Na presente seção, trarei algumas aplicações da CRISPR-Cas9, descritas na literatura, que auxiliam a análise sobre seus benefícios.

Uma possível aplicação da CRISPR é na agropecuária. Os organismos geneticamente modificados (OGMs²⁵), que antes eram produzidos a partir da inserção de genes no genoma de interesse, agora passam a ter seus genes editados pela CRISPR. O baixo custo e a facilidade de uso desta técnica tornou possível a manipulação genética de grupos mais específicos da agropecuária, buscando aprimorar safras agrícolas e pecuárias (Ledford, 2015).

O melhoramento genético de safras agrícolas, por meio da CRISPR-Cas9, pode tanto promover melhorias nas propriedades nutricionais, quanto aumentar sua resistência a condições adversas externas, como a resistência à seca e a patógenos (Barrangou; Doudna, 2016). A formação de OGMs pela CRISPR, não obstante, levanta uma importante questão.

Com o uso da CRISPR na produção de OGMs, a regulamentação de tais organismos passa por um novo desafio. Com a antiga biotecnologia, era possível reconhecer os transgênicos facilmente, ao identificar a inserção de transgenes de interesse. Ao fazer uso da edição genética, contudo, as mutações provocadas não podem ser caracterizadas/diferenciadas

²⁵ OGM é “um organismo que teve seu código genético alterado pela introdução de uma ou mais sequências de genes provenientes de outra espécie” (Vasconcelos; Carneiro, 2015). Ainda, segundo a Lei de Biossegurança (Lei 11.105/2005) OGM é um “organismo cujo material genético – ADN/ARN – tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética” (Brasil, 2005).

como uma *mutação convencional ou geneticamente modificada*. Em outras palavras, as mutações ocasionadas por CRISPR-Cas9 não deixam nenhum traço revelador de sua origem no genoma, ou seja, se surgiram a partir de mutações aleatórias ou se foram introduzidas intencionalmente.

Dessa forma, torna-se inviável identificar e regulamentar quais são os organismos alterados geneticamente liberados para consumo. Tais questões técnicas evidenciam que um debate normativo deve ser fomentado, a fim de buscar um meio de criar regulamentações que sejam eficazes, ou seja, que possam exercer o devido controle sobre o uso da técnica e de seus produtos (Ledford, 2015; Nuffield Council on Bioethics, 2016; Rossant, 2018).

Outra possível aplicação é na edição gênica de animais. Whitworth e colaboradores (2016) utilizaram a CRISPR-Cas9 para silenciar o gene *CD163* em porcos. Esse gene é um receptor de entrada do vírus causador da síndrome viral reprodutiva e respiratória suína (PRRS). Tal síndrome “é a doença mais importante economicamente em suínos da América do Norte, Europa e Ásia” (Whitworth *et al.*, 2016, p. 20), causando severos prejuízos aos produtores. Como resultado da pesquisa, os porcos, após a edição genética, mostraram-se resistentes ao PRRS, sem sinais clínicos e com uma positiva resposta imune.

Outros tipos de aplicações também têm sido pesquisados. Tobita, Guzman-Lepe e L'hortet (2015) destacam que o uso da CRISPR-Cas9 para a criação de linhagens de células isogênicas será de grande interesse para a terapêutica, uma vez que essa aplicação beneficiaria o estudo da patogênese de doenças humanas a partir da diferenciação de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSc). As células isogênicas apresentam um perfil genético específico e padronizado, tornando-se de grande interesse na correção de uma mutação genética específica.

O mesmo grupo de pesquisadores ainda mostrou que a edição genética pode criar animais modificados com características do organismo humano para pesquisas biomédicas de base. A geração de modelos desses animais, conhecidos como ‘quimeras’, se apresenta como uma importante ferramenta no estudo de doenças humanas, superando os modelos animais tradicionais. Hoje já há pesquisas com esse tipo de ferramenta para estudar mecanismos imunológicos humano, câncer, terapia celular e doenças infecciosas (Furtado, 2019; Tobita; Guzman-Lepe; Collin De L'hortet, 2015).

A edição genética também está contribuindo para o avanço dos xenotransplantes. Animais estão sendo submetidos à edição genética em estudos clínicos de xenotransplantes – transplante de órgãos de doadores não humanos que surge como uma promessa diante da ainda limitada disponibilidade de órgãos para transplantes. Em janeiro de 2022, aconteceu o

primeiro xenotransplante de um coração de porco geneticamente modificado para um receptor humano em um homem de 57 anos com insuficiência cardíaca em estágio terminal. O transplante foi bem sucedido e, diferente de tentativas anteriores de xenotransplantes, este não desencadeou uma rejeição imediata pelo sistema imunológico do paciente. Entretanto, após oito semanas o paciente veio a óbito por uma infecção por citomegalovírus. Apesar do desfecho, este episódio revelou o progresso pelo qual xenotransplantes, promovidos a partir de edição genética prévia, estão tendo. Mesmo que ainda permaneçam muitas barreiras, o desenvolvimento desse modelo suíno geneticamente modificado renovou a esperança para a possibilidade de sucesso futuro nos ensaios clínicos com xenotransplantes (Montgomery; Tang, 2023).

Adentrando na aplicação da CRISPR-Cas9 como uma técnica de terapia gênica, estudos mostram resultados promissores em diversas áreas de pesquisa. Segundo Rossant (2018), há três diferentes formas de aplicação da CRISPR-Cas9 na edição de genes humanos. A primeira possibilidade é o uso da ferramenta em células somáticas ou germinativas com fins de estudar o desenvolvimento normal celular, modelar doenças humanas e buscar o desenvolvimento de novos tratamentos para tais doenças. A segunda possibilidade é a edição de células somáticas (*ex vivo* ou *in vivo*) para tratamento ou prevenção de doenças. A terceira possibilidade é a edição de gametas ou embriões, a fim de corrigir mutações causadoras de doenças hereditárias (Rossant, 2018), sendo essa terceira possibilidade o grande alvo de debate sobre as questões éticas e legais da modificação da linhagem germinativa humana.

A edição do genoma somático foi demonstrada em células de camundongos em um experimento de Finn e colaboradores (2018), onde uma mutação do gene *TTR*, causador da amiloidose cardíaca transtirretina, foi corrigida. Um dos grandes desafios da manipulação gênica por CRISPR-Cas9 é a entrega de seus componentes às células de interesse. Mas, nesse caso, como o fígado – local de produção da transtirretina – é um tecido em que o desafio de tal entrega já foi superado, a edição somática seria uma opção de tratamento para esta doença específica. Os resultados do experimento mostraram uma queda significativa (97%) nos níveis séricos de *TTR* (Finn *et al.*, 2018) e um estudo clínico já foi realizado, apresentando resultados positivos e promissores.

Tal estudo clínico demonstrou melhorias na redução da proteína transtirretina (TTR) a partir do silenciamento gênico promovido por edição genética *in vivo*. A edição genética foi realizada por NTLA-2001 – uma nova forma de edição baseada em CRISPR-Cas9 – a partir da infusão intravenosa de nanopartículas lipídicas (LNP) com tropismo hepático, carreando um sgRNA complementar ao *TTR* humano. Após a edição de *TTR* em hepatócitos, observou-

se uma diminuição na produção de TTR, com conseqüente redução de sua concentração no soro, e poucos efeitos adversos foram relatados nos pacientes tratados (Gillmore *et al.*, 2021).

Ainda no campo da terapia gênica, as modificações genômicas também podem ser aplicadas na busca de tratamento de doenças não genéticas. Um importante exemplo é o uso da CRISPR-Cas9 no silenciamento do gene *CCR5*, correceptor para a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), para o tratamento dessa doença infecciosa (Tobita; Guzman-Lepe; Collin De L'hortet, 2015). A manipulação do *CCR5* ganhou maior visibilidade quando, em 2018, o pesquisador He Jiankui e sua equipe anunciaram ter ‘criado’ os primeiros bebês geneticamente modificados a partir do silenciamento de tal gene, feito esse que representou uma quebra dos postulados éticos e o levou a uma pena de três anos de prisão (Hupffer; Berwig, 2020).

Pesquisas também apontam para os estudos no tratamento da distrofia muscular de Duchenne (DMD). Moretti e colaboradores (2020) demonstraram um importante avanço nos estudos da DMD – miopatia hereditária infantil mais frequente que provoca degeneração muscular progressiva, culminando em morte prematura por insuficiência respiratória e cardíaca. A maioria dos pacientes com Duchenne apresentam mutações *frameshift* no gene *DMD* que codifica a distrofina. Diante disso, a pesquisa teve como foco a correção da mutação a partir da edição genética somática, por CRISPR-Cas9, em um modelo suíno com perda total da expressão da distrofina. Como resultado, observou-se a restituição da expressão de distrofina nos músculos onde foram injetados vetores virais adeno-associados do sorotipo 9, Cas9 e gRNAs direcionados a sequências que flanqueiam o *éxon 51* (AAV9-Cas9-gE51), com melhora da função muscular esquelética. Além disso, a aplicação sistêmica de AAV9-Cas9-gE51 estimulou a expressão generalizada da distrofina nos músculos, inclusive no diafragma e coração (Moretti *et al.*, 2020).

A ferramenta CRISPR-Cas9 também tem sido aplicada nos estudos de anemia falciforme – doença genética causada por mutação em um dos genes da hemoglobina levando à deformação de eritrócitos, oclusão de vasos sanguíneos e lesão progressiva de órgãos. Com o intuito de corrigir tal mutação, DeWitt e colaboradores (2016) editaram células-tronco hematopoiéticas de pacientes com anemia falciforme e enxertaram as células corrigidas em camundongos imunocomprometidos. Observou-se que as células editadas foram enxertadas com sucesso e produziram hemoglobina normal suficiente, caracterizando potencial benefício clínico para a doença falciforme.

Frangoul e colaboradores (2021) também demonstraram resultados de uma pesquisa com a doença falciforme (DF) e a β -talassemia dependente de transfusão (TDT) – sendo está

uma doença monogênica grave e potencialmente fatal, igualmente à DF. No estudo, os pesquisadores utilizaram CRISPR-Cas9 em células-tronco hematopoiéticas CD34+ e células progenitoras, obtidas de doadores saudáveis, visando o *BCL11A* – fator de transcrição que reprime a expressão da γ -globina e da hemoglobina fetal nas células eritróides. Cerca de 80% dos alelos foram editados, sem evidência de mutação *off-target*. Dois pacientes, um com DF e outro com TDT, receberam as células editadas e, mais de um ano depois, ambos apresentaram enxerto mantido de forma durável, altos níveis de edição na medula óssea e no sangue, altos níveis de expressão de hemoglobina fetal e eliminação de episódios vaso-oclusivos ou necessidade de transfusão (Frangoul *et al.*, 2021).

Pesquisas também já estão entrando em fase inicial de investigação clínica. Isso foi divulgado por Xu e colaboradores (2023) em uma pesquisa utilizando a correção genética *ex vivo*, por meio do complexo CRISPR-Cas9 e sorotipo 6 do vírus adeno-associado recombinante (rAAV6) aplicado na edição de células-tronco/progenitoras hematopoiéticas autólogas (HSPCs) no tratamento da doença falciforme. A pesquisa demonstrou alta estabilidade do rAAV6, servindo como modelo de DNA doador, e um número mais elevado de HSPCs corrigidas. Um ponto importante identificado foi a ativação transitória de p53 durante e após a edição do genoma, apontando o vírus rAAV6 como o principal gatilho para essa ativação. Tal ativação reduz a viabilidade celular e aumenta a chance de tumorigênese. Para reduzir os efeitos produzidos pela ativação, os pesquisadores recorreram à inibição transitória da ativação do p53, o que melhorou a sobrevivência e proliferação celular após a edição. No entanto, os autores apontam que, por questão de segurança, mais estudos devem investigar os efeitos, a longo prazo, da inibição transitória de p53 em HSPCs editadas, antes de sua transferência para aplicações clínicas (Xu *et al.*, 2023).

Ainda na seara da terapia gênica, um importante e crescente campo de pesquisa se concentra na área oncológica. Promissores resultados foram observados no uso da terapia gênica por CRISPR-Cas9 no tratamento de três pacientes com câncer avançado (dois com mieloma refratário avançado e um com sarcoma metastático). No ensaio clínico, Stadtmauer e colaboradores (2020) removeram linfócitos T dos pacientes e utilizaram CRISPR-Cas9 para interromper os genes *TRAC*, *TRBC* e *PDCD1* a fim de melhorar a imunidade antitumoral. Ademais, introduziu-se também o transgene NY-ESO-1 direcionado ao câncer para reconhecer os tumores e, por fim, as células editadas foram administradas nos pacientes. Observou-se que ~30% das células não tinham mutações detectáveis, enquanto ~40% tinham uma única mutação e ~20% e ~10% das células editadas tinham mutação dupla e tripla. Toxicidade clínica associada às células T editadas não foi identificada e as mutações

induzidas pela edição genética foram altamente específicas para os sítios-alvo, observando-se, contudo, raras mutações *off-target*. Por fim, as biópsias demonstraram o tráfego dos linfócitos T para as regiões com tumor em todos os três pacientes, mas demonstrou-se tumor residual em ambos os pacientes com mieloma. Os autores concluem que a engenharia multiplex do genoma humano é segura e viável usando CRISPR-Cas9 (Stadtmauer *et al.*, 2020).

Também vale destacar os avanços nas pesquisas de edição gênica a partir do uso de *base editing* e *prime editing*. Em 2021, pesquisadores utilizaram um ABE personalizado (ABE8e-NRCH) para converter o alelo SCD (HBB^S) – relacionado ao desenvolvimento da doença falciforme – em uma variante não patogênica (HBB^G). As células-tronco hematopoiéticas (HSPCs) humanas de pacientes com DF editadas demonstraram uma conversão de HBB^S em HBB^G em 80%. As células editadas foram transferidas a camundongos imunodeficientes e, após dezesseis semanas resultados positivos foram observados, indicando uma edição genética durável. Os camundongos apresentaram parâmetros hematológicos quase normais e reduziram a patologia esplênica em comparação àqueles que receberam células não editadas. Por fim, o uso de *base editing* em HSPCs humanas evitou a ativação de p53 e maiores deleções – observadas no tratamento com a nuclease Cas9 (Newby *et al.*, 2021).

Importantes resultados também foram obtidos utilizando *prime editing*. Ainda na abordagem das pesquisas de DF, Li e colaboradores (2023) desenvolveram um sistema de *prime editing* vetorizado, buscando reparar, de forma direta, a mutação SCD em células-tronco hematopoiéticas (HSCs) *in vivo* em um modelo de camundongo SCD (camundongos CD46/*Townes*). Para tanto, uma injeção intravenosa, contendo um vetor viral não integrado expressando o PE, foi administrada nos camundongos CD46/*Townes*. Como resultado, ~40% dos alelos foram corrigidos em HSCs, ~43% da hemoglobina falciforme foi substituída pela hemoglobina adulta, mínimas mutações *indel* foram observadas e nenhuma edição *off-target* foi detectada. Por ser uma técnica simples, os pesquisadores concluíram que essa abordagem de edição *in vivo* por *prime editing* tem potencial de ser aplicada em países com poucos recursos e alta prevalência de anemia falciforme (Li *et al.*, 2023).

Esses estudos demonstram os avanços da edição genética na terapia gênica. Entretanto, é importante destacar o delicado ponto que levanta diversos debates bioéticos: a edição de células germinativas. Os debates normativos ao redor do mundo sobre a regulamentação da CRISPR, entretanto, concentram-se, especialmente, na aplicação clínica da edição genética em humanos, especialmente na edição da linhagem germinativa (Rossant, 2018).

Doenças cardiovasculares, como a cardiomiopatia hipertrófica, causada por mutações no gene *MYBPC3*, e a distrofia muscular de Duchenne, causada por mutações no gene *DMD*,

são, segundo German e colaboradores (2019), candidatas para aplicações clínicas da técnica em linhagem germinativa. Em um experimento publicado na revista *Nature*, Ma e colaboradores (2017) demonstraram uma correção bem-sucedida do *MYBPC3* mutado em células germinativas de embriões inviáveis. Inicialmente, 24% dos embriões apresentaram mosaicismos e 9,3% tiveram um genótipo heterozigoto mutante persistente. Após a correção, não foi observada a presença de mosaicismos ou embriões mutantes.

A ferramenta CRISPR-Cas9 também tem sido utilizada na EGG com o intuito de melhor entender o desenvolvimento embrionário humano. Pesquisadores do Reino Unido, por exemplo, usaram a CRISPR para editar o DNA nuclear de um embrião humano buscando estudar como a remoção do gene *OCT4* – importante marcador de células-tronco – afeta o desenvolvimento embrionário inicial (Fogarty *et al.*, 2017).

No entanto, o uso clínico da edição genética em linhagens germinativas (EGH) está atualmente proibido, devido aos riscos desconhecidos que uma edição genética germinal poderá trazer ao indivíduo e a sua prole. Também vale ressaltar que para muitos distúrbios complexos é improvável que a edição do genoma da linhagem germinativa, seja um dia, uma opção de tratamento e prevenção, uma vez que as interações entre os fatores genéticos e ambientais contribuem para a manifestação da doença. Nestes casos, o alvo de tratamento é a edição do genoma somático (German *et al.*, 2019).

Além disso, pesquisadores também estão estudando o uso da CRISPR-Cas9 no desenvolvimento de novos antimicrobianos, na erradicação de insetos transmissores de doenças (Barrangou; Doudna, 2016) e na engenharia de produção de produtos médicos, como na produção de albumina humana a partir de porcos transgênicos (Peng *et al.*, 2015).

