

Terça-feira 2 de Março de 2010

Terapia Gênica: o Rumo de uma Nova Medicina.

Gabriel Costa de Carvalho
Graduado em Biomedicina pela UNIPAC, Campus VI.

Marta Fonseca Martins Guimarães
Pesquisadora Dra. Laboratório de Genética Molecular da EMBRAPA Gado de Leite.

Manoel Carlos Couto de Araújo
Professor Dr. titular I da UNIPAC, Campus VI.

Resumo

A terapia gênica apresenta uma nova expectativa para o tratamento de diversas doenças pela transferência de material genético. A inserção de genes em células-alvo por vetores tem um conceito simples, entretanto, este procedimento gera incertezas em relação a possíveis respostas imunológicas e alterações genéticas que podem ser apresentadas. O estudo é baseado em técnicas relacionadas à biologia molecular, sendo aplicado em ensaios clínicos por diversos países no mundo. Em alguns casos a terapia gênica já tem mostrado resultados de sucesso, como a correção do gene mutante para enzima adenosina desaminase (ADA), mas na tentativa de correção do gene da enzima ornitina transcarbamilase (OTC) a terapia resultou em fracasso. Este artigo de revisão mostra amplitude da aplicação dos experimentos, as melhores características de um vetor e as medidas que devem ser avaliadas em um teste de fases.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia molecular. DNA. Tratamento.

Abstract

Gene Therapy presents a new expectation for the treatment of various diseases by the transfer of genetic material. The insertion of genes into target cells by vectors has a simple concept, however, this creates uncertainties on possible immune responses and genetic changes that may be presented. The study is based on techniques related to molecular biology, being applied in clinical trials for various countries in the world. In some cases, gene therapy has already shown success results by correcting the mutant gene for adenosine deaminase enzyme (ADA), but in trying to fix the gene of the ornithine transcarbamylase enzyme (OTC) the therapy resulted in failure. This review article shows the breath of applications in experiments, the best characteristics of a vector and the measures that should be evaluated in a test of phases.

KEY-WORDS: DNA. Molecular biology. Treatment.

Introdução

Em 1953, James Watson e Frederick Crick propuseram o modelo da dupla hélice como estrutura para a molécula de DNA recebendo o prêmio Nobel pela descoberta (WATSON e CRICK, 1953). Posteriormente em 1964, a descoberta das enzimas de restrição permitiu o isolamento de seqüências de DNA (BOYER, 1964). Em 1972, Paul Berg e colaboradores recombinaram o DNA do vírus SV40 com DNA de *Escherichia coli* (JACKSON et al., 1972). Um ano depois foi divulgada a obtenção do primeiro organismo geneticamente modificado a partir de bactéria *E. coli* (COHEN et al., 1973). Logo em 1978 esse mesmo procedimento foi utilizado para produção da insulina humana (BRONSON, 1978) e em 1982 a purificação desta proteína deu origem à produção do primeiro medicamento produzido por engenharia genética aprovado pela Food And Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos (JONHSON, 1982).

Hoje a ciência avança desvendando o código genético, o que vem sendo divulgado amplamente na mídia como: "A chave da vida". Com o Projeto Genoma Humano, que foi iniciado em 1990 e finalizado em 2003 por um consórcio internacional; liderado pelos National Institutes of Health (NIH) e o Departamento de Energia dos Estados Unidos (VENTER et al., 2001). Estes avanços permitirão a utilização deste conhecimento para a disponibilização de diagnósticos pré-clínicos para várias doenças.

No genoma humano encontramos codificados no DNA as instruções sobre todas as características individuais como estrutura física e mental e o aparato de informações necessário para nossa sobrevivência. Alterações genéticas de uma espécie estão associadas a várias mudanças fenotípicas

perceptíveis ou não, dentre elas estão as que trazem benefício para uma população e outras que geram malefícios (GRIFFITHS et al., 2001).

