

A UTILIZAÇÃO DE VÍRUS PARA ENTRAR NA CÉLULA E ALTERAR SEU DNA PARA O TRATAMENTO DE LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA

Marcela Narriman Murad Vieira¹

RESUMO

Esta pesquisa foi formulada com o objetivo de apresentar a utilização de vírus, através da terapia gênica, para o tratamento Leucodistrofia Metacromática (LDM), uma patologia de caráter autossômico recessivo, causada pela deficiência da enzima arilsulfatase A, a evolução clínica da LDM cursa fundamentalmente com alterações neurológicas. A Terapia Gênica é a forma de tratamento que consiste na transferência de material genético exógeno para dentro de células de um indivíduo, objetivando conferir um benefício, melhorar alguma função defeituosa ou sanar alguma deficiência causada por um gene anormal. Com a utilização desta terapia é capaz de inserir genes ARSA funcionais nas células-tronco, produzindo as enzimas funcionais e as reproduzindo, atingindo o cérebro, local mais afetado pela doença, assim freando a progressão da Leucodistrofia Metacromática.

Palavras-chave: Vírus; Leucodistrofia Metacromática; Terapia Gênica.

1 INTRODUÇÃO

A Terapia Gênica é um tratamento que busca inserir um gene em uma célula, em busca de um resultado benéfico para a saúde de um paciente. Para isso, os cientistas precisam inserir um gene no núcleo da célula e fazer com que o organismo produza a proteína em deficiência. Os pesquisadores costumam usar como veículo desse gene um vírus ou retrovírus, pois esses vetores conseguem alterar o material genético de seu hospedeiro. Dentro da célula, o novo gene passa a fazer parte de seu DNA, e pode ser usado para tratar alguma doença.

Grande parte das pesquisas sobre terapia gênica utiliza adenovírus como vetores, pois eles são capazes de infectar com grande eficiência um conjunto maior de tecidos. O problema é que eles fazem a entrega do gene terapêutico de um modo que ele fica ativo apenas durante um curto período de tempo. Já os lentivirus tem a capacidade de fazer com que esses genes sejam inseridos de forma estável nas células. A importância dessa pesquisa é que os efeitos podem ser duradouros (VENTURA, 2013).

¹ Acadêmica do 7º semestre do curso de Biomedicina da Faculdade São Francisco de Barreiras – FASB, Barreiras/BA. E-mail: contabilprime@hotmail.com

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 TERAPIA GENÉTICA

2.1.1 Conceito

Terapia genética ou Geneterapia é a inserção de genes nas células e tecidos de um indivíduo para o tratamento de uma doença; em especial, doenças hereditárias. A terapia genética visa a suplementar com alelos funcionais aqueles que são defeituosos ou mortos. Embora a tecnologia ainda esteja num estado inicial, tem sido usada com algum sucesso.

A Leucodistrofia Metacromática é causada por mutações no gene ARSA, importante para o sistema nervoso. Os bebês com essa doença são aparentemente saudáveis no nascimento, mas em algum ponto de seu desenvolvimento eles começam a perder gradualmente as habilidades cognitivas e motoras, sem nenhum tratamento capaz de frear o processo neurodegenerativo – que acabará por levar á óbito a criança.

2.1.2 Histórico

Na década de 80, avanços na biologia molecular já permitiam que os genes humanos fossem sequenciados e clonados. Cientistas que procuravam por um método para facilitar a produção de proteínas — tais como insulina — pesquisaram a introdução de genes humanos no DNA de bactérias. As bactérias, geneticamente modificadas, passaram, então, a produzir a proteína correspondente, que podia ser recolhida e injetada em pessoas que não a podiam produzir naturalmente.

Em 14 de setembro de 1990 pesquisadores do National Institutes of Health, nos Estados Unidos, realizaram a primeira terapia genética autorizada em Ashanti de Silva, de 4 anos de idade. Nascida com uma rara doença genética chamada Imunodeficiência Combinada Grave, ela não tinha um sistema imunológico saudável, e era vulnerável a todos os germes com que tivesse contato. Crianças com essa doença geralmente desenvolvem muitas infecções e raramente sobrevivem à idade adulta.

Na terapia genética realizada em Ashanti, os médicos recolheram glóbulos brancos do corpo da criança, e cultivaram as células em laboratório. No segundo momento, inseriram o gene que faltava nas células e reintroduziram os glóbulos brancos geneticamente modificados na corrente sanguínea da paciente. Exames de laboratório mostraram que a terapia fortaleceu o sistema imunológico de Ashanti; ela parou de contrair resfriados recorrentes e pôde voltar a frequentar a escola. Esse procedimento não a curou; os leucócitos

geneticamente modificados só funcionaram por poucos meses, e o processo teve de ser frequentemente repetido.