Pesquisadores mostram ser possível utilizar a CRISPR-Cas9 no controle biológico a partir do método chamado *gene drive*. A partir do complexo CRISPR-Cas9, um gene editado poderia ser rapidamente propagado em uma determinada população, processo esse que antes levaria muito tempo para acontecer (Barrangou; Doudna, 2016). Hammond e colaboradores (2016) demonstraram, em um artigo publicado pela *Nature biotechnology*, que a técnica do *gene drive* pode ser utilizada em *Anopheles gambiae*, principal vetor da malária, com a finalidade de propagar um genótipo de esterilidade feminina para suprimir a propagação da malária em humanos.

Ledford (2015) destaca ser interessante pensar que “mosquitos ou carrapatos transmissores de doenças poderiam ser exterminados” e que seria possível “eliminar plantas invasoras ou erradicar a resistência a herbicidas” (Ledford, 2015 p. 22), contudo, alterar ou eliminar completamente uma população pode causar um desequilíbrio na cadeia alimentar,

propagando impactos desconhecidos ao ecossistema. Como aponta George Church, o uso do *gene drive*, com seu risco de irreversibilidade em uma determinada população, pode trazer consequências indesejáveis e difíceis de calcular para outras espécies (*apud* Ledford, 2015).

E, por fim, também é possível identificar aplicações industriais da CRISPR-Cas9 e acredita-se que essa biotecnologia terá um “amplo impacto nas indústrias relacionadas a bactérias, fungos e leveduras [...] para a fabricação de produtos, como biocombustíveis e biomateriais” (Barrangou; Doudna, 2016, p. 938).

Está claro que a ‘caixa de ferramentas’ da CRISPR-Cas9 está se expandindo a partir do rápido avanço biotecnológico. O advento dessa biotécnica trouxe uma série de inovadoras possibilidades, seja no estudo e compreensão do funcionamento dos genes, seja na esperança de correção de mutações genéticas responsáveis por doenças hereditárias (Doudna; Charpentier, 2014). Mesmo que sua aplicação clínica ainda seja incerta (Rossant, 2018), é notório que os resultados promissores, divulgados pelas pesquisas científicas, contribuem para o vislumbre positivo de seu uso no futuro. E, dessa forma, os dados apresentados na presente seção servem como complemento para a seção 3.3.3 sobre os benefícios relacionados à CRISPR-Cas9. Os resultados apresentados demonstram os potenciais benefícios que a edição genética pode trazer em diversas áreas, em especial na terapia genética somática. Ter uma biotecnologia com potencial de modificar o genoma da espécie humana, no entanto, traz à tona questões éticas, morais, sociais, políticas e jurídicas que devem continuar como foco de debates bioéticos.

4 USO DA CRISPR-CAS9 NA EDIÇÃO GENÉTICA DE CÉLULAS SOMÁTICAS E DE CÉLULAS GERMINATIVAS

Como veremos mais detalhadamente no capítulo 5, a aplicação da CRISPR-Cas9 na edição genética de células somáticas e células germinativas traz diferentes questionamentos e implica consequências bioético-jurídicas distintas. Dessa forma, é imprescindível compreender cada tipo celular, assim como suas particularidades no contexto de edição gênica e a finalidade com que se busca tal edição.

Como já abordado na seção 2.2.2, e de forma mais esquemática no quadro 1, o organismo humano é composto por células germinativas – responsáveis pela transmissibilidade genética – e por células somáticas – células adultas incapazes de transmitir informações genéticas à descendência.

Além dos riscos já destacados na seção 3.3.2, outro importante ponto a considerar é o fato das modificações genéticas em linhagem germinativa serem definitivas/irreversíveis e hereditárias. Nesse contexto, a edição genética germinal parece receber maior resistência à sua aplicação quando comparada à edição genética somática (Verdival, 2022). Isso porque, as preocupações em relação às limitações técnicas da edição germinativa se potencializam diante do quadro em que alterações genéticas produzidas nessa edição (com relação risco-benefício duvidosa) serem, inevitavelmente, transmitidas à descendência futura.

Nessa seara, aspectos de caráter ético-jurídico são levantados com o intuito de analisar questões referentes aos “direitos das gerações futuras manifestados, mais especificamente, no direito à vida, à preservação da espécie humana e ao conhecimento da origem biológica e identidade genética” (Uranga, 2002 *apud* Verdival, 2022, p. 108). Além disso, outras problemáticas ainda são elencadas, como o questionamento sobre a alteração do genoma de um indivíduo antes mesmo de seu nascimento ou, considerando alterações em células precursoras ao zigoto, antes mesmo de sua concepção (Verdival, 2022).

Em face a essa importante questão, o caráter de transmissibilidade genética precisa ser levado em consideração, uma vez que esse é o principal ponto de discussão. Qualquer alteração genética realizada em célula somática ficará restrita a ela, uma vez que não há transmissão à prole. Alterações genéticas em células germinativas, por outro lado, perpassam também para a descendência futura, uma vez que elas dão origem a todas as células do corpo humano, inclusive os gametas. Sendo assim, a EGH traz questões normativas mais densas e de difícil consenso.

Nessa perspectiva, a transmissibilidade genética merece atenção argumentativa. A herança genética, ou seja, a transmissão de características genéticas às gerações futuras não é um problema/risco em si, ela é um fato. Todo indivíduo carrega uma herança genética transmitida diretamente por seus pais e, indiretamente, por seus ancestrais. Tal herança pode, porventura, carregar determinados traços genéticos que poderão vir a se manifestar de forma negativa no indivíduo. Não obstante, essa possibilidade não torna a hereditariedade algo ruim. Em outras palavras, a transmissibilidade genética não se porta como um risco em si, mas o fato de a edição genética em embriões humanos promover alterações gênicas que serão transmitidas à descendência torna-se um risco.

Por isso, diante das questões pragmáticas e normativas da edição genética germinativa que ainda não foram superadas, existe, até o momento, um consenso da comunidade científica internacional que visa proibir pesquisas com EGH (Baltimore *et al.*, 2015).

As preocupações, no entanto, não se restringem à edição genética germinativa. Segundo recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), tanto a edição do genoma humano somático, quanto a edição do genoma germinativo e hereditário levantam questões éticas e sociais importantes e pendentes. Em seu relatório sobre recomendações a respeito da edição genética humana, a OMS ainda elenca alguns desafios associados à edição do genoma somático: clínicas desonestas; turismo genético; denúncia de pesquisas ilegais não registradas, antiéticas ou inseguras; e as chamadas intervenções terapêuticas não comprovadas (World Health Organization, 2021b).

Dessa forma, é demonstrável que a edição genética humana, como toda terapia experimental e disruptiva, ainda apresenta lacunas a serem preenchidas. Enquanto isso, é preciso atentar-se aos marcos regulatórios normativos em nível nacional e internacional – tarefa destinada ao capítulo 5.

5 PANORAMA REGULATÓRIO SOBRE O USO DA CRISPR-CAS9 NA EDIÇÃO GENÉTICA EM EMBRIÕES HUMANOS

A nova era da engenharia genética, representada pelo advento da CRISPR-Cas9, tem potencial de introduzir grandes mudanças científicas, sociais, econômicas, éticas e jurídicas. Neste campo de discussão, surgem certas preocupações a partir dos riscos provenientes da presente intervenção biotecnológica na alteração do DNA humano.

De fato, apesar de sua aplicação em células animais e vegetais e das atuais pesquisas de correção de defeitos genéticos em células somáticas humanas, o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética de células germinativa é a grande área cinzenta ainda pouco conhecida que requer cautela nesse campo científico.

Falar em edição genética de gametas ou embriões humanos significa entrar em um debate cercado por incertezas, isso porque, diferente da edição de células somáticas, a edição de células germinativas permite a alteração genética de todas as células diferenciadas de um organismo, assegurando, dessa forma, que tais alterações sejam transmitidas à prole (Baltimore *et al.*, 2015).

Posto isto, a presente seção terá como foco analisar aspectos normativos da edição genética por CRISPR-Cas9 na linhagem germinativa humana. Considerando o atual panorama global, não há uma *hard law* que regulamente o uso da ferramenta CRISPR-Cas9 na edição gênica da linhagem germinativa humana, ficando essa responsabilidade a cargo da *soft law* e das leis internas de cada Estado. Dessa maneira, a seção será dividida em três partes: a primeira se deterá na análise conceitual da *soft law* e da *hard law*, a segunda no papel da *soft law* na regulamentação da edição gênica da linhagem germinativa humana e a terceira no cenário normativo brasileiro.

5.1 ANÁLISE CONCEITUAL DA *SOFT LAW* E DA *HARD LAW*

Antes de iniciar a análise normativa propriamente dita, faz-se necessário definir os termos *soft law* e *hard law*. Segundo Mazzuoli (2011), não há uma conceituação única sobre *soft law* mas, para ele, “ela compreende todas aquelas regras cujo valor normativo é menos constringente que o das normas jurídicas tradicionais” (Mazzuoli, 2011, p. 157). *Soft law*

seria, dessa maneira, um conjunto de normas²⁶ flexíveis, sem *força de lei*, uma vez que não gera sanções jurídicas.

A flexibilidade advinda da expressão *soft*, no entanto, não remete a ideia de um direito flexível, mas à plasticidade de suas normas. O direito está presente na *soft law*, o que a difere das demais normas jurídicas é seu conteúdo jurídico maleável, “mais fácil de ser trabalhado, seja nos foros internacionais, seja no seio de organizações internacionais, sem um comprometimento estrito a regras rígidas previamente estabelecidas pelas partes” (Mazzuoli, 2011, p. 159).

A presença da *soft law* (assim como da *hard law*) como instituto do Direito Internacional é essencial na formação do ordenamento jurídico interno dos Estados. A *soft law*, essencialmente, surge no contexto de pluralidade jurídica pós Segunda Guerra Mundial, especialmente com a criação das Organizações Internacionais (Cunha *et al.*, 2021). Diante de seu conteúdo jurídico flexível, a *soft law* se torna uma opção viável no cenário contemporâneo internacional, onde as mudanças e avanços tecnológicos acontecem cada vez mais rápido (Souza, 2020).

Segundo Gregório (2016), a principal relevância da *soft law* para o Direito Internacional está, justamente, em sua flexibilidade. Em face da dificuldade em manter um sistema normativo atualizado (e credível), frente aos rápidos avanços do mundo moderno, a *soft law* fornece aos atores estatais (e não estatais) a possibilidade de criar compromissos com uma margem de flexibilidade que a *hard law* não possui (Gregório, 2016). A criação de suas normas é mais rápida e não apresenta as dificuldades próprias presentes na elaboração das demais normas jurídicas durante as negociações internacionais (Britto, 2020).

Ainda é importante salientar, não obstante, que as normas criadas pela *soft law* não criam obrigações aos Estados, mas podem servir como guias para a elaboração de normas jurídicas da *hard law*. Para Souza, ela serve “de modelo e (para) instigar os debates nas matérias que abordam” (Souza, 2020, p. 33). Além disso, a não obrigatoriedade de suas normas não diminui sua importância no Direito Internacional, afirmando Mazzuoli que a ausência de *força de lei* não exclui a possibilidade de “impor sanções de índole *moral* aos Estados que as violem” (Mazzuoli, 2018, s/p.).

²⁶ A natureza jurídica da *soft law*, dentro do ordenamento jurídico, é objeto de divergência doutrinária. Uma vez que norma (*law*) tem por definição caráter obrigatório – obrigatoriedade essa não exigida pela *soft law* – a escola positivista, normalmente, nega o termo (Britto, 2020).

Há diversas designações que se inserem na *soft law*, dentre elas as declarações, os códigos, as atas, as recomendações, os acordos, os protocolos etc. (Mazzuoli, 2011), algumas delas serão destacadas na próxima seção.

Talvez a principal e mais famosa declaração do Direito Internacional seja a Declaração Universal dos Direitos Humanos (1948). Na obra *Curso de direito internacional público*, Mazzuoli (2011) afirma que tal declaração claramente não se caracteriza como uma *hard law*, mas muito menos pode ser incorporada aos instrumentos da *soft law*. Para ele, a “Declaração Universal de 1948, por estabelecer um código de ética universal relativamente à proteção internacional dos direitos humanos, integra o *jus cogens* internacional, e prevalece à vontade dos Estados e aos seus respectivos direitos internos” (Mazzuoli, 2011, p. 159).

Nesse aspecto, é fundamental fazer um adendo sobre a relação entre a *soft law* e *jus cogens*. As normas *jus cogens* são um conjunto de normas imperativas do Direito Internacional e inderrogáveis pela vontade das partes (Mazzuoli, 2011). Em outras palavras, são normas peremptórias imperativas, que devem ser cumpridas nas relações internacionais, e inderrogáveis – podendo ser alterada apenas por outra norma de direito internacional de igual natureza.

Segundo Robledo (1982), “[...] de um ponto de vista histórico, o Jus Cogens surgiu, como temos visto, da vivência de certos valores essencialmente humanos e universais, cujo respeito e vigência se estima como algo absolutamente necessário para a vida e subsistência da comunidade” (*apud* Barbosa, 2014, p. 21). Ou seja, o *jus cogens* provém de valores fundamentais e superiores, que, estando fortemente relacionado aos direitos humanos, deve promover a proteção da pessoa humana e ser aceito pela maioria dos Estados internacionais (Garcia, 2017; Vieira, 2022).

Esse conceito, há muito difundido no cenário internacional, no entanto, só foi incorporado a partir do art. 53 da Convenção de Viena sobre o Direito dos Tratados, tornando nulo qualquer tratado que viole uma norma *jus cogens*:

Artigo 53

Tratado em Conflito com uma Norma Imperativa de Direito Internacional Geral (*jus cogens*)

É nulo um tratado que, no momento de sua conclusão, conflite com uma norma imperativa de Direito Internacional geral. Para os fins da presente Convenção, uma norma imperativa de Direito Internacional geral é uma norma aceita e reconhecida pela comunidade internacional dos Estados como um todo, como norma da qual nenhuma derrogação é permitida e que só pode ser modificada por norma ulterior de Direito Internacional geral da mesma natureza (Brasil, 2009, s/p.).

Não obstante, tal artigo não menciona exemplos de normas *jus cogens*. Segundo Verdross (1966), decidiu-se não incluir exemplos de *jus cogens* no projeto da Convenção, uma vez que seria impossível criar uma lista completa de normas. Nesse sentido, destaca-se o Direito Natural como um dos fundamentos do *jus cogens*. Da mesma forma que o Direito Natural não precisou “ser escrito ou sancionado, é independente de acordos, e os princípios que dele emanam são universais e imutáveis, superiores as demais normas, muitas vezes até associados a uma ordem divina, conhecido como Jus Divinum”²⁷, o *jus cogens* se aproxima mais de um sistema moral/jusnaturalista que de um sistema legal, uma vez que suas normas não estão, necessariamente, escritas (Barbosa, 2014, p. 11).

De uma forma geral, violações contra as normas *jus cogens* envolvem uma coercitividade moral/política – *power of shame* – não gerando uma punição propriamente dita, como nos é conhecido pelo direito interno do Estado. No entanto, caso uma violação contra *jus cogens* se caracterize, p. ex., como um crime contra a humanidade, o caso será julgado, em última instância, pelo Tribunal Penal Internacional (TPI), recebendo a punição devida. Como estabelecido pela Comissão de Direito Internacional, transgressões a *jus cogens* serão julgadas pela Corte Internacional de Justiça (Barbosa, 2014).

Ainda é importante mencionar que, embora o art. 53 da Convenção de Viena sobre o Direito dos Tratados não enumere, por escrito, as normas *jus cogens*, atribui-se a elas normas referentes aos crimes de competência do Tribunal Penal Internacional, a saber, genocídio, crimes de guerra, uso ilegal da força e crimes contra a humanidade. Em vista disso, e como já mencionado, condutas contrárias a *jus cogens*, que encerrem esses crimes, serão julgados pelo TPI. Tais crimes estão dispostos nos artigos 5º e 7º do Decreto nº 4.388/2002, que promulga o Estatuto de Roma do Tribunal Penal Internacional:

Artigo 5º

Crimes da Competência do Tribunal

1. A competência do Tribunal restringir-se-á aos crimes mais graves, que afetam a comunidade internacional no seu conjunto. Nos termos do presente Estatuto, o Tribunal terá competência para julgar os seguintes crimes:

- a) O crime de genocídio;

²⁷ Há divergências entre juspositivistas e jusnaturalistas a respeito da classificação do *jus cogens* como um Direito Natural. Há ainda aqueles que defendem uma mistura entre jusnaturalismo e juspositivismo, na medida em que normas *jus cogens* unem o “formalismo imperativo juspositivista com a elevação dos valores jusnaturalistas” (Brufatto, 2019, p. 34). No entanto, não entrarei nessa seara discursiva.

- b) Crimes contra a humanidade;
- c) Crimes de guerra;
- d) O crime de agressão.

[...]

Artigo 7º

Crimes contra a Humanidade

1. Para os efeitos do presente Estatuto, entende-se por "crime contra a humanidade", qualquer um dos atos seguintes, quando cometido no quadro de um ataque, generalizado ou sistemático, contra qualquer população civil, havendo conhecimento desse ataque:

- a) Homicídio;
- b) Extermínio;
- c) Escravidão;
- d) Deportação ou transferência forçada de uma população;
- e) Prisão ou outra forma de privação da liberdade física grave, em violação das normas fundamentais de direito internacional;
- f) Tortura;
- g) Agressão sexual, escravatura sexual, prostituição forçada, gravidez forçada, esterilização forçada ou qualquer outra forma de violência no campo sexual de gravidade comparável;
- h) Perseguição de um grupo ou coletividade que possa ser identificado, por motivos políticos, raciais, nacionais, étnicos, culturais, religiosos ou de gênero, tal como definido no parágrafo 3º, ou em função de outros critérios universalmente reconhecidos como inaceitáveis no direito internacional, relacionados com qualquer ato referido neste parágrafo ou com qualquer crime da competência do Tribunal;
- i) Desaparecimento forçado de pessoas;
- j) Crime de *apartheid*;
- k) Outros atos desumanos de caráter semelhante, que causem intencionalmente grande sofrimento, ou afetem gravemente a integridade física ou a saúde física ou mental (Brasil, 2002, s/p.).