A medicina preventiva visa minimizar o índice de doenças hereditárias, degenerativas e doenças infecciosas que afetam a população de um modo geral. Com conhecimento das várias desordens genéticas que levam as doenças incuráveis pode-se procurar soluções sobre a melhor forma para tratamentos (Figura 1).

De acordo com RANG et al. (2001), existem atualmente quadros patológicos que não podem ser unicamente amenizados por métodos convencionais.

O encaminhamento dessas evoluções biotecnológicas e o conhecimento específico sobre as doenças genéticas abrem portas para um novo tipo de tratamento que já vem sendo utilizado em fase experimental nos diversos laboratórios espalhados pelo mundo, a **Terapia Gênica** que representa uma alternativa para o tratamento das doenças genéticas ditas "incuráveis".

Conforme a revista HEBRON (2003), estima-se que em 2010 testes para avaliar o risco de câncer, diabetes e enfarte vão se tornar comuns. Acredita-se que terapias genéticas combaterão com sucesso várias doenças e tumores. Em 2015 os remédios personalizados serão possíveis por meio da consulta do DNA do paciente e no ano de 2025 doenças hereditárias serão eliminadas com a correção de genes defeituosos.

Conceito

Terapia Gênica é o tratamento de doenças, sejam elas de caráter herdado ou adquirido (NARDI, 2002), que utiliza técnicas aplicadas na manipulação de materiais genéticos com o intuito de transferi-los para célula(s)-alvo, tecidos ou órgãos inteiros, tendo finalidade de cura de doenças ou melhora do quadro clínico de um paciente. A princípio os genes são inoculados em vetores (VERMA e WEITZMAN, 2005).

Este procedimento aplica-se tanto em humanos como em animais e plantas, diante de qualquer etapa da vida de um indivíduo. Os experimentos clínicos da terapia gênica no câncer superam aproximadamente 67% todos os outros tipos de tratamento, em segundo lugar vem a preferência para as doenças cardiovasculares e logo em seguida as monogênicas. Atualmente os Estados Unidos vem sendo o país onde ocorre o maior número de testes (Figura 1).

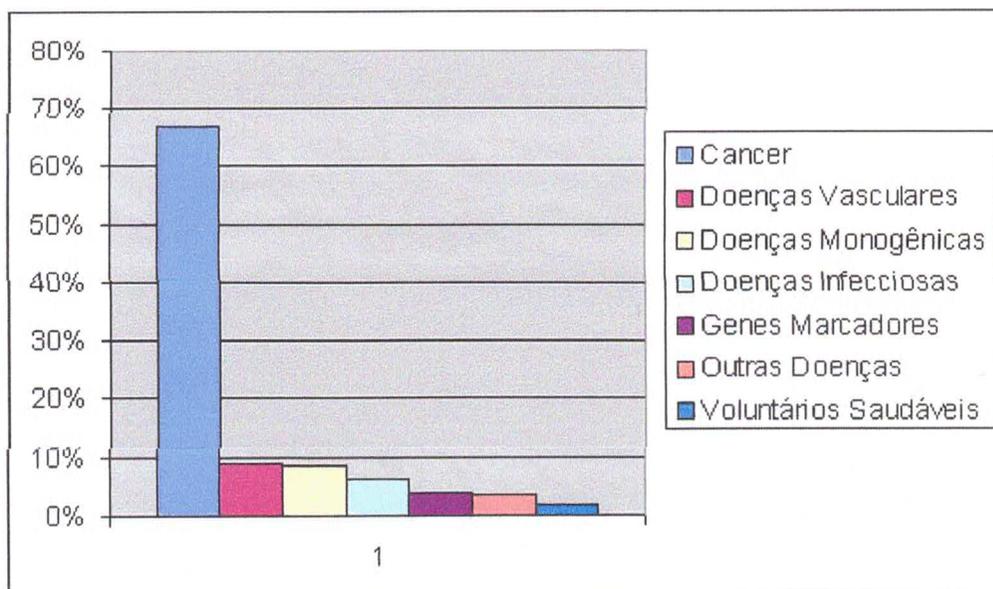


FIGURA 1: Indicações da terapia gênica por experimentos clínicos n=1000. Disponível em .