Embora essa explicação simplificada de terapia genética possa soar como um final feliz, é apenas um capítulo inicial otimista numa longa história. O percurso até a primeira terapia genética autorizada foi conturbado e cheio de controvérsia. A biologia da terapia genética em humanos é muito complexa, e há ainda muitas técnicas que precisam ser desenvolvidas e doenças que precisam ser entendidas de maneira mais completa antes que a terapia genética possa ser usada apropriadamente.

Cientistas tomaram a iniciativa de tentar introduzir genes diretamente nas células humanas, focando doenças causadas por defeitos em genes simples, tais como fibrose cística, hemofilia e distrofia muscular. Entretanto, esse objetivo foi muito mais difícil de se alcançar que modificar bactérias simples, principalmente por causa dos problemas envolvidos no transporte de grandes seções de DNA e no seu posicionamento no lugar certo do genoma.

2.1.3 Processo Básico

Na maioria dos estudos a respeito de terapia genética, um gene "normal" é inserido no genoma para substituir um gene "anômalo" causador de doença. Uma molécula transportadora, chamada vetor, precisa ser usada para se enviar o gene terapêutico para as células-alvo do paciente. Atualmente, o vetor mais comum é um vírus que foi geneticamente alterado para transportar DNA humano normal. Vírus evoluíram de forma a encapsular e transportar seus genes para células humanas, causando doenças. Cientistas tentaram aproveitar essa capacidade e manipular o genoma dos vírus, removendo os genes causadores de doença e inserindo genes terapêuticos.

Células-alvo, tais como células do fígado ou dos pulmões do paciente, são infectadas com o vetor. O vetor, então, descarrega seu material genético, contendo o gene terapêutico humano, na célula-alvo. A produção de proteínas funcionais pelos genes terapêuticos restauram as células-alvo a um estado de normalidade.

As terapias gênicas costumam funcionar muito bem em testes com animais em laboratório, mas apresentam problemas quando são transferidas para a clínica. Algumas vezes, o gene terapêutico é produzido em quantidades muito pequenas ou por um período muito curto, abreviando o tratamento. Outras vezes, a terapia acaba por levar ao desenvolvimento de câncer. Para tentar contornar esses problemas, os pesquisadores

italianos estudaram a utilização de um tipo especial de vírus: os lentivirus, que agem lentamente e são capazes de deixar, de modo permanente, seu DNA na célula hospedeira. O HIV é, justamente, um dos lentivirus mais conhecidos e estudados.

2.1.4 Tipos

Teoricamente é possível transformar tanto células somáticas (a maior parte de células do corpo) quanto células germinativas (espermatozoides, óvulos, e suas células-tronco precursoras). Todas as terapias genéticas realizadas até agora em humanos foram dirigidas a células somáticas, enquanto a engenharia de células germinativas continua altamente controversa. Para que os genes introduzidos sejam transmitidos normalmente para a descendência, é necessário não apenas que sejam inseridos na célula, mas também que sejam incorporadas aos cromossomos por recombinação genética.

A terapia genética com genes somáticos pode ser dividida em duas grandes categorias: *ex vivo* (em que as células são modificadas fora do corpo e, então, transplantadas novamente para o paciente) e *in vivo* (em que os genes são modificados nas células ainda dentro do corpo). Abordagens *in vivo* baseadas em recombinação são especialmente incomuns.

2.1.5 Métodos

Existe uma variedade de métodos diferentes para substituir ou reparar os genes focados na terapia genética, abaixo alguns métodos:

- Um gene normal pode ser inserido num local não específico no genoma para substituir um gene problemático. Essa abordagem é a mais comum.
- Um gene anômalo pode ser trocado por um gene normal por meio da recombinação.
- O gene anômalo pode ser reparado por meio de mutação reversa seletiva, que devolve ao gene suas funções normais de tinguelo.
- A regulação (o grau em que um gene está ativo ou inativo) de um gene em particular pode ser alterada.

2.1.6 Vetores

2.1.6.1 Vírus

Os Vírus atacam seus hospedeiros e introduzem seus materiais genéticos nas células hospedeiras como parte de seus ciclos de replicação. Esse material genético contém

'instruções' básicas sobre como produzir mais cópias desses vírus, "sequestrando" o mecanismo de produção normal do corpo para servir às necessidades do vírus. A célula hospedeira recebe essas instruções e produz cópias adicionais do vírus, infectando mais e mais células. Alguns tipos de vírus fisicamente inserem seus genes no genoma do hospedeiro (uma característica que define os retrovírus, como o HIV).