Vale ressaltar, ainda, que os Estados que adotarem norma *jus cogens* (ou imperativa de direito internacional) não criarão conflito com suas normas infraconstitucionais. No Brasil, por exemplo, normas que tratam de direitos humanos, provenientes de tratados e convenções

internacionais que sejam aprovadas pelo Congresso Nacional, serão equivalentes a emendas constitucionais (Brasil, 1988).

Em suma, o termo ‘imperativo’ utilizado para classificar o *jus cogens* não corresponde ao conceito ‘obrigatório’ (característico das normas jurídicas), mas refere-se a uma obrigatoriedade mais elevada/constringente (Nasser, 2005). Por conseguinte, o *jus cogens* representa uma categoria dentro das normas imperativas do direito internacional, podendo ser visto como o “núcleo mais rígido da frágil Constituição Internacional que está se formando, abarcando os princípios mais fundamentais de proteção ao ser humano e derogando quaisquer normas e tratados contrários à consciência da comunidade internacional que se transformou em norma” (Barbosa, 2014, p. 23).

Ademais, segundo o art. 64, da Convenção de Viena, “se sobrevier uma nova norma imperativa de Direito Internacional geral, qualquer tratado existente que estiver em conflito com essa norma torna-se nulo e extingue-se” (Brasil, 2009).

Logo, a norma *jus cogens* apresenta grande força, uma vez que toda *hard law* internacional vinculante deve se submeter a ela. Em termos de *soft law*, se o proposto nos documentos *soft* abordar normas *jus cogens*, ela terá valor imperativo, o que altera a configuração de que toda *soft law* não tem *força de lei*. Isto é, embora normas *soft* sejam flexíveis e não gerem sanções jurídicas (sem *força de lei*), elas podem apresentar valor imperativo, caso sejam vinculantes a normas *jus cogens*.

A *hard law*, como um instituto do Direito Internacional, por outro lado, estabelece normas rígidas com obrigações jurídicas (Oliveira, 2005). Segundo Cunha e colaboradores (2021, p. 29), a *hard law* “materializa processos formais de criação de leis internacionais dotadas de vínculo obrigacional, ou *pacta sunt servanda* (o que é pactuado deve ser cumprido)”. Dessa forma, ela é determinada pela criação de instrumentos obrigatórios e coercitivos juridicamente (Cunha *et al.*, 2021).

Em síntese, a *hard law* estabelece regras vinculativas no direito interno, como os tratados e acordos, que podem gerar sanções jurídicas, seja por tribunais internacionais, seja por órgãos internos judiciais dos Estados signatários (Britto, 2020).

Diante das características apresentadas, a *soft law*, no contexto do Direito Internacional, se torna uma boa opção no relacionamento entre Estados, ao facilitar a abordagem complexa e demorada da *hard law*. Segundo Cunha e colaboradores:

as complexidades que envolvem o processo de negociação, redação, aprovação e entrada em vigor de um tratado, que requer geralmente anos de trabalho dos sujeitos

do direito internacional público, é reduzida na elaboração e aprovação de um instrumento de *soft law* (Cunha *et al.*, 2021, p. 30).

Além da rapidez no processo, a *soft law* se caracteriza pela facilidade em sua adesão por parte dos Estados, especialmente pela sua flexibilidade em tratar de temas complexos e em constante mutação nas sociedades modernas. Nesse sentido, a demora na aprovação de normas *hard law* dá lugar a normas mais maleáveis e de natureza *soft* (Cunha *et al.*, 2021; Kolb, 2011).

Contudo, a *soft law* ainda se reveste de uma incerteza jurídica em que os Estados não se preocupam com a legalidade, e o Direito Internacional Público nem sempre consegue impor seus métodos (Mazzuoli, 2011).

A *normatividade desprovida de caráter imperativo* não tira, entretanto, a legitimidade moral da *soft law*. Sua violação/descumprimento pode gerar uma ‘*sanção moral*’ por gerar desconfiança no autor da violação o que, conseqüentemente, prejudica futuras relações (Cunha *et al.*, 2021). Sendo assim, na *soft law* também haveria uma obrigatoriedade moral (Oliveira, 2005), não excluindo, porém, a possibilidade de aquisição de um valor imperativo, caso ela inclua normas *jus cogens*.

Considerando o cenário específico da CRISPR-Cas9, as discussões normativas, de fato, não conseguem caminhar ao lado de seus avanços científicos. Esse cenário ganha uma nova proporção ao se pensar no contexto de conectividade internacional, em que além da existência das normativas internas dos Estados, busca-se uma regulamentação em nível global. Se pensarmos que a normatização não consegue acompanhar os fatos, especialmente no âmbito científico-tecnológico – em que prever resultados futuros, provenientes de biotecnologias, é um desafio – o ideal talvez seria controlar as condutas de forma moral. Esse cenário pode ser uma utopia, então penso que o uso da *soft law* e *hard law* na busca por uma normatização do uso da CRISPR-Cas9, assim como das demais tecnologias de edição gênica, ainda é o melhor caminho.

Comparando esses dois institutos do Direito Internacional, e frente ao desafio da elaboração de uma regulamentação global com caráter *hard law*, adotar medidas *soft law* parece ser a melhor escolha. No entanto, deixar a regulamentação de uma ferramenta como a CRISPR-Cas9, capaz de manipular o genoma humano e realizar edições em nível germinativo (com potencial de se propagar para as gerações futuras), a cargo, *somente*, de instrumentos *soft law* não parece ser o ideal. O instituto da *soft law* apresenta vantagens em relação a *hard law*, seja pelo processo de elaboração das normas, seja pela aceitação por parte dos Estados,

seja pela facilidade em manter um diálogo atualizado com temas complexos e em constante mutação nas sociedades modernas. Contudo, penso que uma regulamentação com *força de lei* complementar as normas *soft law* já existentes (mesmo aquelas com valor imperativo de *jus cogens*), trazendo mais proteção e segurança no uso responsável da técnica na edição do genoma humano.

5.2 O PAPEL DA *SOFT LAW* NA REGULAMENTAÇÃO DA EDIÇÃO GENÉTICA DA LINHAGEM GERMINATIVA HUMANA

Feitas as conceituações necessárias, pode-se prosseguir com a análise normativa propriamente dita. A presente seção, portanto, terá como objetivo reunir documentos de *soft law* (declarações, relatórios e recomendações) oriundos de conferências, cúpulas, etc. destinados ao debate sobre a edição do genoma humano. Como já visto, por ser instrumentos de *soft law*, esses documentos não têm *força de lei*, mas sua análise será fundamental para a melhor compreensão de seu papel nos consensos atuais sobre o uso de técnicas de edição genética humana e, mais especificamente, sobre o uso da CRISPR-Cas9 na edição da linhagem germinativa humana.

Os debates sobre a edição genética trazem à tona questões discutidas em declarações, conferências e comitês realizados nos últimos anos. A Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos (2001, p. 3), em seu artigo 1º, dispõe que o “genoma humano constitui a base da unidade fundamental de todos os membros da família humana”, e, em seu artigo 10º, afirma que as *liberdades fundamentais* e a *dignidade humana* devem sempre prevalecer sobre qualquer pesquisa do genoma humano ou das suas aplicações. De fato, essa declaração conversa diretamente com o artigo 1º da Declaração Universal dos Direitos Humanos (1948, p. 1), em que “todos os seres humanos nascem livres e iguais em dignidade e em direitos”, portanto, a dignidade humana tem caráter inalienável e deve prevalecer sobre tais pesquisas. Ainda que haja um interessante e complexo debate em torno do conceito de dignidade humana, bem como sobre como ela pode ser ameaçada, de fato, por uma pesquisa ou pelo uso de uma técnica, ainda parece plausível considerar que nenhuma pesquisa ou técnica que não esteja em acordo com a proteção da vida humana deve ser desenvolvida.

Entrando na seara dos eventos que produzem relatórios norteadores, e antes de destacar eventos diretamente relacionados à edição gênica, aponto para um importante marco norteador: a Conferência de Asilomar. Realizada em 1975, na Califórnia, a conferência reuniu pesquisadores, advogados e médicos para discutir a segurança do uso da tecnologia DNA

recombinante. Essa técnica permite a combinação de segmentos de DNA, provenientes de diferentes organismos, e sua inserção em uma célula hospedeira capaz de se propagar (Berg *et al.*, 1975).

Após o evento, uma declaração (*Summary statement of the Asilomar conference on recombinant DNA molecules*) foi publicada afirmando que “o uso da metodologia de DNA recombinante promete revolucionar a prática da biologia molecular”, mas ressaltando, por outro lado, que essas novas técnicas “colocam-nos em uma área da biologia com muitas incertezas” (Berg *et al.*, 1975, p. 1981).

A declaração ainda acentua que “a avaliação dos potenciais riscos biológicos provou ser extremamente difícil” e isso, segundo os autores, os levaram a ter cautela na realização das pesquisas, ressaltando que os “padrões de proteção serão maiores no início e modificados conforme aperfeiçoamentos na metodologia ocorram e as avaliações de risco mudem” (Berg *et al.*, 1975, p. 1981).

Semelhantemente aos relatórios produzidos a partir de debates sobre a edição genética humana, como veremos mais adiante, a declaração decorrente da Conferência de Asilomar indica os potenciais da técnica, aponta os perigos provenientes e concorda que a técnica deve avançar segundo as medidas de segurança. No caso do DNA recombinante, diante dos possíveis riscos que a técnica apresentava, a declaração propôs uma moratória nas pesquisas a fim de garantir a segurança nos experimentos e buscando a minimização dos riscos (Nuffield Council on Bioethics, 2016).

A Conferência de Asilomar, dessa forma, evidenciou que as preocupações técnico-normativas a respeito de técnicas de manipulação genética eram pauta fundamental do debate e, por isso, é considerada como o ponto de referência das discussões normativas sobre a manipulação do genoma (Nuffield Council on Bioethics, 2016). Tais discussões ficam mais frequentes à medida que as biotecnologias avançam e com o advento da CRISPR-Cas9 tornam-se mais polarizadas.

As preocupações em torno do uso da CRISPR-Cas9 como ferramenta de edição gênica foram alvo de debate, pela primeira vez, em 2015, durante a Primeira Cúpula Internacional sobre Edição do Genoma Humano (*International Summit on Human Gene Editing*). Organizada pela Academia Nacional de Ciências dos EUA (U.S. National Academy of Sciences), pela Academia Nacional de Medicina dos EUA (U.S. National Academy of Medicine), pela Royal Society e pela Academia Chinesa de Ciências (Chinese Academy of Sciences), a Cúpula, sediada em Washington, DC, reuniu estudiosos de mais de vinte países e

discutiu questões científicas, legais, éticas, sociais e de governança relacionadas à edição do genoma humano (NASEM, 2015).

Os debates oriundos da Primeira Cúpula mostraram que há três principais aspectos que envolvem a temática da edição genética, a saber: questões técnicas, questões éticas e legais e dispositivos de regulamentação e governança. Diferentes posicionamentos marcaram as discussões e, se por um lado, tivemos posturas conservadoras, como a de Eric Lander, por outro, tivemos posturas progressistas, como a de John Harris (NASEM, 2015).

Uma declaração foi redigida pelo comitê organizador e concluiu, resumidamente, que: (1) a pesquisa básica e pré-clínica é necessária e deve prosseguir sob cumprimento de regras legais e éticas; (2) o uso clínico em células somáticas deve ser avaliado de forma adequada e rigorosa dentro das estruturas regulatórias existentes; (3) o uso clínico na linhagem germinativa apresenta riscos de alterações *off-target* e mosaicismos, dificuldade de prever possíveis efeitos prejudiciais, transmissão à descendências futuras, irreversibilidade das alterações, possível aumento das desigualdades sociais entre os aprimorados e os não aprimorados geneticamente e, por fim, as *considerações morais e éticas em alterar propositalmente a evolução humana usando esta tecnologia*; (4) a necessidade de um contínuo debate (NASEM, 2015).

Além disso, a literatura também relata a manipulação da natureza humana como um risco do uso clínico da edição genética na linhagem germinativa humana, o que vai de encontro ao artigo 1º da Declaração Universal sobre o Genoma Humano e Direitos Humanos, que eleva o *status* do genoma humano à categoria de patrimônio da humanidade, demonstrando, assim, a recusa da UNESCO à edição genética da linhagem germinativa que incorre em alterações genéticas herdáveis: “o genoma humano constitui a base da unidade fundamental de todos os membros da família humana, assim como do reconhecimento de sua inerente dignidade e diversidade. Em sentido simbólico, é o legado da humanidade” (UNESCO, 1997, p. 3).

Como dito anteriormente, a modificação gênica da linhagem germinativa em humanos com fins reprodutivos (EGH) é atualmente ilegal em todos os países que apresentam regulamentação sobre pesquisas com embriões humanos, ou é rigidamente regulamentada. Tal proibição, no entanto, não inclui a edição genética de células germinativas com fins de pesquisa (EGG) (Sganzerla; Pessini, 2020; Baltimore *et al.*, 2015). Até 2015, a EGG era

estritamente proibida, até que nesse ano foram aprovadas as primeiras pesquisas²⁸ de EGG, o que causou grande controvérsia quanto aos aspectos éticos da manipulação do genoma.

Ainda em 2015, o diretor do *National Institutes of Health* (NIH), Francis S. Collins, afirmou que o NIH não iria financiar o uso de tecnologias de edição genética em embriões humanos, uma vez que os riscos superam os benefícios (Collins, 2015). E, no mesmo ano, o *International Bioethics Committee*, da UNESCO, publicou um relatório, afirmando que a terapia gênica se apresenta como um divisor de águas na história da medicina e que a edição genética da linhagem germinativa levanta sérias preocupações. Segundo tal relatório, as modificações devem ser realizadas apenas em casos preventivos, diagnósticos e terapêuticos, excluindo as alterações que sejam transmitidas à prole:

A terapia gênica pode ser um divisor de águas na história da medicina e a edição do genoma é, sem dúvida, um dos empreendimentos mais promissores da ciência para o bem de toda a humanidade. (...) Ao mesmo tempo, esse desenvolvimento exige particular precaução e suscita sérias preocupações, especialmente se a edição do genoma humano for aplicada à linha germinal e, portanto, introduzir modificações hereditárias, que seriam transmitidas às gerações futuras. (International Bioethics Committee, 2015, p. 25).

Em 2016, o *Nuffield Council on Bioethics*, um órgão independente financiado pela *Nuffield Foundation*, pelo *Medical Research Council* e pelo *Wellcome Trust*, publicou um relatório intitulado *Genome editing: an ethical review*. Essa revisão ética traz, entre outros contextos, questões éticas relacionadas ao uso da CRISPR-Cas9 em células humanas embrionárias, afirmando que dentre as diferentes possibilidades de aplicação, a alteração genética de embriões humanos com fins reprodutivos deve ser discutida com urgência, uma vez que a segurança e eficácia da técnica, nesse contexto, não foram “suficientemente demonstradas” (Nuffield Council on Bioethics, 2016, p. 115).

Ainda em 2016, o *International Society for Stem Cell Research* (ISSCR) apoiou experimentos laboratoriais que envolvessem a edição genética de gametas, zigotos e embriões humanos pré-implantação. No entanto, diante das incertezas e riscos da modificação em células germinativas, a ISSCR afirmou que qualquer alteração desse tipo com fins de reprodução é prematura e deve ser proibida (International Society for Stem Cell Research, 2016).

²⁸ Em 2015, na China, uma pesquisa buscou corrigir, por meio da técnica CRISPR-Cas9, a mutação no gene *HBB*, relacionada ao desenvolvimento da doença beta-talassemia (Liang *et al.*, 2015). No mesmo ano, uma pesquisadora britânica solicitou autorização para usar a CRISPR-Cas9 em pesquisas com embriões humanos excedentes a fim de estudar e melhor compreender o desenvolvimento embrionário inicial (Lauxen; Goldim, 2015). Em 2017, outra pesquisa com embriões humanos foi realizada com o intuito de corrigir a mutação no gene *MYBPC3*, relacionada ao desenvolvimento de cardiomiopatia hipertrófica (Ma *et al.*, 2017).

No ano seguinte, em 2017, duas importantes instituições americanas, *National Academy of Science (NAS)* e *National Academy of Medicine (NAM)*, publicaram um estudo, *Human Genome Editing: Science, Ethics, and Governance*, apoiando as pesquisas de edição genética em células somáticas com fins terapêuticos e experimentos laboratoriais de edição em células germinativas com as seguintes finalidades: (i) para a prevenção de doenças graves; (ii) na ausência de outras possibilidades de tratamento; (iii) sob rigoroso monitoramento dos efeitos produzidos; (iv) prevenção do uso da técnica para fins não terapêuticos (NASEM, 2017).

Ainda em 2017, o Parlamento Europeu afirmou que a CRISPR-Cas9 está entre as “dez tecnologias suscetíveis de transformar as nossas vidas” e seu uso com fins de aprimoramento humano pode “causar danos irreversíveis para as gerações futuras além de abrir porta a novas formas de desigualdade, discriminação e conflito sociais, bem como a uma nova era de eugenia” (Parlamento Europeu, 2017, p. 31).

Esse grande potencial da CRISPR-Cas9 faz dela, segundo analistas econômicos, uma tecnologia disruptiva. O conceito de inovação disruptiva foi criado em 1997 por Clayton M. Christensen em seu livro *The Innovator's Dilemma: When New Technologies Cause Great Firms to Fail* e se refere a uma inovação tecnológica capaz de romper com o padrão já estabelecido (*apud* Almeida; Ranisch, 2022).