Formas de Terapia Gênica

Existem basicamente duas formas de terapia gênica: somática (mais estudada) e germinal (MILLER, 1990).

Terapia Gênica Somática (TGS)

Segundo GRIFFITHS et al. (2001), a terapia gênica somática visa tratar qualquer linhagem celular do

organismo com exceção das que são responsáveis pela fecundação (espermatozoides, óvulos e suas respectivas células precursoras). A técnica consiste na introdução de material genético em células somáticas por técnicas artificiais, com a finalidade de corrigir defeitos genéticos ou estimular respostas imunes contra a expressão fenotípica de genes defeituosos, ou para prevenir a sua ocorrência.

Terapia Gênica Germinal (TGG)

GRIFFITHS et al. (2001) relata que a terapia gênica germinal por apresentar muitas controvérsias, tem sido realizada unicamente em experimentos animais. Utilizando-se a técnica em humanos, por exemplo, existe o risco de podermos conceber bebês com doenças inesperadas, danos cerebrais ou mesmo alterações ao nível da personalidade. Esta é uma razão por que a terapia genética na linha germinal é atualmente ilegal em muitos países.

Técnicas Aplicadas

Técnica *ex vivo*

São isoladas células do paciente tratadas *in vitro*, modificadas geneticamente e re-transplantadas (BONASTRE, 2005).

Técnica *in vivo*

A terapia que envolve a transferência direta do gene, usando um vetor, no tecido do paciente (BONASTRE, 2005).

Vetor

O vetor é o agente que possui o gene de interesse que será transferido para uma célula receptora.

Para se obter uma transferência genética de sucesso, deve-se escolher vetores que obedeçam a uma *série de parâmetros*.

Para RANG et al. 2001, um vetor ideal deve ser produzido de forma fácil, concentrada e ser capacitado de inocular os genes corretamente nos vários tipos celulares (em divisão ou não) atingindo seus respectivos núcleos, contudo deve apresentar segurança, ser altamente eficiente e seletivo para as células tratadas. O gene alvo necessita estar protegido contra degradação e não ligado a outros que tragam uma resposta imune ou toxicidade gerando malefício ao hospedeiro. Além disso, o melhor vetor seria aquele que acomodasse a maior quantidade de material genético a ser transferido e que este expressasse de uma forma duradoura ou persistente.

Um vetor prontamente perfeito que demonstre todas as características exigidas é difícil de ser isolado, devendo assim programar qual o objetivo será preciso atender.

Levando em consideração as vantagens e desvantagens encontradas, foram classificadas duas classes de vetores: os vetores virais, responsáveis pela transfecção, dentre os mais usados estão os retrovírus, adenovírus e vírus adeno-associados, e os não-virais que possuem como exemplos mais utilizados os plasmídeos e os lipossomos. O vetor mais utilizado vem sendo o adenovírus com 24.7% dos casos, logo os retrovírus ganham um destaque conjunto estabelecendo 22.8% de toda a preferência e dentre aqueles não-virais, a lipofecção assume 7.6% dos protocolos (Figura 2).