Segundo o relatório sobre biotecnologias emergentes publicado pelo *Nuffield Council on Bioethics* (2012), essas biotecnologias podem “transformar ou deslocar as relações sociais, práticas e modos de produção existentes, ou criar novas capacidades e oportunidades que não existiam anteriormente, ou podem nem ter sido imaginadas (...)” (Nuffield Council on Bioethics, 2012, p. 40).

Depois do relatório *Genome editing: an ethical review* (2016), o *Nuffield Council on Bioethics* publicou, em 2018, outro relatório intitulado *Genome editing and human reproduction: social and ethical issues*. Em seu relatório, o conselho concluiu que a edição genética da linhagem germinativa humana com fins reprodutivos – chamada por eles de genoma hereditário – pode ser “moralmente aceitável” em algumas circunstâncias, mais especificamente, aquelas com potencial impacto no bem-estar do indivíduo. Citando o bioeticista utilitarista Julian Savulescu, que defende o *princípio da beneficência procriativa*, o relatório aponta que, seguindo o pensamento utilitarista, “deveríamos, de fato, fazer tudo o que pudermos para maximizar o bem-estar das pessoas” de gerações futuras. Por outro lado, o relatório levanta duas críticas a respeito do conceito de maximização do bem-estar utilitarista, a saber: i) “é um desafio substancial saber (ou prever com alguma confiabilidade) quais

características (ou mesmo que tipo de características) serão promotoras de bem-estar”; ii) “existe o risco de que, ao selecionar qualquer uma dessas características, os futuros pais realmente reduzam a liberdade de seus filhos, colocando sobre eles o ônus adicional da expectativa” (Nuffield Council on Bioethics, 2018, p. 72).

Por defender, mesmo que implicitamente, que a mudança genética no genoma hereditário poderia ser eticamente permissível em certos casos, inclusive para além do uso terapêutico, o relatório foi recebido com críticas por uns e elogios por outros (Almeida; Ranisch, 2022).

Entre tantos debates, relatórios e conferências, é necessário destacar que foi em novembro de 2018, dois dias antes da Segunda Cúpula Internacional sobre Edição do Genoma Humano (*Second International Summit on Human Genome Editing*), em Hong Kong, que o pesquisador He Jiankui divulgou, em um vídeo do YouTube, ter ‘criado’ os primeiros bebês geneticamente modificados do mundo: as gêmeas Lulu e Nana. Durante a Cúpula, ele detalhou o experimento à plateia, explicando como fez a mutação do gene *CCR5*, a fim de conferir resistência à infecção pelo HIV às gêmeas recém-nascidas (Li, 2019).

O relatório produzido nesta Segunda Cúpula informou o consenso de que é irresponsável prosseguir com a edição do genoma da linhagem germinativa humana com fins clínicos. Além disso, reconheceu que o experimento *perturbador* de He Jiankui foi um procedimento:

irresponsável e não obedeceu às normas internacionais, além de, entre outras coisas, ter sido um estudo mal elaborado, ter falhado ao atender os padrões éticos para proteger o bem-estar dos sujeitos da pesquisa e falta de transparência no desenvolvimento, revisão e condução dos procedimentos clínicos (NASEM, 2019, s/p.).

Tal experimento foi de encontro ao artigo 12 da Declaração sobre o Genoma Humano e Direitos Humanos ao afirmar que: “as aplicações da pesquisa (...) deverão visar ao alívio do sofrimento e à melhoria da saúde das pessoas e da humanidade como um todo” (Unesco, 1997). Realizar um procedimento proibido, com valor científico questionável e relação risco-benefício irracional representa uma verdadeira violação aos postulados éticos. Assim como afirma Fyodor Urnov, pesquisador e estudioso sobre a edição do genoma humano, “atualmente, não há nenhuma necessidade médica não atendida que a edição de embriões atenda”. Ele ainda desaprova a utilização da edição do genoma em embriões para prevenir a infecção pelo HIV e diz que “existem maneiras seguras e eficazes de usar a genética para

proteger as pessoas do HIV que não envolvam a edição dos genes de um embrião” (Cyranoski; Ledford, 2018).

Em dezembro de 2019, He Jiankui e sua equipe foram condenados, pelo Tribunal Popular do Distrito de Nanshan, a três anos de prisão por realizar, ilegalmente, a edição genética de embriões humanos com fins reprodutivos, da qual nasceram três bebês geneticamente modificados (Huaxia, 2019).

As ofensas praticadas por Jiankui, segundo o Tribunal, seriam: i) “violência deliberada aos regulamentos relevantes e à ética médica da China”; ii) “aplicação de tecnologias de edição genética embrionária humana cuja segurança e eficácia não foram comprovadas em práticas clínicas de reprodução assistida”; iii) “ação para além da linha de fundo da ética em pesquisa e ética clínica” (Lei; Qiu, 2020, s/p.).

Essas ofensas, não obstante, violam ‘apenas’ regulamentos administrativos e normas éticas, ou seja, não apresentam ilegalidade de acordo com as leis civis e criminais da China. Dessa forma, a condenação feita se baseou no artigo 336 da Lei Penal da República Popular da China que pune a prática médica realizada sem licença (Lei; Qiu, 2020). Em síntese, a violação ao consenso internacional que torna ilegal a prática de edição genética hereditária, praticada por He Jiankui, foi reduzida a um caso de prática médica ilegal, motivo esse que permitiu sua condenação.

Apesar do consenso da comunidade científica em proibir a edição genética de embriões humanos com fins de reprodução e apesar das críticas recebidas por tal pesquisa, o experimento de He Jiankui pode ter aberto a possibilidade para que outros pesquisadores busquem fazer o mesmo (Almeida; Ranisch 2022). Alguns cientistas já demonstraram seu interesse em editar embriões humanos, como o biólogo molecular russo Denis Rebrikov que anunciou, em 2019, seu interesse em também silenciar o gene *CCR5* de embriões humanos e implantá-los no útero de mulheres (Cyranoski, 2019).

A linha que separa o interesse pela cura de doenças a partir do avanço científico e a ambição pelo pioneirismo na aplicação clínica de uma nova tecnologia é tênue. Espera-se, pela sociedade, que os cientistas busquem o “bem potencial da ciência” e “evitem os (possíveis) danos” que seus experimentos podem trazer. Em outras palavras, segundo o relatório *Nuffield* (2016), “presume-se que os cientistas tenham uma responsabilidade implícita para com a sociedade” (Nuffield Council on Bioethics, 2016). No entanto, frente ao rápido avanço das pesquisas com CRISPR-Cas9 na edição genética humana, torna-se vital que regulamentos internacionais sejam criados para regular a biotécnica.

Em 2020, a comissão internacional sobre o uso clínico da edição do genoma da linhagem germinativa humana criada pela Academia Nacional de Ciências dos EUA (U.S. National Academy of Sciences), pela Academia Nacional de Medicina dos EUA (U.S. National Academy of Medicine) e pela *Royal Society* do Reino Unido publicou um abrangente relatório sobre a edição hereditária do genoma humano. Segundo o relatório, embriões humanos editados genomicamente não devem ser utilizados com fins reprodutivos. O relatório ainda pontua requisitos pré-clínicos e clínicos rigorosos a fim de garantir a segurança e eficácia dos resultados, além de destacar a importância do diálogo e supervisão científica nacional e internacional (National Academy of Medicine; National Academy of Sciences; Royal Society, 2020).

Em 2018, a Organização Mundial da Saúde (OMS) criou um comitê consultivo formado por especialistas globais e multidisciplinares para analisar os desafios (científicos, éticos, sociais e legais) que a edição do genoma humano traz. Em 2021, este comitê publicou dois relatórios que fornecem as primeiras recomendações mundiais sobre a edição do genoma humano com ênfase na segurança, eficácia e ética. O relatório *Human genome editing: a framework for governance* e o relatório *Human genome editing: recommendations* são complementares e trazem conselhos e recomendações sobre a governança e a supervisão da edição do genoma humano, seja de células somáticas, seja da linhagem germinativa. O relatório sobre as recomendações sugere, dentre outras coisas, mecanismos de denúncia para acusar pesquisas ilegais e antiéticas. Já o relatório sobre governança identifica uma série de considerações para a implementação bem-sucedida de medidas de supervisão e governança para a edição do genoma humano (World Health Organization, 2021a; World Health Organization, 2021b).

Em síntese, o relatório *Human genome editing: a framework for governance* considera que a boa governança da edição do genoma humano apresenta importantes características que devem ser consideradas, a saber: a) dependerá do contexto em que ela estiver inserida e, por isso, o Comitê produziu uma estrutura de governança que pode ser implementada em diferentes contextos; b) variará nos níveis institucional, nacional, regional e global e, dessa forma, cada instituição deve ser capaz de revisar as políticas e práticas adotadas para gerenciar riscos e dispor os potenciais benefícios, os esforços nacionais e regionais serão diferentes em cada país, devendo as medidas de governança ser integradas nos acordos existentes e, por fim, em nível global, as medidas de governança devem ser capazes de harmonizar uma resposta global, desenvolvendo boas práticas, e apoiar a governança e supervisão da edição do genoma humano; c) deverá considerar que a capacidade nacional de

realizar a supervisão e regulamentação da edição do genoma humano será diferente em cada país; d) a OMS deve fortalecer sua capacidade de trabalhar na governança, realizando atividades de revisão e fortalecimento das medidas de governança, mantendo-se atualizada sobre os desenvolvimentos, coletando métricas de impacto e utilizando seus recursos de comunicação para expor a importância da boa governança; e) a boa governança deverá promover a confiança do público, garantindo que as escolhas sejam feitas de forma transparente e inclusiva. Por fim, o Comitê ainda propõe que, a cada três anos, um órgão capacitado seja convocado para revisar e atualizar a estrutura de governança (World Health Organization, 2021a).

O relatório *Human genome editing: recommendations* traz uma série de recomendações ao Diretor-Geral da OMS, resultantes das deliberações do Comitê Consultivo de Especialistas no Desenvolvimento de Padrões Globais para Governança e Supervisão da Edição do Genoma Humano (*Expert Advisory Committee on Developing Global Standards for Governance and Oversight of Human Genome Editing*) para aconselhar sobre os mecanismos apropriados de governança institucional, nacional, regional e global para a edição do genoma humano. Em síntese, a OMS: a) deve demonstrar liderança científica e moral; b) deve trabalhar interdisciplinarmente em um processo internacional contínuo, compartilhando informações sobre políticas relevantes (leis, regulamentos e diretrizes); c) deve monitorar, regularmente, o registro de ensaios clínicos e ser capaz de identificar aquele que possa ser motivo de preocupação; d) deve fazer uma declaração de que a pesquisa somática ou germinativa do genoma humano só deve ocorrer em jurisdições com políticas domésticas e mecanismos de supervisão; e) deve desenvolver um mecanismo acessível para relatar, confidencialmente, preocupações com pesquisas de edição do genoma que indiquem ser ilegais, antiéticas, sem registro etc.; f) deve promover um diálogo inclusivo sobre o futuro da edição do genoma humano, destacando aspectos científicos, éticos e sociais; g) deve liderar um esforço para criar um conjunto de valores e princípios éticos, definidos e endossados, a fim de ser usados nas deliberações da OMS por seus comitês especialistas (World Health Organization, 2021b).

Por fim, e mais recentemente, aconteceu, em Londres, a Terceira Cúpula Internacional sobre Edição do Genoma Humano (*Third International Summit on Human Genome Editing*). Organizada pela *Royal Society* do Reino Unido (*UK Royal Society*), pela Academia de Ciências Médicas do Reino Unido (*UK Academy of Medical Sciences*), pela NAS e NAM (*US National Academy of Science* e *US National Academy of Medicine*) e pela Academia Mundial de Ciências (*World Academy of Sciences*), a Terceira Cúpula se baseou nos eventos anteriores

– em Washington, DC (2015) e Hong Kong (2018) – dando prosseguimento ao debate global sobre a edição somática e germinativa do genoma humano. Além de abordar e discutir os avanços das ferramentas de edição, como a CRISPR-Cas9, questões sociais, éticas e de acessibilidade também foram foco do debate (National Academy of Medicine, 2023; The Royal Society, 2023b).

Ao término da Cúpula, uma declaração foi publicada pelo Comitê Organizador trazendo conclusões decorrentes das discussões ocorridas nos três dias de evento. A declaração traz três principais pontos, a saber: i) os avanços e promessas das pesquisas com edição genética somática humana; ii) considerações a respeito da edição genética germinativa humana; iii) preocupações com a acessibilidade às terapias genéticas. Em relação ao ponto ‘i’, demonstra-se que avanços significativos ocorreram nas pesquisas com edição somática do genoma humano, especialmente nos ensaios com pacientes portadores da doença falciforme (ensaio clínico com Victoria Grey, exemplificado na seção 3.3.3), vislumbrando-se a cura de doenças antes consideradas incuráveis. Quanto ao ponto ‘ii’, pesquisas laboratoriais com edição germinativa do genoma humano continuam em andamento, buscando-se a melhor compreensão do desenvolvimento humano inicial, mas seu uso com fins reprodutivos permanece inaceitável no momento, uma vez que os padrões de segurança e eficácia necessários não foram cumpridos. Com relação ao ponto ‘iii’, afirma-se que o custo das terapias, atualmente, é “extremamente alto” e “insustentável”. A acessibilidade é, de fato, uma questão que levanta preocupações com relação a busca por um acesso equitativo e acessível a esses tratamentos. Não basta termos tratamentos eficientes se eles não forem acessíveis (The Royal Society, 2023a, s/p.).

A declaração ainda elenca algumas sugestões/recomendações que podem nortear os próximos passos com o uso das tecnologias de edição genética, a saber: a) apesar dos avanços na eficiência do processo de edição, a entrega ainda permanece um desafio a ser superado. Dessa forma, mais pesquisas de edição do genoma somático devem ser estimuladas a fim de aumentar a eficiência, especificidade e segurança dos sistemas de edição e entrega, assim como aumentar o entendimento dos riscos e efeitos indesejados; b) recomenda-se, também, um acompanhamento prolongado, nos ensaios clínicos, a fim de observar possíveis efeitos da edição a longo prazo; c) diante do alto custo das terapias, um esforço global deve ser estimulado para garantir o acesso equitativo e financeiramente sustentável às terapias de edição genética somática; d) o Comitê ainda recomenda a colaboração internacional sobre as abordagens inovadoras de governança e regulamentação das tecnologias de edição do genoma

humano, assim como inovações no tratamento de doenças genéticas (The Royal Society, 2023a).

O panorama cronológico apresentado (e sintetizado no Quadro 8) revela as preocupações decorrentes do uso da CRISPR-Cas9 e aponta medidas normativas acerca de seu uso na edição genética (germinal e somática) humana. Parece-nos incontroversa a importância de *soft law* como expressão do comportamento ético esperado por parte da comunidade científica. Tanto no plano da criação de instrumentos normativos – *institutos do direito internacional* – que não têm *força de lei*, ou seja, não têm caráter vinculativo, nem poder de gerar sanções, mas atuam como *standards* normativos com *vocação de regular comportamentos sociais* (Britto, 2020); quanto no plano, por assim dizer, mais estrito das diretrizes éticas consensuadas entre os pares, veem-se iniciativas relevantes e indispensáveis, que são voltadas à regulação e governança.

Não obstante, parece-nos que o sistema de regulação/governança poderá se tornar mais eficaz se *soft law* forem complementadas por normas de tipo *hard law*, dado o caráter de obrigatoriedade jurídica e de aplicação de sanções destas (Britto, 2020).

Em suma, é imperativo que esse tema seja pauta das discussões, que mais debates sejam fomentados e que mais pesquisas sejam realizadas, a fim de estimular seu uso seguro e cauteloso, nos casos em que a segurança seja comprovada, e impedir os usos indevidos e irresponsáveis que possam ir contra a dignidade humana.

Quadro 8- Quadro sinótico da *soft law* na regulamentação da edição genética humana

Ano	Documento/Evento	Síntese
1948	Declaração Universal dos Direitos Humanos	Declara que todos os seres humanos nascem livres e iguais em dignidade e direitos.
1975	Conferência de Asilomar	Alerta para os riscos decorrentes da tecnologia DNA recombinante e propõe uma moratória nas pesquisas.
1997	Declaração Universal sobre o Genoma Humano e Direitos Humanos	Eleva o genoma humano à categoria de patrimônio da humanidade; afirma que nenhuma pesquisa relacionada ao genoma humana deve prevalecer sobre o respeito à dignidade humana; afirma que as pesquisas devem buscar o alívio do sofrimento e a melhora da saúde dos indivíduos.
2005	Declaração Universal sobre Bioética e	Afirma que a dignidade humana, os direitos humanos e as liberdades fundamentais devem ser respeitados em sua totalidade e que o bem-

	Direitos Humanos (DUBDH)	estar do indivíduo deve ter prioridade sobre o interesse da ciência ou da sociedade.
2015	<i>International Summit on Human Gene Editing</i> (Washington, DC).	Três principais aspectos são destacados: questões técnicas, questões éticas e legais e dispositivos de regulamentação e governança. Pesquisas com edição somática do genoma humana devem prosseguir, enquanto que pesquisas com edição germinativa do genoma humano, com fins reprodutivos ou não, não devem ser feitas.
2015	<i>National Institutes of Health</i> (NIH)	Anunciou ser contra a edição genética em embriões humanos, uma vez que os riscos superam os benefícios, afirmando que não iria financiar qualquer tecnologia com esse fim.
2015	<i>International Bioethics Committee</i> (UNESCO)	Afirmou que alterações genéticas só devem ser realizadas em casos relacionados à prevenção, ao diagnóstico e à terapia, excluindo as alterações que sejam transmitidas à prole, uma vez que a edição gênica na linhagem germinativa traz sérias preocupações.
2016	<i>Nuffield Council on Bioethics</i>	Publica um relatório afirmando que o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética de células germinativas com fins reprodutivos deve ser debatido com urgência, em virtude da falta de conhecimento e demonstração da segurança e eficácia da técnica.
2016	<i>International Society for Stem Cell Research</i> (ISSCR)	Se diz favorável a pesquisas laboratoriais de edição genética na linhagem germinativa, mas contra a edição genética em embriões humanos com fins de reprodução.
2017	<i>National Academy of Science</i> e <i>National Academy of Medicine</i>	Apoiam pesquisas de edição genética de células somáticas com fins terapêuticos e admitem experimentos laboratoriais de edição de células germinativas: (i) para prevenção de doenças graves; (ii) na ausência de outro tratamento; (iii) sob rigoroso monitoramento.
2017	Parlamento Europeu	Afirma que o uso da CRISPR-Cas9 com fins aprimadores pode impactar e trazer danos irreversíveis às gerações futuras, além do risco de aumentar a desigualdade/discriminação/conflito social, bem como de uma nova eugenia.
2018	<i>Second International Summit on Human Genome Editing</i> (Hong	He Jiankui divulga ter ‘criado’ os primeiros bebês geneticamente modificados. O relatório produzido após o evento ressalta que é irresponsável prosseguir com a edição do genoma da linhagem

	Kong).	germinativa humana com fins clínicos.
2018	<i>Nuffield Council on Bioethics</i>	Apoia a edição genética germinal humana com fins reprodutivos, ao afirmar que ela poderia ser “moralmente aceitável” em situações que pudessem impactar o bem-estar do indivíduo.
2020	<i>National Academy of Science;</i> <i>National Academy of Medicine;</i> <i>Royal Society</i> (Reino Unido)	Produzem um artigo sobre a edição genética hereditária do genoma humano, defendendo que embriões humanos editados geneticamente não devem ser utilizados com fins de reprodução.
2021	<i>World Health Organization</i> (WHO)	Produz dois relatórios, fornecendo uma série de sugestões para a implantação bem-sucedida da governança e vigilância da edição genética, além de sugerir dispositivos de denúncia de pesquisas ilegais e antiéticas.
2023	<i>Third International Summit on Human Genome Editing</i> (Londres).	Destaca os avanços das pesquisas com edição genética somática humana e o vislumbre da cura de doenças antes consideradas incuráveis; estimula as pesquisas laboratoriais com edição genética germinativa humana, mas destaca ser inaceitável sua edição com fins reprodutivos; elenca preocupações a respeito da acessibilidade às terapias genéticas diante de seu alto custo.

Fonte: autoria própria.

Nesse sentido, e pensando no contexto nacional, a próxima seção será destinada à abordagem normativa do cenário brasileiro na regulamentação da edição genética humana. Para tanto, será apresentada a lacuna jurídica existente na legislação, os meios aplicados para preenchê-la e analogias utilizadas como tentativas de complementação no ordenamento jurídico brasileiro. E, como será visto, a lacuna jurídica sobre os usos da técnica, aliada ao modo consolidado no caso brasileiro de preenchimento desta, configuram um chamamento à reflexão e, mais do que isso, à formulação de propostas de regulação/governança adequadas.

5.3 O CENÁRIO NORMATIVO BRASILEIRO

No Brasil, a Constituição Federal (CF) de 1988 situa-se no topo do ordenamento jurídico brasileiro. Ela representa a lei suprema do Brasil e rege as demais espécies normativas. Sendo assim, começaremos a análise normativa por ela.

A Constituição Federal traz uma única menção à manipulação do genoma humano (em seu art. 225, § 1º, inciso II) incumbindo ao poder público a obrigação de preservar o patrimônio genético do país e a fiscalização das instituições de pesquisa que promovem manipulação do material genético humano:

§ 1º Para assegurar a efetividade desse direito, incumbe ao Poder Público:

I - preservar e restaurar os processos ecológicos essenciais e prover o manejo ecológico das espécies e ecossistemas;

II - preservar a diversidade e a integridade do patrimônio genético do País e fiscalizar as entidades dedicadas à pesquisa e manipulação de material genético; (Brasil, 1988, s/p.).

Fazendo uma breve análise, observa-se a presença de conceitos indeterminados, também chamados conceitos fluidos ou vagos (NOHARA, 2010), na abordagem sobre manipulação genética pela CF/88. Não fica claro a que se refere a expressão ‘patrimônio genético do País’, deixando incerta sua interpretação. Há um único e mesmo patrimônio para todos os brasileiros ou a expressão se refere aos diversos patrimônios individuais que formam um patrimônio genético nacional?

O art. 196 ainda dá ao Estado a incumbência de garantir a redução do risco de doença por meio de políticas sociais e econômicas e promover o acesso universal e igualitário aos serviços, buscando a promoção, proteção e recuperação da saúde:

Art. 196. A saúde é direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação (Brasil, 1988, s/p.).

Além disso, a CF/88 ainda garante, em seu art. 218, que “o desenvolvimento científico, a pesquisa, a capacitação científica e tecnológica e a inovação” serão promovidos e incentivados pelo Estado (Brasil, 1988, s/p.).

Sendo assim, tanto o desenvolvimento científico-tecnológico, quanto a promoção do acesso igualitário aos serviços de saúde estão sob responsabilidade do Estado e devem ser incentivados por ele. Estes artigos propostos pela CF/88, por conseguinte, criam um cenário promissor ao desenvolvimento da CRISPR-Cas9 no país, como uma ferramenta de edição

genética e, teoricamente, resguarda a população brasileira contra possíveis dificuldades na acessibilidade a tratamentos inovadores que, conseqüentemente, costumam ter alto custo.

Analisando o papel do Brasil no Direito Internacional (importante para o estudo do papel de *soft law* e *hard law* internacionais no sistema regulatório brasileiro), observa-se que, em suas relações internacionais, o Estado brasileiro deve se orientar pela prevalência dos direitos humanos:

Art. 4º A República Federativa do Brasil rege-se nas suas relações internacionais pelos seguintes princípios:

[...]

II - prevalência dos direitos humanos;

[...] (Brasil, 1988, s/p.).

O art. 5º, ainda afirma que todos são iguais perante a lei e garante à população brasileira os direitos humanos, dentre eles, o direito à vida. O parágrafo 3º, do mesmo artigo, dispõe que tratados e convenções internacionais (caráter *hard law*) sobre direitos humanos, que forem aprovados pelo Congresso Nacional, serão equivalentes às emendas constitucionais. E o parágrafo 4º, por fim, ordena que o Brasil se submeta à jurisdição do Tribunal Penal Internacional (TPI).

Art. 5º Todos são iguais perante a lei, sem distinção de qualquer natureza, garantindo-se aos brasileiros e aos estrangeiros residentes no País a inviolabilidade do direito à vida, à liberdade, à igualdade, à segurança e à propriedade, nos termos seguintes:

[...]

§ 3º Os tratados e convenções internacionais sobre direitos humanos que forem aprovados, em cada Casa do Congresso Nacional, em dois turnos, por três quintos dos votos dos respectivos membros, serão equivalentes às emendas constitucionais.

§ 4º O Brasil se submete à jurisdição de Tribunal Penal Internacional a cuja criação tenha manifestado adesão (Brasil, 1988, s/p.).

Por fim, o art. 109, inciso V-A e parágrafo 5º, estabelece que aos juízes federais cabe processar e julgar casos que envolvam grave violação dos direitos humanos e, com a finalidade de garantir o cumprimento das obrigações ordenadas pelos Tratados Internacionais, poderá suscitar incidente de deslocamento de competência para a Justiça Federal, de forma a evitar que o Brasil receba punições internacionais por tal violação:

Art. 109. Aos juízes federais compete processar e julgar:

[...]

V-A as causas relativas a direitos humanos a que se refere o § 5º deste artigo;
[...]

§ 5º Nas hipóteses de grave violação de direitos humanos, o Procurador-Geral da República, com a finalidade de assegurar o cumprimento de obrigações decorrentes de tratados internacionais de direitos humanos dos quais o Brasil seja parte, poderá suscitar, perante o Superior Tribunal de Justiça, em qualquer fase do inquérito ou processo, incidente de deslocamento de competência para a Justiça Federal (Brasil, 1988, s/p.).

Ainda há a instrução normativa nº 9, de 10 de outubro de 1997 elaborada pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) que traz rígidos requisitos para as propostas de intervenção ou manipulação do genoma humano. A instrução normativa proíbe a manipulação genética em células germinativas e afirma que todas as propostas de manipulação genética em humanos serão analisadas pela CTNBio levando-se em consideração dois principais riscos, dentre eles o risco da transmissão das alterações produzidas, em uma modificação genética das células germinativas, às gerações futuras:

B. Somente serão consideradas propostas de intervenção ou manipulação genética em humanos aquelas que envolvam células somáticas. É proibida qualquer intervenção ou manipulação genética em células germinativas humanas, conforme art. 8º, da Lei 8.974, de 05.01.95 e Instrução Normativa nº 8/97, da CTNBIO.

C. Todas as propostas de intervenção ou manipulação genética de humanos serão examinadas pela CTNBio, sob o prisma de dois riscos maiores do ponto de vista de biossegurança, a saber: (1) risco de transmissão horizontal da seqüência nucleotídica transferida ou do vetor a outras pessoas com quem o paciente tenha contato, e (2) risco de modificação inadvertida de células germinativas, com transmissão vertical das alterações genéticas à progênie do paciente (Brasil, 1997, s/p.).

Nacionalmente, não há legislação específica que oriente o uso da técnica. Recorre-se, então, à Lei de Biossegurança (Lei 11.105/2005), que, em seu artigo 6º, inciso III, proíbe “a engenharia genética²⁹ em célula germinal humana, zigoto humano e embrião humano” (Brasil, 2005, s/p.). Tal lei, que foi criada inicialmente para regular o uso de sementes transgênicas na agricultura, prevê somente um artigo para abordar o tema e, até o momento, não sobreveio outra normatização. Além disso, os termos utilizados são vagos, o que constitui um problema significativo para algo por meio do qual se quer exercer a função de regular.

²⁹ Em seu art. 3º, a Lei de Biossegurança traz algumas definições norteadoras para o entendimento e compreensão do disposto na lei. Segundo o inciso IV: “engenharia genética: atividade de produção e manipulação de moléculas de ADN/ARN recombinante” (Brasil, 2005, s/p.).

Durante a Ação Direta de Inconstitucionalidade (ADI 3510, 2008), inclusive, o ministro Gilmar Mendes pontuou essa deficiência do sistema normativo brasileiro, destacando que ela viola o princípio da proporcionalidade, visto que o dever do Estado em proteger os direitos individuais – evitando os riscos e promovendo a proteção e prevenção – deixa de ser exercido: “a regulamentação de um tema tão sério, que envolve profundas e infindáveis discussões sobre aspectos éticos nas pesquisas científicas, seja realizada por um, e apenas um artigo” (Brasil, 2008, p. 11).

Ante a lacuna jurídica, para fins de orientação da condução, costuma-se recorrer a resoluções. Não raro – embora não exclusivamente, como será visto a seguir – as resoluções do Conselho Federal de Medicina (CFM) são evocadas, o que gera uma questão relevante: tal conselho profissional, do ponto de vista jurídico, possui a competência para regular a conduta de indivíduos não-médicos? Se a resposta for negativa, e considerando que técnicas podem ser utilizadas por indivíduos não-médicos (como destacado pelo caso da comercialização dos kits CRISPR, nos EUA), inferimos que tal conselho não deve exercer função tão importante.

A Resolução CFM n° 2.320, de 20 de setembro de 2022 estabelece o tempo máximo de catorze dias para o desenvolvimento de embriões *in vitro* e permite “que embriões submetidos a diagnóstico de alterações genéticas causadoras de doenças” possam ser doados para pesquisas (Conselho Federal de Medicina, 2022, p. 6).

Além da resolução do CFM, recorre-se a resoluções que, em regra, contêm diretrizes que se referem diretamente ou podem ser aplicadas a pesquisas com embriões humanos. Nesse sentido, então, em suma, utilizam-se a Resolução CNS n° 466, de 12 de dezembro de 2012, relativa a pesquisas envolvendo seres humanos, e a Resolução Normativa CTNBio n° 16, de 15 de janeiro de 2018, que estabelece os requisitos técnicos para a apresentação de consulta à CTNBio sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMP).

A Resolução CNS n° 466, de 12 de dezembro de 2012 não faz referência direta à pesquisa com embriões humanos, mas destaca que pesquisas envolvendo “alterações da estrutura genética de células humanas para utilização *in vivo* e manipulação de gametas, pré-embriões, embriões e feto” deverão ser avaliadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (Conselho Nacional de Saúde, 2012, p. 9).

A Resolução Normativa CTNBio n° 16, de 15 de janeiro de 2018 classifica as técnicas de edição genética, incluindo a CRISPR-Cas9, como Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMP). Ao definir as TIMPs como “um conjunto de novas metodologias e abordagens que diferem da estratégia de engenharia genética por transgenia, por resultar na

ausência de ADN/ARN recombinante no produto final”, a resolução exclui as técnicas de edição genética do grupo dos Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) (Brasil, 2018, s/p.). Tal normativa tomou como base a Lei 11.105, de 2005, que define as moléculas de DNA/RNA recombinante, engenharia genética e OGM, respectivamente, nos incisos III, IV e V de seu artigo 3º.

Ainda há a Resolução CFM nº 2.217, de 27 de setembro de 2018, que aprova o Código de Ética Médica. Segundo o artigo 15º, é vedado aos médicos criar seres humanos geneticamente modificados:

Art. 15. Descumprir legislação específica nos casos de transplantes de órgãos ou de tecidos, esterilização, fecundação artificial, abortamento, manipulação ou terapia genética.

§ 2º O médico não deve realizar a procriação medicamente assistida com nenhum dos seguintes objetivos:

I - criar seres humanos geneticamente modificados;

II - criar embriões para investigação;

III - criar embriões com finalidades de escolha de sexo, eugenia ou para originar híbridos ou quimeras. (Código de Ética Médica, 2019, p. 22-23).

A partir da interpretação desse artigo, conclui-se, então, que é vedada, aos médicos (restrição que cabe destacar), realizar engenharia genética da linhagem germinativa humana com fins reprodutivos. E, segundo Bittencourt e colaboradores (2022, p. 13), o Código de Ética Médica “proíbe qualquer experiência em seres humanos com finalidade política, racial ou eugênica, devendo o consentimento ser registrado por escrito”.

Não obstante, conforme Nohama (2018), documentos que têm caráter recomendativo, cuja adesão é voluntária, não são suficientemente adequados para fins de regulação dos usos de tecnologias e, por vezes, suas diretrizes podem, até mesmo, chocar-se com o que está determinado na legislação, podendo estar além ou aquém dela. Além disso, como pontuamos, normas aplicáveis à regulação da atuação de uma categoria profissional não são suficientes, por mais que, via de regra, certas técnicas sejam utilizadas por esses profissionais.

Esse cenário é o que podemos chamar de semi-regulação. Quer dizer, há normas, mas elas não constituem um sistema normativo-regulatório apropriado aos potenciais atuais e futuros de técnicas de edição genética em franco desenvolvimento, tampouco ao processo de ampliação das suas possíveis aplicações.

Isso nos move à próxima seção. Nela, abordamos o que, no caso brasileiro, pode ser considerado um avanço recente em direção à regulação das técnicas engenharia genética: as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDCs) da ANVISA. A partir da apresentação descritiva delas, destacando em que sentido avançam, mas também seus limites, apontaremos o que, em termos de *hard law*, parece-nos dever ser produzido para aperfeiçoar a regulação/governança em nível nacional.

Mais recentemente, a Diretoria Colegiada (Dicol) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) conta com três Resoluções da Diretoria Colegiada (RDCs) que buscam orientar o uso e o registro dos Produtos de Terapia Avançada (PTAs) no Brasil, sendo elas: a) RDC 508/2021, que dispõe sobre a adoção de boas práticas em células humanas para uso terapêutico e pesquisa clínica; b) RDC 506/2021, que estabelece regras para a realização de ensaios clínicos com produtos de terapia avançada investigacional no Brasil; c) RDC 505/2021, que dispõe sobre o registro de produtos de terapia avançada.

Representando um marco regulatório para o país (Anvisa, 2020a), as RDCs citadas trazem importantes definições norteadoras para a análise normativa das resoluções. E, segundo o portal da ANVISA, Produtos de Terapia Avançada são:

Produtos biológicos, utilizados com fins terapêuticos, obtidos a partir de células e tecidos humanos que foram submetidos a um processo de fabricação; ou produtos que consistem em ácidos nucleicos recombinantes e que tem como objetivo regular, reparar, substituir, adicionar ou deletar uma sequência genética ou modificar a expressão de um gene (Anvisa, 2020a, s/p.).

As normativas da ANVISA também trazem importantes definições norteadoras para a análise normativa das resoluções. Em seu art. 4º, inc. XVIII, a RDC 505/2021 traz a seguinte definição para Produtos de Terapia Avançada: “categorial especial de medicamentos novos que compreende o produto de terapia celular avançada, o produto de engenharia tecidual e o produto de terapia gênica;” (Brasil, 2021a). A RDC 506/2021, em seu art. 4º, inc. XXXVII, também define Produtos de Terapia Avançadas: “são os produtos de terapia celular avançada, os produtos de engenharia tecidual e os produtos de terapia gênica;” (Brasil, 2021b).