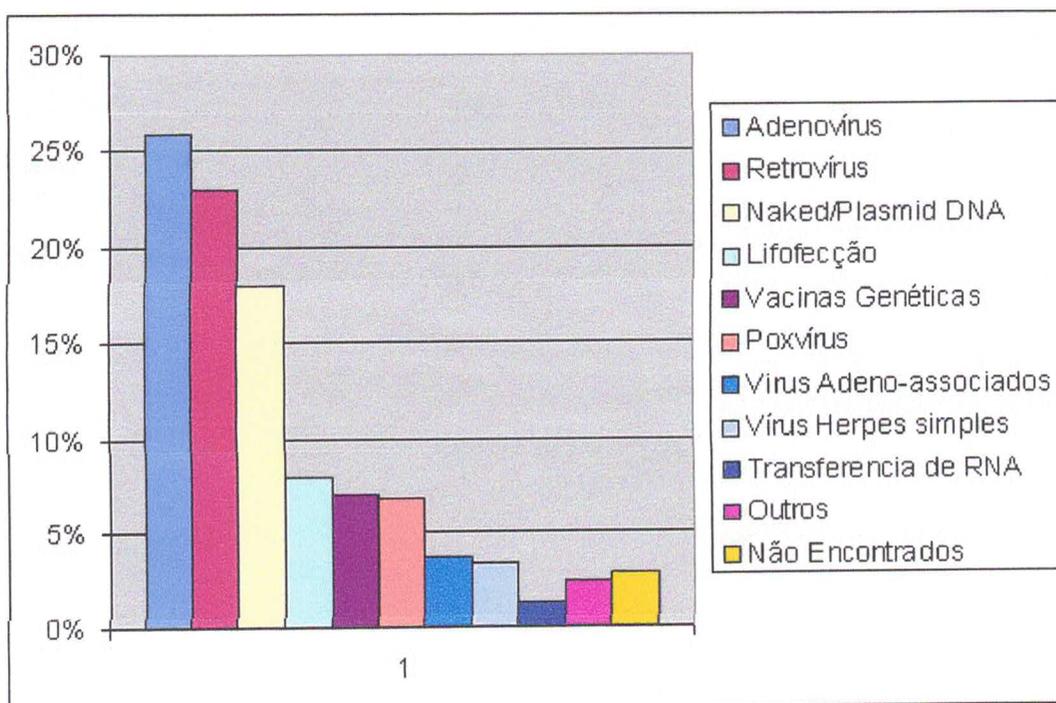


FIGURA 2: Vetores mais utilizados em experimentos clínicos de terapia gênica n=1000. Disponível em .

Aplicações da Terapia Gênica

Em 14 de setembro de 1990, Ashanti DeSilva uma menina de 4 anos de idade se tornou a primeira paciente a ser tratada usando a terapia gênica segundo o National Institutes of Health (NIH) Clinical Center. Ela sofria de uma imunodeficiência severa combinada (SCID) causada pela mutação na enzima adenosina deaminase (ADA) envolvida no metabolismo das purinas. Esta enzima está distribuída em todo organismo apresentando um papel importante no sistema imune, possui alta atividade nos linfócitos T e macrófagos. As crianças que possuem essa deficiência não são capazes de apresentar uma resposta imune às infecções e têm de levar uma vida muito restrita. A paciente recebeu suas próprias células T tratadas *ex-vivo* com um vetor retroviral carregando o gene normal para ADA, resultando em um sucesso para a nova terapia (ANDERSON, 1992).

Com essa revolução médica, tornou-se possível à esperança que doenças genéticas como deficiência de ornitina transcarbamilase (OTC), fibrose cística e hemofilia poderiam ser eliminadas. O problema principal era encontrar um procedimento ideal para inserir o gene de forma segura e eficaz.

Os retrovírus possuem um sistema de integração ao genoma hospedeiro, portanto o não conhecimento específico para essa inserção poderia provocar diversos quadros clínicos que o paciente antes não apresentava. Esse vírus nos experimentos utilizados até então funcionava de forma perfeita, porém depois da primeira experiência de Anderson, mais ninguém conseguiu ser curado de uma desordem genética.

Na metade dos anos noventa, a terapia gênica não estava funcionando, no entanto o erro ocorria no tipo de vetor utilizado. O conceito do tratamento é simples, mas a inserção do gene não era tão simples.

Em 1992 James M. Wilson procurou usar o adenovírus como vetor. Um fato importante por ser um vírus humano, este podia infectar quase que todas as células do corpo não integrando o gene terapêutico ao genoma (BBC Worldwide Limited 2005).