Ambas as RDCs nº 505/2021 e nº 508/2021 classificam os PTAs em três grupos, a saber: i) Produtos de Terapia Celular Avançada; ii) Produtos de Engenharia Tecidual; iii) Produto de Terapia Gênica. A fim de analisar, normativamente, a (regulamentação/fiscalização/prática/uso) da CRISPR-Cas9 no Brasil, restringirei a análise aos Produtos de Terapia Gênica, uma vez que, as técnicas de manipulação genética se enquadram nesse grupo, segundo sua definição pelas RDCs 506/2021 e 508/2021:

Produto de Terapia Gênica: produto biológico cujo componente ativo contenha ou consista em ácido nucleico recombinante, com o objetivo de modificar (regular, reparar, substituir, adicionar ou deletar uma sequência genética) ou modificar a expressão de um gene, com vistas a resultado terapêutico, preventivo ou de diagnóstico; (Brasil, 2021b, s/p.; Brasil, 2021c, s/p.).

Como já explicitado na seção sobre Terapia Gênica, esta consiste em uma técnica de engenharia genética que promove a modificação do material genético a fim de corrigir genes mutados com fins terapêuticos (Gonçalves; Paiva, 2017). E dentre as vias disponíveis para a realização da terapia genética está a CRISPR-Cas9. Dessa forma, mesmo que não haja menção direta a ela nas normativas da ANVISA, a análise pode ser feita, como já mencionado acima, pelos produtos de terapia gênica.

A RDC nº 508/2021 afirma, em seu art. 5º inc. III, que a resolução não abrange os procedimentos “relacionados às células e aos tecidos germinativos, para fins de reprodução humana assistida” e, no parágrafo único do art. 2º que “células ou produtos de terapias avançadas que não atendam ao disposto nesta Resolução são desqualificados para Uso Terapêutico e em pesquisa clínica.” (Brasil, 2021c). Portanto, a normativa da ANVISA vai ao encontro da proibição da manipulação genética da linhagem germinativa com fins reprodutivos.

Segundo a resolução, as células não abrangidas no grupo dos PTAs deverão passar pelo Sistema CEP/CONEP antes de seguir para a pesquisa clínica e os PTAs devem obter a aprovação do Sistema CEP/CONEP e da ANVISA antes de ser disponibilizados para a pesquisa clínica:

Art. 9º As células humanas que não se enquadram na definição de Produtos de Terapias Avançadas constante desta Resolução somente poderão ser disponibilizadas para pesquisa clínica após a aprovação do respectivo projeto de pesquisa clínica pelo Sistema CEP/CONEP.

Art. 10. Os Produtos de Terapias Avançadas somente poderão ser disponibilizados para pesquisa clínica após a aprovação do projeto de pesquisa clínica pelo Sistema CEP/CONEP e pela Anvisa; e somente poderão ser disponibilizados para terapia mediante a regularização do produto junto à Anvisa. (Brasil, 2021c, s/p.).

A RDC nº 505/2021, que dispõe sobre o registro dos PTAs, classifica os produtos de terapia gênica no grupo dos PTAs passíveis de registro (Brasil, 2021a):

Art. 2º Esta Resolução se aplica aos produtos de terapias avançadas a serem submetidos a análise para fins de concessão de registro pela Anvisa.

Parágrafo único. Para efeitos desta Resolução, os produtos de terapias avançadas passíveis de registro são:

- I- os produtos de terapias celulares avançadas;
- II- os produtos de terapias gênicas; e
- III- os produtos de engenharia tecidual (Brasil, 2021a, s/p.).

Assim como a RDC nº 508/2021, a RDC nº 505/2021 não abrange os procedimentos relacionados às células da linhagem germinativa com fins de reprodução humana:

Art. 3º Esta Resolução não se aplica:

- IV- aos procedimentos relacionados às células e aos tecidos germinativos para fins de reprodução humana assistida, conforme disposto na Resolução de Diretoria Colegiada - RDC no23, de 27 de maio de 2011, ou suas atualizações; (Brasil, 2021a, s/p.).

E no primeiro parágrafo do art. 10º afirma que “§1º Todos os ensaios clínicos conduzidos no Brasil, com produto de terapia avançada, necessitam de autorização prévia da Anvisa, conforme disposto na Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 506, de 27 de maio de 2021, ou suas atualizações.” (Brasil, 2021^a, s/p.).

A RDC nº 506/2021, que dispõe sobre as regras para a realização de ensaios clínicos com produto de terapia avançada investigacional no Brasil, aponta que:

Art. 26. Nenhum ensaio clínico pode ser iniciado no Brasil sem o parecer substanciado, emitido pelo sistema CEP/CONEP ou, quando se tratar de ensaio clínico que envolva OGM, sem o parecer técnico de avaliação de risco em biossegurança, emitido pela CTNBio, conforme disposto pela Lei no11.105, de 24 de março de 2005, ou suas atualizações. (Brasil, 2021b, s/p.).

As três RDCs ainda apresentam o mesmo conteúdo referente ao descumprimento do disposto nas resoluções, estabelecendo que todo descumprimento constitui infração sanitária sem gerar, entretanto, responsabilidades civil, administrativa e legal, como visto a seguir:

Art. 66. O descumprimento do disposto nesta Resolução constitui infração sanitária, nos termos da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das responsabilidades civil, administrativa e penal cabíveis (Brasil, 2021b, s/p.).

Art. 66. O descumprimento do disposto nesta Resolução constitui infração sanitária, nos termos da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das responsabilidades civil, administrativa e penal cabíveis (Brasil, 2021a, s/p.).

Art. 191. O descumprimento das disposições contidas nesta Resolução constitui infração sanitária, nos termos da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das responsabilidades civil, administrativa e penal cabíveis (Brasil, 2021c, s/p.).

Por fim, ainda é importante destacar a participação da sociedade na elaboração de *soft law*. No âmbito das RDCs, a ANVISA conta com mecanismos de incentivo à participação

popular na regulação por meio de consultas públicas, audiências públicas etc. Dentre os mecanismos disponíveis, destaco a consulta pública (CP), um formulário eletrônico aberto à população para receber “críticas, sugestões e contribuições sobre minuta de ato normativo” (Anvisa, 2020b, s/p.).

Nesse cenário, podem surgir conflitos de interesse por parte de pacientes/familiares que desejam a rápida aprovação de produtos/terapias que possam ajudá-los em seus tratamentos médicos. As aprovações feitas pelas RDCs devem ser baseadas na segurança, conhecimento técnico e minimização dos riscos. Nesse sentido, se por um lado a participação da sociedade nos debates normativos é essencial, por outro, como conduzir a discussão de temas tão sérios de forma a conciliar tais conflitos e grupos de pressão? Esse é mais um questionamento para pesquisas futuras.

É evidente, por conseguinte, que a regulamentação dos PTAs e, mais especificamente da CRISPR-Cas9, representa um desafio, seja pela complexidade das técnicas, seja pelo rápido avanço nas pesquisas que superam, muitas vezes, a compreensão e discussão normativa sobre eles. O Brasil, que até 2018 apresentava uma deficiência em seu sistema normativo pela carência de regulamentação sobre o uso da técnica CRISPR-Cas9, hoje está minimamente amparado pelas Resoluções da Diretoria Colegiada da ANVISA. Ainda, entretanto, fica clara a necessidade de uma regulamentação internacional, a fim de normatizar o uso da técnica CRISPR-Cas9 na edição gênica, especialmente na edição da linhagem germinativa humana, um campo repleto de incertezas e riscos desconhecidos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A discussão realizada na presente dissertação buscou mapear, de forma cronológica, os documentos recomendativos internacionais sobre o uso da CRISPR-Cas9 na edição genética humana. A leitura, com posterior análise, de tais documentos permitiu chegarmos à conclusão de que esses não apresentam *força de lei*, no âmbito de *hard law*. Em outras palavras, as normas criadas por eles não geram sanções jurídicas, o que os coloca no patamar de *soft law*.

As chamadas ‘normas *soft*’, como pudemos constatar no levantamento cronológico apresentado, não impõem obrigações legais aos Estados – a não ser aquelas vinculantes a normas *jus cogens* – ficando a regulação a cargo de suas normas internas. No entanto, não podemos excluir a relevância da *soft law* como modelo orientador para que os Estados possam elaborar suas próprias normas jurídicas além, é claro, de sua importância imperativa quando submetida às normas peremptórias do direito internacional.

Sua plasticidade característica, inclusive, é, por um lado, favorável ao cenário das tecnologias disruptivas. Por serem maleáveis, elas são capazes de acompanhar as rápidas mudanças tecnológicas pelas quais a CRISPR passa continuamente. Dessa forma, torna-se mais rápido/fácil alterar, corrigir ou retificar as normas, já existentes, a partir da atualização dos documentos de caráter *soft*. Não obstante, não sabemos até que ponto a regulamentação por *soft law* é capaz de preencher, ou dar conta, das lacunas presentes na regulamentação da CRISPR-Cas9.

A *hard law*, por sua vez, apresentando *força de lei*, a partir da criação de normas coercitivas juridicamente, poderia oferecer segurança normativa ao uso da técnica na edição genética humana, especialmente na edição germinativa/hereditária. Como foi apresentado no presente trabalho, existe uma espécie de moratória criada para proibir o uso da edição genética na linhagem germinativa humana com fins reprodutivos, no entanto, essa proibição se baseia apenas em um acordo da comunidade científica internacional, prescrito e salientado pelos documentos de *soft law* apresentados. O polêmico caso do nascimento dos primeiros bebês geneticamente modificados, ocorrido na China (2018), aumentou as preocupações e intensificou os debates normativos para reiterar a proibição da EGH. Ele serviu (e ainda continua servindo) como justificativa para que novas pesquisas sejam realizadas e poderia, teoricamente, servir como argumento para incitar a criação de uma *hard law* que atuasse em nível internacional.

Não obstante, aqui, vale ressaltar um ponto importante. Compreendemos que a existência de *hard law* não impede, imperiosamente, que normas rígidas sejam infringidas, ou

seja, a existência de leis não garante que transgressões não sejam feitas; mas, ela atua controlando tais normas, a partir de punições. Dito isso, entendemos que esse único caso de transgressão descrito pode não ser o suficiente para que uma *hard law*, em nível global, seja prescrita. Entretanto, nos parece que sua criação poderia complementar os documentos *soft* levantados, na medida em que a *soft law* é caracterizada por sua incerteza jurídica (Mazzuoli, 2011).

Embora o panorama legislativo internacional, no que tange a análise individual das regulamentações domésticas de cada Estado, não tenha sido mapeado (trabalho esse para uma pesquisa futura), não foi encontrado, como já posto, nenhum documento com *força de lei* que regulamente a técnica em nível internacional/global. Reiteramos, então, que a presença de uma *hard law* poderia complementar as ‘normas *soft*’ já descritas, não no sentido de impedir que todo ou qualquer caso de violação aconteça (situação essa que foge do controle de qualquer legislação), mas de refinar as regulamentações já existentes, a fim de conferir a maior segurança possível ao processo de edição gênica humana. Além disso, uma *hard law* internacional poderia, talvez, diminuir o chamado ‘turismo genético’, uma vez que legislações coercitivas internas podem não ser suficientes na regulamentação da técnica, frente a regulamentações permissivas de outros Estados.

Com a intenção de avaliar, mais especificamente, a correlação *soft/hard law* e aproveitando-se dos aspectos jurídicos e culturais que nos são conhecidos para analisar o cenário nacional sobre o assunto, levantamos os documentos regulatórios brasileiros referentes à edição genética humana. A análise mostrou a ausência de uma legislação específica que regulamente a técnica, recorrendo-se, então, como vimos, à Lei de Biossegurança (Lei nº 11.105/2005) criada, inicialmente, para regular o uso de sementes transgênicas na agricultura. Em toda lei, há apenas um único artigo que contempla o assunto e, mesmo assim, sem menção direta à edição genética. Concluímos que tal lei, apesar que proibir o uso de engenharia genética em célula germinativa, zigoto e embrião humano, não consegue contemplar os amplos aspectos decorrentes da edição genética humana.

Sendo assim, e igualmente ao que fizemos com relação ao cenário internacional, buscamos regulamentações complementares que pudessem preencher as lacunas existentes no ordenamento jurídico nacional. O levantamento feito nos permitiu encontrar normativas da ANVISA que oferecem, desde 2018, um aprimorado norteamento regulatório.

As RDCs (RDC Nº 508/2021; RDC Nº 506/2021; RDC Nº 505/2021) não fazem menção direta à edição genética, mas orientam o uso e registro dos produtos de terapia avançada que, por sua vez, englobam os produtos de terapia gênica. Elas ainda vão ao

encontro do artigo 6º da Lei de Biossegurança, ao desqualificar o uso de tecidos germinativos com fins terapêuticos e em pesquisa clínica. Dessa forma, e em concordância com o consenso internacional, a edição genética germinativa hereditária humana está proibida no Brasil. Mas, apontamos a necessidade da formulação de documentos que melhor orientem o uso da técnica, principalmente frente aos refinamentos que a CRISPR-Cas9 tem passado.

Retomando a discussão sobre *hard* e *soft law*, e utilizando como base suas faculdades de gerar (ou não) sanções jurídicas, caracterizamos as RDCs da ANVISA como pertencentes a um viés *soft*. Isso porque, em ambas as três RDCs, consta um artigo referente ao descumprimento do disposto nas resoluções. Segundo os artigos, possíveis violações constituem infração sanitária, mas não geram prejuízos de responsabilidades civil, administrativa e penal. Não obstante, a violação do disposto no artigo 6º da Lei de Biossegurança implica em prejuízo penal, acarretando a uma pena de detenção de um ano a três anos, além de multa.

A ideia de uma regulamentação com *força de lei* em nível internacional é considerada como uma utopia por uns (Marfany, 2019) e como uma real possibilidade por outros (Baylis *et al.*, 2020). Embora a *hard law* se configure de uma rigidez jurídica, ela garante que punições sejam impostas frente às possíveis transgressões legais. E, apesar da ausência de normas rígidas, a *soft law* tem potencial para criar sanções morais aos Estados que as viole (Mazzuoli, 2018), além da possibilidade de valor imperativo, quando vinculada a normas *jus cogens*. Portanto, consideramos que tanto *soft* quanto *hard law* têm suas devidas importâncias como institutos do Direito Internacional.

Sendo assim, concluímos que o panorama legislativo dos Estados internacionais deve ser mapeado em pesquisas posteriores, a fim de: i) avaliar em que ponto as atuais regulações internacionais de caráter *soft* dão conta de regulamentar a CRISPR-Cas9 e promover a devida segurança de seu uso; ii) avaliar em que medida a *hard law* é a melhor opção para a regulação da técnica, levando-se em consideração os benefícios e restrições tanto da *soft law* quanto da *hard law* e; iii) buscar melhor compreender o papel da *jus cogens* na regulação da edição gênica, por meio da CRISPR-Cas9, no âmbito do Direito Internacional.

Por fim, diante de uma tecnologia potencialmente transformadora – inclusive no sentido moral e econômico – e diante de sua rápida adesão como técnica experimental (Nuffield Council on Bioethics, 2016) ressalta-se a necessidade do fomento de julgamentos normativos. É sabido que as descobertas científicas ultrapassam a compreensão ética e o controle regulamentar (Boiani *et al.*, 2022) na medida em que o entendimento científico e as normas sociais e morais caminham em um ritmo de desenvolvimento assíncrono. Não

obstante, as ciências sociais progredindo ou não no mesmo ritmo que os avanços biotecnológicos, devemos gerar esforços para o fomento do debate normativo em torno dessa tecnologia que se prova como o novo divisor de águas da engenharia genética. Precisamos de mais prudência e debates éticos e científicos que busquem identificar e atualizar as reais aplicações da técnica, os riscos conhecidos e desconhecidos e potenciais benefícios, assim como os possíveis impactos sociais que a manipulação do genoma humano possa causar. Indo mais além, e usando as palavras de Baltimore e colaboradores (2015, p. 37), “[...] seria sábio começar uma discussão que unisse a comunidade científica, indústrias relevantes, centros médicos, órgãos reguladores e o público para explorar os usos responsáveis desta tecnologia”.

A descoberta científica e a inovação tecnológica são importantes, mas estas devem ter como foco a agência humana. O estabelecimento de limites legais e princípios reguladores, as direções de pesquisa e o financiamento e investimento promovidos determinarão, em certa medida, quais tecnologias em potencial surgirão (Nuffield Council on Bioethics, 2016).

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Consulta Pública (CP). 2020b. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/consultas-publicas#/>. Acesso em: 12 nov. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Terapias Avançadas. 2020a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- ALBERTS, Bruce *et al.* **Biologia molecular da célula**. 6ª edição. Artmed Editora, 2017.
- ALCANTARA, Raphael Ladislau *et al.* A tecnologia de CRISPR-Cas9 na terapia gênica do câncer de pulmão. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 5, n. 13, 2019.
- ALMEIDA, Amanda SR; SOUZA, Cleide B. Sistema CRISPR-Cas9: uma alternativa terapêutica para neoplasia pulmonar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 57, p. 1-9, 2021.
- ALMEIDA, Mara; RANISCH, Robert. Beyond safety: mapping the ethical debate on heritable genome editing interventions. **Humanities and Social Sciences Communications**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2022.
- ANDERSON, William French. Human gene therapy: scientific and ethical considerations. **The Journal of medicine and philosophy**, v. 10, n. 3, p. 275-292, 1985.
- ANDERSON, William French; BLAESE, R. Michael; CULVER, Kenneth. The ADA Human Therapy Clinical Protocol: Points to consider response with clinical protocol. **Human gene therapy**, v. 1, n. 3, p. 331-362, 1990.
- ANZALONE, Andrew V. *et al.* Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. **Nature**, v. 576, n. 7785, p. 149-157, 2019.
- ANZALONE, Andrew V.; KOBLAN, Luke W.; LIU, David R. Genome editing with CRISPR–Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. **Nature biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 824-844, 2020.
- APPLEBY, John B.; BREDENOORD, Annelien L. Should the 14-day rule for embryo research become the 28-day rule?. **EMBO molecular medicine**, v. 10, n. 9, p. e9437, 2018.
- ARAI, Roberto Jun *et al.* Personalizing precision oncology clinical trials in Latin America: an expert panel on challenges and opportunities. **The Oncologist**, v. 24, n. 8, p. e709-e719, 2019.
- ASTRAUSKAS, Jefferson Pereira *et al.* As Leis da Herança por Gregor Johann Mendel, uma revolução genética. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. Ano VII–Número, 2009.
- AVERY, Oswald; MACLEOD, Colin; MCCARTY, Maclyn. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types: induction of

transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 79, n° 2, p. 137-158, 1944.

BALTIMORE, David *et al.* A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. **Science**, v. 348, n 6230, p. 36-38, 2015.

BARBOSA, Adriano Selhorst. Jus Cogens: gênese, normatização e conceito. **Revista Eletrônica de Direito Internacional**, v. 14, 2014.

BARBOZA, Caroline Mota Souza *et al.* A técnica de CRISPR-Cas9 na terapia gênica: uma revisão da literatura. **Revista Transformar**, v. 14, n. 1, p. 562-698, 2020.

BARBOZA, Heloisa Helena. Princípios da Bioética e do Biodireito. **Bioética**, Brasília, v. 8, n. 2, p. 209-216, 2000.

BARRANGOU, Rodolphe; DOUDNA, Jennifer Anne. Applications of CRISPR technologies in research and beyond. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 9, p. 933-941, 2016.

BARRANGOU, Rodolphe; MARRAFFINI, Luciano A. CRISPR-Cas systems: prokaryotes upgrade to adaptive immunity. **Molecular cell**, v. 54, n. 2, p. 234-244, 2014.

BARTH, Wilmar Luiz. Engenharia genética e bioética. **Revista da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 35, n. 149, p. 361-391, 2005.

BAYLIS, Françoise *et al.* Human germline and heritable genome editing: the global policy landscape. **The CRISPR Journal**, v. 3, n. 5, p. 365-377, 2020.

BECKER, Sebastian; BOCH, Jens. TALE and TALEN genome editing technologies. **Gene and Genome Editing**, v. 2, p. 100007, 2021.

BERG, Paul; BALTIMORE, David; BRENNER, Sydney; ROBLIN, Richard O.; SINGER, Maxine F. Summary statement of the Asilomar conference on recombinant DNA molecules. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, n. 6, p. 1981-1984, 1975.

BERGEL, Salvador Darío. O impacto ético das novas tecnologias de edição genética. **Revista Bioética**, v. 25, p. 454-461, 2017.

BITTENCOURT, Matheus de Jesus *et al.* A necessidade de regulamentação do direito na técnica CRISPR-CAS9. Trabalho de Conclusão de Curso. 2022.

BOIANI, Michele *et al.* A reproductive science perspective: deliberations on the stem cell guidelines update. **Molecular human reproduction**, v. 28, n. 4, p. gaac008, 2022.

BOLLEN, Yannik *et al.* How to create state-of-the-art genetic model systems: strategies for optimal CRISPR-mediated genome editing. **Nucleic acids research**, v. 46, n. 13, p. 6435-6454, 2018.

BOWDEN, Anne Ramsay *et al.* Parallel CRISPR-Cas9 screens clarify impacts of p53 on screen performance. **Elife**, v. 9, p. e55325, 2020.

BRASIL. [**Constituição (1988)**]. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal, 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm. Acesso em: 25 out. 2021.

BRASIL. Decreto nº 4.388, de 25 de setembro de 2002. Promulga o Estatuto de Roma do Tribunal Penal Internacional. Brasília, DF, 2002. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4388.htm. Acesso em: 25 set. 2023.

BRASIL. Decreto nº 7.030, de 14 de dezembro de 2009. Promulga a Convenção de Viena sobre o Direito dos Tratados, concluída em 23 de maio de 1969, com reserva aos Artigos 25 e 66. Brasília, DF, 2009. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d7030.htm. Acesso em: 25 set. 2023.

BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do parágrafo 1º do art. 225 da Constituição Federal e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 mar. 2005. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br>. Acesso em: 14 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). **Instrução Normativa CTNBio nº 09, de 10 de outubro de 1997**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de out. 1997, Seção I, p. 23.487-23.488. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/instrucoes-normativas/-/asset_publisher/3dOuwS2h7LU6/content/instrucao-normativa-ctnbio-n%C2%BA-09-de-10-10-97;jsessionid=C54BF294080D48B3A06B020459D13DAD.columba. Acesso em: 05 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). **Resolução Normativa CTNBio 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. 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: 19 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 505, de 27 de maio de 2021**. Dispõe sobre o registro de produto de terapia avançada e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mai. 2021a. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6278627/RDC_505_2021_.pdf/43ac298e-1ade-44f0-9f98-22f0b2477255. Acesso em: 02 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 506, de 27 de maio de 2021**. Dispõe sobre as regras para a realização de ensaios clínicos com produto de terapia avançada investigacional no Brasil, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mai. 2021b. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6278627/RDC_506_2021_.pdf/e932e631-4054-4014-9ac9-9813474e44a4. Acesso em: 02 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 508, de 27 de maio de 2021**. Dispõe sobre as Boas Práticas em Células Humanas para Uso Terapêutico e pesquisa clínica, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mai. 2021c. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2020/rdc0508_27_05_2021.pdf. Acesso em: 02 fev. 2021.

BRASIL. Supremo Tribunal Federal. ADI 3510. **Rel. Min. Carlos Ayres Britto**. v. 30, 2008. Disponível em: <https://redir.stf.jus.br/paginadorpub/paginador.jsp?docTP=AC&docID=611723>. Acesso em: 15 jun. 2021.

BRITTO, Ayres. Soft Law e Hard Law como caminho para afirmação do direito à proteção de dados. 15 de março de 2020. Disponível em: <https://ayresbritto.adv.br/soft-law-e-hard-law-como-caminho-para-afirmacao-do-direito-a-protecao-de-dados/>. Acesso em: 14 mar. 2023.

BRUFATTO, João José Turri. POSITIVIDADE DAS NORMAS DE JUS COGENS NO DIREITO INTERNACIONAL. **Revista de Direito Internacional e Globalização Econômica**, v. 5, n. 05, p. 18-38, 2019.

BUXÓ I REY, María Jesús. Genoma, riesgo y cultura. In: CASADO, María; GONZÁLEZ-DUARTE, Roser (Ed.). **Los retos de la genética en el siglo XXI: genética y bioética**. Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona, 1999.

CAMPBELL, Leah; CLARKE, Paul Knox. Making operational decisions in humanitarian response: a literature review. **London: ALNAP/ODI**, 2018.

CESARINO, Letícia da Nóbrega. Nas fronteiras do "humano": os debates britânico e brasileiro sobre a pesquisa com embriões. **Mana**, v. 13, p. 347-380, 2007.

CHARGAFF, Erwin. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. **Experientia**, v. 6, p. 201–209, 1950.

CHARPENTIER, Emmanuelle. CRISPR-Cas9: how research on a bacterial RNA-guided mechanism opened new perspectives in biotechnology and biomedicine. **EMBO molecular medicine**, v. 7, n. 4, p. 363-365, 2015.

CLEMENTE, Graziella Trindade. Modulação gênica em embriões humanos. **Actualidad jurídica iberoamericana**, n. 9, p. 202-223, 2018.

CLEMENTE, Graziella Trindade; ROSENVALD, Nelson. Edição gênica e os limites da responsabilidade civil. In: MARTINS, Guilherme Magalhães; ROSENVALD, Nelson. **Responsabilidade civil e novas tecnologias**. Indaiatuba, SP: Editora Foco, 2020.

CÓDIGO DE ÉTICA MÉDICA. **Resolução CFM nº 2.217, de 27 de setembro 2018**. Brasília: 2019. CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). Disponível em: <https://portal.cfm.org.br/images/PDF/cem2019.pdf>. Acesso em: 25 out. 2022.

COHEN, Stanley *et al.* Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 11, p. 3240-3244, 1973.

COLLINS, Francis S. Statement on NIH funding of research using gene-editing technologies in human embryos. **NIH** [Internet]. 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: 31 jul. 2021.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA – CFM. **Resolução CFM n° 2.320, de 20 de setembro de 2022**. Adota as normas éticas para utilização das técnicas de reprodução assistida – sempre em defesa do aperfeiçoamento das práticas e da observância aos princípios éticos e bioéticos que ajudam a trazer maior segurança e eficácia a tratamentos e procedimentos médicos – tornando-se o dispositivo deontológico a ser seguido pelos médicos brasileiros e revogando a Resolução CFM n° 2.294, publicada no Diário Oficial da União de 15 de junho de 2021, Seção I, p. 60. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2022/2320>. Acesso em: 25 out. 2022.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE – CNS. **Resolução CNS n° 466, de 12 de dezembro de 2012**. Estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2021.

CORDEIRO, Maria Cristina Rocha. Engenharia Genética: conceitos básicos, ferramentas e aplicação. DF: **Embrapa Cerrados**, documento 86, 2003. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/568132/1/doc86.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2023.

COX, David Benjamin Turitz; PLATT, Randall Jeffrey; ZHANG, Feng. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. **Nature medicine**, v. 21, n. 2, p. 121-131, 2015.

CRICK, Francis. Central dogma of molecular biology. **Nature**, v. 227, n. 5258, p. 561-563, 1970.

CUNHA, Guilherme Lopes *et al.* SOFT LAW NAS COALIZÕES INTERNACIONAIS: implicações para a política externa e para a participação parlamentar. **Revista de Estudos e Pesquisas Avançadas do Terceiro Setor**, p. 27-50, 2021.

CYRANOSKI, David. Russian biologist plans more CRISPR-edited babies. **Nature**, v. 570, n. 7760, p. 145-147, 2019.

CYRANOSKI, David; LEDFORD, Heidi. Genome-edited baby claim provokes international outcry. **Nature**, v. 563, n. 7731, p. 607-609, 2018.

DAVIES, Benjamin. The technical risks of human gene editing. **Human Reproduction**, v. 34, n. 11, p. 2104-2111, 2019.

DEWITT, Mark A. *et al.* Selection-free genome editing of the sickle mutation in human adult hematopoietic stem/progenitor cells. **Science translational medicine**, v. 8, n. 360, p. 360ra134-360ra134, 2016.

DOENCH, John G. *et al.* Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 2, p. 184-191, 2016.

DOUDNA, Jennifer A.; CHARPENTIER, Emmanuelle. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, issue 6213, 2014.

FETT-CONTE, Agnes C.; SALLES, Andréa BCF. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, p. 85-89, 2002.

FINN, Jonathan D. *et al.* A single administration of CRISPR/Cas9 lipid nanoparticles achieves robust and persistent in vivo genome editing. **Cell Reports**, v. 22, n. 9, p. 2227-2235, 2018.

FOGARTY, Norah M.E. *et al.* Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. **Nature**, v. 550, n.7674, p. 67-73, 2017.

FOREMAN, Amy L. *et al.* Human embryo models: the importance of national policy and governance review. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 82, p. 102103, 2023.

FRANGOUL, Haydar *et al.* CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 3, p. 252-260, 2021.

FU, Yanfang *et al.* High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. **Nature biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 822-826, 2013.

FURTADO, Rafael Nogueira. Controvérsias sobre edição genética humana: da crise do humanismo aos impasses da modificação do DNA. Tese (Doutorado em Psicologia Social) – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP). São Paulo. 2017.

FURTADO, Rafael Nogueira. Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano. **Revista Bioética**, v. 27, n. 2, p. 223-233, 2019.

GARCIA, Emerson. Jus Cogens e proteção internacional dos direitos humanos. **Revista do Ministério Público do Rio de Janeiro nº**, v. 64, p. 95, 2017.

GAUDELLI, Nicole M. *et al.* Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. **Nature**, v. 551, n. 7681, p. 464-471, 2017.

GERMAN, David M. *et al.* Therapeutic genome editing in cardiovascular diseases. **JACC: Basic to Translational Science**, v. 4, n. 1, p. 122-131, 2019.

GIDDENS, Anthony. **Mundo em descontrolo: o que a globalização está fazendo de nós. 6ª edição.** Rio de Janeiro: Record, 2007.

GILLMORE, Julian D. *et al.* CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 6, p. 493-502, 2021.

GÓES-FAVONI, Silvana Pedrosa de. Biotecnologia moderna parte 2: da genética à genômica revisão de literatura. **Revista Unimar Ciências**, v. 26, n. 1-2, p. 64-80, 2017.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 3, p. 369-375, 2017.

GREGÓRIO, Fernando da Silva. Consequência sistêmicas da soft law para a evolução do direito internacional e o reforço da regulação global. **Revista de Direito Constitucional e Internacional**, v. 95, p. 299-320, 2016.

HAAPANIEMI, Emma *et al.* CRISPR–Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. **Nature medicine**, v. 24, n. 7, p. 927-930, 2018.

HAMMOND, Andrew *et al.* A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 78-83, 2016.

HEIDARI, Raheleh; SHAW, David Martin; ELGER, Bernice Simone. CRISPR and the Rebirth of Synthetic Biology. **Science and Engineering Ethics**, v. 23, n. 2, p. 351-363, 2015.

HENIG, Robin Marantz. **O monge no jardim: o gênio esquecido e redescoberto de Gregor Mendel, o pai da genética**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Rocco, 2001.

HSU, Patrick D. *et al.* DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. **Nature biotechnology**, v. 31, n. 9, p. 827-832, 2013.

HUAXIA. China Focus: three jailed in China's “gene-edited babies” trial. 2019. Disponível em: http://www.xinhuanet.com/english/2019-12/30/c_138667350.htm. Acesso em: 17 mai. 2023.

HUPFFER, Haide Maria; BERWIG, Juliane Altmann. A tecnologia CRISPR-Cas9: da sua compreensão aos desafios éticos, jurídicos e de governança. **Pensar Revista de Ciências Jurídicas**, v. 25, n. 3, p.1-16, 2020.

IHRY, Robert J. *et al.* p53 inhibits CRISPR–Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. **Nature medicine**, v. 24, n. 7, p. 939-946, 2018.

ISHINO, Yoshizumi *et al.* Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. **Journal of bacteriology**, v. 169, n. 12, p. 5429-5433, 1987.

INTERNATIONAL BIOETHICS COMMITTEE. **Report of the IBC on updating its reflection on the human genome and human rights**. Paris: Unesco; 2015. Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000233258>. Acesso em: 31 jul. 2021.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESEARCH. **Guidelines for stem cell research and clinical translation**. Skokie: ISSCR; p. 8, 2016. Disponível em: <https://www.isscr.org/docs/default-source/all-isscr-guidelines/guidelines-2016/isscr-guidelines-for-stem-cell-research-and-clinical-translationd67119731dff6ddb37cff0000940c19.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2021.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESEARCH. **ISSCR Guidelines for stem cell research and clinical translation**. Version 1.0, May 2021. Disponível em: <https://www.isscr.org/guidelines>. Acesso em: 06 set. 2023.

JAISWAL, Siddhartha *et al.* Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 2, p. 111-121, 2017.

JANSEN, Ruud *et al.* Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. **Molecular microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1565-1575, 2002.

JINEK, Martin *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. **science**, v. 337, n. 6096, p. 816-821, 2012.

JINEK, Martin *et al.* RNA-programmed genome editing in human cells. **elife**, v. 2, p. e00471, 2013.

JOHANNSEN, Wilhelm. *Elemente der exakten Erblchkeitslehre*. **Gustav Fischer**, 1909.

KANTOR, Ariel; MCCLEMENTS, Michelle E.; MACLAREN, Robert E. CRISPR-Cas9 DNA base-editing and prime-editing. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 17, p. 6240, 2020.

KIM, Seokjoong *et al.* Preassembled zinc-finger arrays for rapid construction of ZFNs. **Nature methods**, v. 8, n. 1, p. 7, 2011.

KLEINSTIVER, Benjamin P. *et al.* Genome-wide specificities of CRISPR-Cas Cpf1 nucleases in human cells. **Nature biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 869-874, 2016.

KOLB, Robert W. **Sovereign debt: From safety to default**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2011.

KOMOR, Alexis C. *et al.* Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. **Nature**, v. 533, n. 7603, p. 420-424, 2016.

KUPFERSCHMIDT, Kai. Shadowed by past, gene-editing summit looks to future. **Science (New York, NY)**, v. 379, n. 6637, p. 1073-1074, 2023.

LACADENA, Juan-Ramón. Edición genómica: ciencia y ética. **Revista Iberoamericana de Bioética**, n. 3, p. 1-16, 2017.

LAUXEN, Elis Cristina; GOLDIM, José Roberto. Intervenções genéticas em seres humanos: aspectos éticos e jurídicos. **Barbarói**, Santa Cruz do Sul, n. 45, p. 202-226, 2015.

LEDFORD, Heidi. CRISPR, the disruptor. **Nature News**, v. 522, n. 7554, p. 20, 2015.

LEE, Choongil *et al.* CRISPR-pass: gene rescue of nonsense mutations using adenine base editors. **Molecular Therapy**, v. 27, n. 8, p. 1364-1371, 2019.

LEI Ruipeng, QIU Renzong. Chinese bioethicists: He Jiankui's crime is more than illegal medical practice. *Bioethics Forum*. 2020. Disponível em: <https://www.thehastingscenter.org/chinese-bioethicists-he-jiankuis-crime-is-more-than-illegal-medical-practice/>. Acesso em: 17 mai. 2023.

LI, Chang *et al.* In vivo HSC prime editing rescues sickle cell disease in a mouse model. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 141, n. 17, p. 2085-2099, 2023.

LI, Jing-ru *et al.* Experiments that led to the first gene-edited babies: the ethical failings and the urgent need for better governance. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, v. 20, n. 1, p. 32-38, 2019.

LIANG Puping, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. **Protein & Cell**, v. 6, issue 5, p. 363-372, 2015.