Jesse Gelsinger (voluntário) um adolescente de 18 anos, foi a primeira vítima da terapia gênica e morreu em 1999 com síndrome inflamatória sistêmica e falência múltipla dos órgãos após ter recebido a injeção intra-hepática de adenovírus (RAPER et al, 2003; SAVULESCU, 2001; STOLBERG, 1999). Jesse sofria de Ornitina Transcarbamilase (OTC), uma doença hepática que resulta no acúmulo de amônia e seus percursores metabólicos que leva a intoxicação (DEPARTAMENTO DE JUSTIÇA DOS ESTADOS UNIDOS). A doença estava controlada com dieta e medicamento e o paciente se mostrava saudável, mas decidiu mesmo assim participar da terapia gênica, entendendo que poderia ajudar outras pessoas com a mesma doença.

Sua morte foi relacionada à resposta imunológica grave ao adenovírus carreador, um dos problemas

principais desse vírus é que mesmo as versões inativadas podem estimular resposta imune e a expressão em longo prazo do gene é teoricamente impossível, podendo o sistema imune destruir as células infectadas. O fato para o ocorrido é que pesquisas realizadas na Universidade da Pensilvânia já demonstraram que os testes haviam registrado a morte de um macaco e o paciente continuou a receber dosagens muito altas do vírus (LEHRMAN, 1999).

A primeira cura com terapia gênica foi reportada em 2000 quando Alain Fischer teve sucesso total tratando crianças com SCID-X1 (síndrome de imunodeficiência severa ligada ao cromossomo X) (DOVE, 2000). Infelizmente, por volta de 30 a 34 meses depois desse tratamento, 2 dos 10 doentes desenvolveram uma síndrome leucêmica "leukemia-like syndrome"; essas crianças foram tratadas subsequentemente com quimioterapia (HACEN-BEY-ABINA, 2003).

Melhor Vetor e sua Produção

Dentre os sistemas para transferência gênica os vetores virais são os modelos mais eficientes para a terapia gênica desde que, sejam capazes de infectarem uma proporção elevada de células e incapazes de replicar-se para produzir algum tipo de enfermidade ao paciente a ser tratado (CASTTELANOS, 2005).

Muitas técnicas para a construção de vírus capacitados a inocular o gene terapêutico em células-alvo estão disponíveis. Algumas delas requerem a utilização de plasmídios que irão incorporar o gene de interesse "gene-alvo" e outros que incluirão parte dos genes virais responsáveis pela sua formação estrutural como envelope e capsídeo (DANTHINNE, 2000).

A produção do vetor é feita mediante a eliminação das propriedades genômicas virais que são essenciais a sua replicação, substituindo-as por genes terapêuticos. A região ocupada por estes genes denomina-se cassete e geralmente está ligada a um promotor (CASTTELANOS, 2005).

Para fabricação *in vitro* dos vetores recombinantes, as proteínas essenciais para replicação viral devem ser removidas, com a finalidade de retirar as características imunogênicas do patógeno (VORBURGER, 2002) e esses genes agora ausentes no genoma viral será incorporado em plasmídios para serem introduzidos nas células denominadas empacotadoras (BREYER, 2001).

Tipos de Protocolos

Os protocolos em terapia gênica ajustam a fase dos testes com o número de indivíduos testados. Tudo é seguido criteriosamente para que no resultado final ocorra especificidade e segurança no tratamento. Na fase I é envolvido um número pequeno de pacientes para a avaliação da reação a diferentes formas de administração do tratamento (via, dose, frequência), principalmente aos aspectos de segurança. Nos protocolos de fase II participam cerca de 20 a 50 pacientes e continuando a análise dos aspectos de segurança também se inicia a avaliação da eficiência do tratamento. Com aprovação, a fase III inicia atingindo um número bem maior de pacientes que serão comparados por métodos estatísticos, à nova proposta de estudo com um tratamento padrão já bem estabelecido. Com tudo prontamente perfeito, o protocolo clínico atinge fase IV, onde a terapia estará de acordo com todas as normas, pronta para futuramente ser implementada como um tratamento, isento de quaisquer danos que venha a comprometer a vida ou a saúde dos pacientes (NARDI, 2002).

Espécies Estudadas

Diversas espécies ganham destaques especiais na aplicação da terapia gênica, em vários casos são simuladas doenças que acometem humanos em modelos animais, é o caso do tratamento da hemofilia B e distrofia muscular em cães (MOUNT, 2002; HOWELL, 1997), diabetes e Parkinson em ratos (KOLODKA, 1995; BJÖRKLUND, 2000) e a citrulinemia em bovinos (LEE 1999).

Conclusão

A aplicação da terapia gênica com segurança e eficácia na prevenção e eliminação de doenças genéticas dependerá essencialmente de se aprofundar em conhecimentos específicos da biologia molecular e fisiopatologia das doenças. Os terapeutas genéticos devem desenvolver metodologias mais eficientes para a transferência gênica, assim como conhecer processos em estudos aplicados a respostas imunológicas.

Os estudos para a melhoria nos vetores devem continuar atendendo as exigências das células a serem tratadas, proporcionando a melhor: via, dose e frequência de inoculação. A adoção da metodologia como forma de tratamento deve esperar que pesquisas avancem com sucesso em protocolos clínicos de fase IV em humanos. A alma para a obtenção de ótimos resultados dependerá do envolvimento de vários tipos de profissionais capacitados a ajudarem.

No mundo, a Terapia Gênica já vem avançando com sucesso, sendo bem desenvolvida em doenças

degenerativas como Alzheimer e Parkinson além estar proporcionando ótimos resultados no combate a diferentes formas de câncer. O Brasil é um forte aliado na busca por novas vacinas, como outras experiências até aqui aplicadas que possuem perspectivas promissoras.

A batalha consiste também no incentivo à construção de novos centros de Terapia Gênica no país que incentivarão pesquisadores a solucionarem o problema das "doenças incuráveis".

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao meu orientador Dr. Manoel Carlos Couto de Araújo (UNIPAC) e minha co-orientadora Dra. Marta Fonseca Martins Guimarães (EMBRAPA Gado de Leite) pela disponibilidade, carinho e atenção em que tiveram ao me ajudar no tema do meu trabalho.

Um agradecimento em especial para o Dr. Carlos Frederico Martins Menck que permitiu que seu laboratório de reparo de DNA (Instituto de Ciências Biomédicas da USP) fosse fotografado e também pela reflexão em que enviou sobre a construção de novos centros de Terapia Gênica no Brasil, sendo de fundamental importância para minha apresentação.

Agradeço aos colegas que fiz enquanto procurava desvendar muitas das técnicas aplicadas a biologia molecular, que servem de base para os experimentos aplicados à Terapia Gênica.

Referências Bibliográficas

ANDERSON, W. F. Human gene therapy. **Science**, vol. 256, n. 5058, pp. 808 – 813, 1992
BBC Worldwide Limited, Reino Unido 2005.

Björklund, A.; KIRIK, D.; ROSENBLAD, C.; GEORGIEVSKAA, B.; LUNDBERGA, C.; MANDELIC R. J. Towards a neuroprotective gene therapy for Parkinson's disease: use of adenovirus, AAV and lentivirus vectors for gene transfer of GDNF to the nigrostriatal system in the rat Parkinson model. **Brain Research** 886, p.82-98, 2000.

BONASTRE, R. A.; MÁÑEZ, B. R.; AGUERAS, C. Terapia génica: realidades actuales y expectativas. **Revista Clínica Española**, vol. 205, n. 4, p.178-188, 2005.

BOYER, H. Genetic control of restriction and modification in Escherichia coli. **Journal of Bacteriology**, vol. 88, n. 6, p. 1652-1660, 1964.

BREYER, B.; JIANG, W.; CHENG, H.; ZHOU, L.; PAUL, R.; FENG, T.; HE, T-C. Adenoviral vector-mediated gene transfer for human gene therapy. **Current Gene Therapy**, vol.1, n.2, p.149-162, 2001.