LIMA, Franciele de. Avaliação da eficácia e segurança de uma estratégia para tratamento da doença falciforme baseada na terapia gênica com um vetor viral para expressão de hemopexina. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2023.

LINDEN, Rafael. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. **Estudos avançados**, v. 24, p. 31-69, 2010.

LIU, Bin; SABER, Ali; HAISMA, Hidde J. CRISPR/Cas9: a powerful tool for identification of new targets for cancer treatment. **Drug discovery today**, v. 24, n. 4, p. 955-970, 2019.

LOPEZ, Teresa Ancona. **Princípio da Precaução e Evolução da Responsabilidade Civil**. São Paulo: Editora Quartier Latin, 2010.

LOVELL-BADGE, Robin *et al.* ISSCR guidelines for stem cell research and clinical translation: the 2021 update. **Stem cell reports**, v. 16, n. 6, p. 1398-1408, 2021.

MA, Hong *et al.* Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. **Nature**, v. 548, p. 413-419, 2017.

MA, Yuanwu, ZHANG, Lianfeng, HUANG, Xingxu. Genome modification by CRISPR/Cas9. **The FEBS Journal**, v. 281, n. 23, p. 5186-5193, 2014.

MALI, Prashant *et al.* RNA-guided human genome engineering via Cas9. **Science**, v. 339, n. 6121, p. 823-826, 2013.

MAEDER, Morgan L.; GERSBACH, Charles A. Genome-editing technologies for gene and cell therapy. **Molecular Therapy**, v. 24, n. 3, p. 430-446, 2016.

MANNARINO, Eduardo. Nova ferramenta do sistema CRISPR/Cas: Nuclease AsCas12 Ultra facilita a rápida geração de células. MartinLab, 2021. Disponível em: <https://www.martinlab.net/post/nova-ferramenta-do-sistema-crispr-cas-nuclease-ascas12a-ultra-facilita-a-r%C3%A1pida-gera%C3%A7%C3%A3o-de-c%C3%A9lulas>. Acesso em: 08 ago. 2023.

MANNARINO, Eduardo. Velhos problemas e novas solução: prime editing. MartinLab, 2022. Disponível em: <https://www.martinlab.net/post/velhos-problemas-e-novas-solu%C3%A7%C3%B5es-prime-editing>. Acesso em: 02 ago. 2023.

MARFANY, Gemma. Interrogantes y retos actuales de la edición genética. **Revista Bioética y Derecho**, Barcelona, n. 47, p. 17-31, 2019.

MAZZUOLI, Valerio de Oliveira. **Curso de direito internacional privado**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Editora Forense, 2018.

MAZZUOLI, Valerio de Oliveira. **Curso de direito internacional público**. 5ª edição. São Paulo: Editora Revista dos Tribunais, 2011.

MEIRELLES, Ana Thereza; VERDIVAL, Rafael Silva. Implicações bioético-jurídicas do uso da edição genética como alternativa terapêutica nas relações em saúde no Brasil. **Revista da Faculdade Mineira de Direito**, v. 23, n. 46, p. 161-186, 2020.

MELLOR, Shauna M. The Utilization of CRISPR/Cas9 in Monogenic Disorders Authors. **Spectra Undergraduate Research Journal**, v. 2, n. 2, p. 3, 2022.

MESELSON, Matthew; STAHL, Franklin. The replication of DNA in Escherichia coli. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 44, n. 7, p. 671-682, 1958.

MOJICA, Francisco Juan Martínez *et al.* Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. **Molecular microbiology**, v. 36, n. 1, p. 244-246, 2000.

MOJICA, Francisco Juan Martínez *et al.* Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. **Journal of molecular evolution**, v. 60, p. 174-182, 2005.

MOJICA, Francisco Juan Martínez; JUEZ, Guadalupe; RODRIGUEZ-VALERA, Francisco. Transcription at different salinities of *Haloferax mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. **Molecular microbiology**, v. 9, n. 3, p. 613-621, 1993.

MOLINARI, Hugo Bruno Correa *et al.* Tecnologia CRISPR na edição genômica de plantas: biotecnologia aplicada à agricultura. **Embrapa**: Brasília, DF, p. 51-90, 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1126460/1/cap2-2020.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2023.

MONTGOMERY, Robert A.; TANG, WH Wilson. Cardiac Xenotransplantation: a New Frontier for Advanced Heart Failure. **Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine**, v. 25, n. 3, p. 65-78, 2023.

MOREIRA, Catarina. DNA recombinante. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 1, 2014a.

MOREIRA, Catarina. Enzima de restrição. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 2, p. 033, 2014b.

MORETTI, A. *et al.* Somatic gene editing ameliorates skeletal and cardiac muscle failure in pig and human models of Duchenne muscular dystrophy. **Nature medicine**, v. 26, n. 2, p. 207-214, 2020.

NAAM, Ramez. **More than human: Embracing the promise of biological enhancement**. 1. ed. New York: Broadway Books, 2005.

NAEEM, Muhammad *et al.* Latest developed strategies to minimize the off-target effects in CRISPR-Cas-mediated genome editing. **Cells**, v. 9, n. 7, p. 1608, 2020.

NASSER, Salem Hikmat. Jus Cogens: ainda esse desconhecido. **Revista Direito GV**, v. 1, n. 2, p. 161-178, 2005.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE (NASEM). International summit on human gene editing: a global discussion. **Washington, DC: The National Academies Press**, 2015. Disponível em: <https://www.nationalacademies.org/our-work/international-summit-on-human-gene-editing>. Acesso em: 31 jul. 2021.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE (NASEM). Second International Summit on Human Genome Editing: Continuing the Global **Discussion: Proceedings of a Workshop-in Brief**, 2019. Disponível em: <https://www.nap.edu/catalog/25343/second-international-summit-on-human-genome-editing-continuing-the-global-discussion>. Acesso em: 31 jul. 2021.

NATIONAL ACADEMY OF MEDICINE. Third International Summit on Human Genome Editing. 2023. Disponível em: <https://nam.edu/event/third-international-summit-on-human-genome-editing/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF MEDICINE. Human genome editing: science, ethics and governance. **Washington: The National Academies Press**, 2017. Disponível em: <http://comenius.susqu.edu/biol/312/nashumangenomeediting.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2021.

NATIONAL ACADEMY OF MEDICINE, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, ROYAL SOCIETY. Heritable Human Genome Editing. **Washington, DC: The National Academies Press**, 2020. Disponível em: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/25665/heritable-human-genome-editing>. Acesso em: 19 dez. 2022.

NEGRI, Fernanda de; UZIEL, Daniela. O que é medicina de precisão e como ela pode impactar o setor de saúde?. Texto para Discussão, 2020. Disponível em: <https://www.econstor.eu/handle/10419/240752>. Acesso em: 12 set. 2023.

NELSON, James W. *et al.* Engineered pegRNAs improve prime editing efficiency. **Nature biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 402-410, 2022.

NEWBY, Gregory A. *et al.* Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice. **Nature**, v. 595, n. 7866, p. 295-302, 2021.

NIDHI, Sweta *et al.* Novel CRISPR–Cas systems: an updated review of the current achievements, applications, and future research perspectives. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 7, p. 3327, 2021.

NOHAMA, Norton. CRISPR: entre a esperança e a agonia. **Revista IHU on-line**, São Leopoldo, 2018.

NOHARA, Irene Patrícia. Conceitos jurídicos indeterminados e delimitação concreta da discricionariedade administrativa no pós-positivismo. **Revista da Procuradoria Geral do Estado de São Paulo**, São Paulo, n. 7, p. 167-193, 2010.

NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. Emerging biotechnologies: technology, choice and the public good. 2012. Disponível em: <https://www.nuffieldbioethics.org/publications/emerging-biotechnologies>. Acesso em: 01 dez. 2022.

NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. Genome editing: an ethical review. 2016. Disponível em: <https://www.nuffieldbioethics.org/publications/genome-editing-an-ethical-review>. Acesso em: 28 nov. 2022.

NUFFIELD COUNCIL IN BIOETHICIS. Genome editing and human reproduction: social and ethical issues. 2018. Disponível em: <https://www.nuffieldbioethics.org/publications/genome-editing-and-human-reproduction>. Acesso em: 28 nov. 2022.

NUSSBAUM, Robert, *et al.* **Thompson & Thompson Genética Médica**. 7ª edição. Elsevier Brasil, 2008.

ODIN. DIY Bacterial Gene Engineering CRISPR Kit, 2023. Shop All. Disponível em: <https://www.the-odin.com/diy-crispr-kit/>. Acesso em: 27 fev. 2023.

OLIVEIRA, Bárbara de Alencar *et al.* Vetores virais para uso em terapia gênica. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 9, n. 2, p. 57-66, 2018.

ORGANIZACAO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E CULTURA (UNESCO). **Declaração universal dos direitos humanos**. Unesco, 1948.

OLIVEIRA, Rafael Santos de. O papel da *soft law* na efetivação do direito ambiental internacional. Dissertação (Mestrado em Integração Latino-Americana) – Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. 2005.

ORGANIZACAO DAS NACOES UNIDAS PARA A EDUCACAO, CIÊNCIA E CULTURA. **Declaração universal dos direitos humanos**. Unesco, 1948.

ORGANIZACAO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E CULTURA (UNESCO). **Declaração universal sobre o genoma humano e os direitos humanos: da teoria à prática**. Unesco, 1997.

OYE, Kenneth A. *et al.* Regulating gene drives. **Science**, v. 345, n. 6197, p. 626-628, 2014.

PARLAMENTO EUROPEU. Direção-Geral dos Serviços de Estudos do Parlamento Europeu (DG EPRS). Unidade da Prospetiva Científica (STOA). **Mais dez tecnologias suscetíveis de transformar as nossas vidas: análise aprofundada**. Bruxelas, 2017. Disponível em: [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2017/598626/EPRS_IDA\(2017\)598626_PT.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2017/598626/EPRS_IDA(2017)598626_PT.pdf). Acesso em: 31 jul. 2021.

PENG, J. *et al.* Production of human albumin in pigs through CRISPR/Cas9-mediated knockin of human cDNA into swine albumin locus in the zygotes. **Scientific Reports**, 5, 16705, p. 1-6, 2015.

PENG, Yaojin *et al.* A framework for the responsible reform of the 14-day rule in human embryo research. **Protein & Cell**, v. 13, n. 8, p. 552-558, 2022.

PENNA, João Bosco; CANOLA, Bruno César. A evolução da biotecnologia e da engenharia genética frente às implicações ambientais, ao biodireito e aos direitos fundamentais. **Revista da Faculdade de Direito da UFG**, v. 33, n. 2, p. 74/88-74/88, 2009.

PEREIRA, Tiago Campos (Org.). **Introdução à técnica de CRISPR**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2016.

POLSTEIN, Lauren R.; GERSBACH, Charles A. A light-inducible CRISPR-Cas9 system for control of endogenous gene activation. **Nature chemical biology**, v. 11, n. 3, p. 198-200, 2015.

REECE, Jane B. *et al.* **Biologia de Campbell**. 10ª edição. Porto Alegre: Artmed Editora, 2015.

RICHTER, Hagen; RANDAU, Lennart; PLAGENS, André. Exploiting CRISPR/Cas: interference mechanisms and applications. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 7, p. 14518-14531, 2013.

ROSSANT, Janet. Gene editing in human development: ethical concerns and practical applications. **Development**, v. 145, n. 16, 2018.

SÁ, Maria de Fátima Freire; NAVES, Bruno Torquato de Oliveira. **Bioética e Biodireito**. 5. ed. Indaiatuba-SP: Editora Foco, 2021.

SANTALÓ, Josep Pedro. Edición genómica. La hora de la reflexión. **Revista de Bioética y derecho**, n. 40, p. 157-165, 2017.

SANTOS, Sandna Larissa Freitas dos *et al.* CRISPR: uma nova era na biologia molecular. **Revista Biotecnologia & Ciência**, v. 5, n. 2, p. 40-48, 2016.

SANTOS, Thauane Grace Rocha dos; MORAES FILHO, Aroldo Vieira de; ALVES, Oslânia de Fátima. Terapias Gênicas: Revisão da Literatura. **Applied Health Sciences (AHS)**, p. 32, 2020.

SGANZERLA, Anor; PESSINI, Leo. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. **Saúde em Debate**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 527-540, 2020.

SHETTY, Shashirekha; NOGUEZ, Jaime H. Lifting the Limit: Updated ISSCR Guidance for Lab-Grown Human Embryos. **Clinical Chemistry**, v. 68, n. 5, 2022.

SOUZA, João Carlos. Construindo o acesso transnacional à Justiça: a importância dos instrumentos de soft law. **Revista Vox**, n. 11, p. 28-37, 2020.

STADTMAUER, Edward A. *et al.* CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. **Science**, v. 367, n. 6481, p. eaba7365, 2020.

STEPHENS, Paulo Roberto Soares *et al.* Virologia. In: MOLINARO, Etelcia Moraes *et al.* **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro, EPSJV, IOC, v. 4, 2009, p. 125-220.

STERNBERG, Samuel H. *et al.* DNA interrogation by the CRISPR RNA-guided endonuclease Cas9. **Nature**, v. 507, n. 7490, p. 62-67, 2014.

TAMURA, Ryota; TODA, Masahiro. Historic overview of genetic engineering technologies for human gene therapy. **Neurologia medico-chirurgica**, v. 60, n. 10, p. 483-491, 2020.

TANG, Thean-Hock *et al.* Identification of 86 candidates for small non-messenger RNAs from the archaeon *Archaeoglobus fulgidus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 11, p. 7536-7541, 2002.

THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE (1962). NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1962/summary/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE (1978). NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1978/summary/>. Acesso em: 24 jan. 2023.

THE ROYAL SOCIETY. Statement from the Organising Committee of the Third International Summit on Human Genome Editing. 2023a. Disponível em: <https://royalsociety.org/news/2023/03/statement-third-international-summit-human-genome-editing/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

THE ROYAL SOCIETY. Third International Summit on Human Genome Editing. 2023b. Disponível em: <https://royalsociety.org/science-events-and-lectures/2023/03/2023-human-genome-editing-summit/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

TOBITA, Takamasa; GUZMAN-LEPE, Jorge; COLLIN DE L'HORTET, Alexandra. From hacking the human genome to editing organs. **Organogenesis**, v. 11, n. 4, p. 173-182, 2015.

TU, Zhuchi *et al.* Promoting Cas9 degradation reduces mosaic mutations in non-human primate embryos. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 42081, 2017.

UDDIN, Fathema; RUDIN, Charles M.; SEN, Triparna. CRISPR gene therapy: applications, limitations, and implications for the future. **Frontiers in oncology**, v. 10, p. 1387, 2020.

VANNUCCI, Laura *et al.* Viral vectors: a look back and ahead on gene transfer technology. **New Microbiologica**, v. 36, n. 1, p. 1-22, 2013.

VASCONCELOS, Maria José Vilaça de; CARNEIRO, Andrea Almeida. **Guia para regulamentação de organismos geneticamente modificados**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Embrapa Milho e Sorgo. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, MG, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1037835/guia-para-regulamentacao-de-organismos-geneticamente-modificados>. Acesso em: 18 set. 2023.

VAZ, Paulo. Risco e Justiça. In: CALOMENI, Teresa Cristina B. **Michel Foucault: entre o murmúrio e a palavra**. Campos, RJ: Editora Faculdade de Direito de Campos, 2004.

VERDIVAL, Rafael. **As implicações bioético-jurídicas do uso da edição genética como protocolo terapêutico**. 1ª edição. Salvador: Publicação independente, 2022.

VERDROSS, Alfred. Jus Dispositivum and Jus Cogens in International Law. **The American Journal of International Law**, v. 60 (1), p. 55–63, 1966.

VIEIRA, André Luiz Valim. Convenção de Viena sobre Direito dos Tratados entre estados e organizações internacionais: tramitação legislativa nacional e vigência internacional para o brasil. **Inter: Revista De Direito Internacional e Direitos Humanos Da UFRJ**, v. 5, n. 1, p. 56-67, 2022.

VILAÇA, Murilo Mariano; LAVAZZA, Andrea. Not Too Risky. How to Take a Reasonable Stance on Human Enhancement. **Filosofia Unisinos**, v. 23, 2022.

VILAÇA, Murilo Mariano; PALMA, Alexandre. Limites biológicos, biotecnociência e transumanismo: uma revolução em Saúde Pública?. **Interface - Comunic., Saude, Educ.**, v.16, n.43, p.1025-38, out./dez. 2012.

XU, Liwen *et al.* Molecular dynamics of genome editing with CRISPR-Cas9 and rAAV6 virus in human HSPCs to treat sickle cell disease. **Molecular Therapy-Methods & Clinical Development**, v. 30, p. 317-331, 2023.

WATSON, James Dewey; CRICK, Francis Harry Compton. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**, v. 171, p. 737-738. 1953.

WHITWORTH, Kristin M. *et al.* Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus. **Nature Biotechnology**, v. 34, p. 20–22, 2016.

WIEDENHEFT, Blake; STERNBERG, Samuel H; DOUDNA, Jennifer Anne. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. **Nature**, v. 482, n. 7385, p. 331-338, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Human genome editing: a framework for governance. In: **Human genome editing: a framework for governance**. 2021a. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030060>. Acesso em: 19 dez. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Human genome editing: Recommendations. In: **Human genome editing: recommendations**. 2021b. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030381>. Acesso em: 19 dez. 2022.

ZETSCHE, Bernd *et al.* Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. **Cell**, v. 163, n. 3, p. 759-771, 2015.

ZHANG, Liyang *et al.* AsCas12a ultra nuclease facilitates the rapid generation of therapeutic cell medicines. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 3908, 2021.

ZHANG, Xiao-Hui *et al.* Off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. **Molecular Therapy-Nucleic Acids**, v. 4, 2015.