BRONSON, G. Bacteria induced to produce insulin identical to humans. **Wall St J (East Ed)**, n.7, p. 17, 1978.

CASTELLANOS, M. R.; SANGRO, B.; Terapia génica: ¿Qué es y para qué sirve? **Anales del Sistema Sanitario de Navarra**, vol 28, n. 1, p.17-27, 2005.

COHEN, S. N.; CHANG, A. C. Y.; BOYER, H. W.; HELLING, R. B. Construction of biologically bacterial plasmids in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 70, n. 11, p. 3240-3244, 1973.

DANTHINE, X.; WERTH, E. New tools for the generation of E1- and/or E3-substituted adenoviral vectors. **Nature**, vol. 7, n.1, p.80-87, 2000.

DOVE, A. Small success for gene therapy. **Nature Biotechnology**. n. 18, p.592-593, 2000.

FDA Drug Bull. **Human insulin receives FDA approval**. Vol.12, n.3 p.18-19, 1982.

Gene Therapy – A Revolution in Progress: Human Genetics and Medical Research. Disponível em: <<http://www.history.nih.gov/exhibits/genetics/sect4.htm>>. Acesso em: 27 julho 2007.

Gene Therapy Clinical Trials Worldwide. Disponível em: . Acesso em: 24 julho 2007.

GRIFFITHS, A. J. F.; GELBART, W. M.; MILLER, J. H.; LEWONTIN, R. C. **Genética Moderna**. Tradução de: Paulo Armando Motta; Liane Oliveira Mufarrej Barbosa. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 589 p.

HACEIN-BEY-ABINA, S.; DEIST, F. L.; CARLIER, F. BOUNEAUD, C.; HUE, C.; VILLARTAY, J-P; THRASHER, A. J.; WULFFRAAT, N.; SORENSEN, R.; DUPUIS-GIROD, S.; FISCHER, A.; KUIS, G. D.W.; LEIVA, L.; CAVAZZANA-CALVO, M. Sustained Correction of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency by ex Vivo Gene Therapy. **The New England Journal of Medicine**, vol. 346, n. 16, p.1185-1193, 2002.

HOWELL, J. M.; FLETCHER, S.; KAKULAS, B. A.; O'HARA, M.; LOCHMULLERE, H.; KARPATI, G. Use of the dog model for Duchenne muscular dystrophy in gene therapy trials. **Neuromuscular disorders**, vol. 7, ed. 5, p. 325-328, 1997.

JACKSON, D. A.; SYMONS, R. H.; BERG, P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simians virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing Lambda phage genes and the galactose operon of Escherichia coli. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 69, n. 10, p. 2904-2909, 1972.

JOHNSON, I.S. **Authenticity and purity of human insulin (recombinant DNA)**, n.2 p.4-12, 1982.

KOLODOKA, T. M.; FINEGOLD, M.; MOSS, L.; WOO, S. L. C. Gene therapy for diabetes mellitus in rats by hepatic expression of insulin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 92, pp. 3293-3297, 1995.

LEE, B.; DENNIS, J. A.; HEALY, P. J.; MULL, B.; PASTORE, L.; YU, H.; AGUILAR-CORDOVA, E.; O'BRIEN, W.; REEDS, P.; BEAUDET, A. L. Hepatocyte gene therapy in a large animal: A neonatal bovine model of citrullinemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences, Medical Sciences**, vol. 96, p. 3981-3986, 1999.

LEHRMAN, S. Virus treatment questioned after gene therapy death. **Nature**, n. 401, p.517-518, 1999.

MILLER, A. D. Progress Toward Human Gene Therapy. **The Journal of The American Society of Hematology**, vol. 76, n. 2, p.271-278, 1990

MOUNT, J. D.; HERZOG, R. W.; TILLSON, M.; GOODMAN, S. A.; ROBINSON, N.; MCCLELAND M. L.; BELLINGER, D.; NICHOLS, T. C.; ARRUDA, V. R.; LOTHROP JR, C. D.; HIGHT, K. A. Sustained phenotypic correction of hemophilia B dogs with a factor IX null mutation by liver-direct gene therapy. **The American Society of Hematology, BLOOD**, vol. 99, n. 8, p.2670-2676, 2002.

NARDI, N. B.; TEIXEIRA, L. A. K.; SILVA, E. F. A. Terapia gênica. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol.7, no.1, p.109-116, 2002.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Tradução de: Penildon Silva; Patricia Josephine Voeux. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 703 p.

RAPIER, S. E.; CHIRMULE N.; LEE, S. F.; WIVEL, N. A.; BAGG A.; GAO, G-P.; WILSON J. M.; BATSHAW M. L. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. **Molecular Genetics and Metabolism**, vol. 80, p.148-158, 2003.

Revista HEBRON Atualidades, n.01, matéria 02, maio 2003, disponível em . Acesso em: 19 julho 2007.

SAVULESCU, J. Harm, ethics committees and the gene therapy death. **The Journal of Medical Ethics**, vol. 27, p148-150, 2001.

STOLBERG, S. G. The Biotech Death of Jesse Gelsinger. **New York Times Magazine**, p. 137, 1999.

TERAPIA GENÉTICA, **Canal Odisséia**, gênero Tecnociência Color, apresentado em 31/08/2007 às 22:00 horas, duração 47 min.

UNITED STATES DEPARTMENT OF JUSTICE. Us v. James M. Wilson. *Settlement Agreement*. Disponível em: . Acesso em: 29 julho 2007.

VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; MYERS, E. W.; LI, P. W.; MURAL, R. J.; SUTTON, G. G.; SMITH, H. O.; YANDELL, M.; EVANS, C. A.; HOLT, R. A.; GOCAYNE, J. D.; AMANATIDES, P.; BALLEW, R. M.; HUSON, D. H.; WORTMAN, J. R.; ZHANG, Q.; KODIRA, C. D.; ZHENG, X. H.; CHEN, L.; SKUPSKI, M.; SUBRAMANIAN, G.; THOMAS, P. D.; ZHANG, J.; MIKLOS, G. L. G.; NELSON, C.; BRODER, S.; CLARK, A. G.; NADEAU, J.; MCKUSICK, V. A.; ZINDER, N.; LEVINE, A. J.; ROBERTS, R. J.; SIMON, M.; SLAYMAN, C.; HUNKAPILLER, M.; BOLANOS, R.; DELCHER, A.; DEW, I.; FASULO, D.;

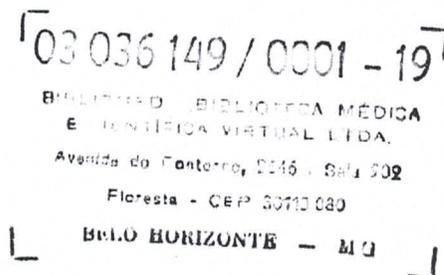
DECLARAÇÃO

Declaramos para os fins quẽ se fizerem necessários, que Gabriel Costa de Carvalho Graduado em Biomedicina pela UNIPAC, autor do trabalho “**Terapia Gênica: o Rumo de uma Nova Medicina**”, cedeu o direito de publicação no site da BIBLIOMED BIBLIOTECA MÉDICA E CIENTÍFICA VIRTUAL LTDA, para que o mesmo seja veiculado por meio de mídia eletrônica, através de acesso on-line pela Web, na base de teses e monografias da Bibliomed (www.bibliomed.com.br) por tempo indeterminado.

Tal conteúdo foi avaliado pelo Editorial da Bibliomed, considerando a qualidade e interesse para publicação e interesse de usuários do site.

Firmamos a presente declaração, atestando sua veracidade.

Belo Horizonte, 2 de dezembro de 2009.



BIBLIOMED BIBLIOTECA MÉDICA E CIENTÍFICA VIRTUAL LTDA