Médicos e biólogos moleculares perceberam que vírus como esses podiam ser usados como veículos para levar genes 'bons' ao interior de células humanas. Primeiro, um cientista remove os genes causadores de doença do vírus. Então, substitui-se esses genes com genes que produzem o efeito desejado (por exemplo, produção de insulina). Esse procedimento precisa ser feito de maneira a não se retirar os genes que dão ao vírus a capacidade de inserir seus genes no genoma do hospedeiro. Para tanto, é necessário profundo conhecimento sobre os genes do vírus e suas funções.

2.1.6.2 Retrovírus

O material genético de retrovírus está na forma de RNA, enquanto o material genético de seus hospedeiros está na forma de DNA. Quando um retrovírus infecta uma célula hospedeira, ele introduz seu RNA junto com algumas enzimas na célula. Essa molécula de RNA do retrovírus deve produzir uma cópia de DNA a partir de si própria. O processo de produzir uma cópia de DNA a partir de uma molécula de RNA é denominado transcrição reversa. Esta é executada por uma das enzimas virais chamada de transcriptase reversa. Após essa cópia de DNA ser produzida e estar livre no núcleo da célula hospedeira, ela deve ser incorporada no genoma da célula hospedeira. Isto é, ela deve ser inserida nas grandes moléculas de DNA na célula (os cromossomos). Este processo é feito por uma outra enzima viral chamada integrase.

Quando o material genético do vírus está incorporado ao material genético da célula hospedeira, pode-se dizer que a célula hospedeira está modificada por conter um novo gene. Se essa célula hospedeira se dividir posteriormente, todas as suas descendentes conterão os novos genes.

Um dos problemas da terapia gênica usando retrovírus é que a enzima integrase pode inserir o material genético do vírus em qualquer posição arbitrária no genoma do hospedeiro. Se acontece do material genético ser inserido no meio de um dos genes originais da célula hospedeira, estes genes serão interrompidos (mutagênese por inserção). Se acontece do gene ser um que regula a divisão celular, uma divisão celular incontrolável (isto é, câncer) pode

ocorrer. Este problema começou recentemente a ser tratado pela utilização de nucleases de dedo de zinco, CRISPR ou pela inclusão de certas sequências tal como a região de controle do locus da beta-globina^[6] para direcionar o sítio de integração para sítios cromossômicos específicos.

Testes de terapia genética para tratar a imunodeficiência combinada grave (IDCG) foram interrompidos ou restritos nos EUA quando foi relatada leucemia em três de onze pacientes tratados no teste de terapia genética de IDCG ligada a X de Terapia Francesa (XIDCG). Dez pacientes de XIDCG tratados na Inglaterra não apresentaram leucemia até hoje e tiveram sucesso similar na reconstituição imune. Teste de terapia gênica para tratar IDCG devida a deficiência da enzima Adenosina Desaminase (ADA) continuam com relativo sucesso nos EUA, Itália e Japão.

2.1.6.3 Adenovírus

Adenovírus são vírus que possuem seu material genético na forma de um DNA dupla-hélice. Eles causam infecções respiratórias, intestinais e oculares em humanos. Quando infectam uma célula hospedeira, esses vírus introduzem sua molécula de DNA. O material genético dos adenovírus não é incorporado ao material genético da célula hospedeira. A molécula de DNA fica livre no núcleo da célula hospedeira, e as instruções nessa molécula de DNA extra são transcritas como qualquer outro gene. A única diferença é que esses genes extras não são replicados quando a célula está prestes a se dividir, assim os descendentes daquela célula não terão o gene extra. Como resultado, no tratamento com o adenovírus, será necessária uma re-administração em uma população celular crescente. Este sistema tem demonstrado real promessa no tratamento do câncer e de fato o primeiro produto de terapia genética a ser licenciado é o adenovírus.

2.1.6.4 Vírus Adeno-associados

Pertencem à família Parvoviridae, são vírus pequenos com um genoma de DNA de fita simples. Um vírus adeno-associado selvagem pode inserir seu material genético em um local específico no cromossomo 19 (humano). Porém a versão recombinante deste vírus, que não contém qualquer gene viral, apenas o gene terapêutico, não se integra ao genoma hospedeiro. Ao contrário, o genoma viral recombinante funde suas extremidades por recombinação ITR (sigla em inglês para **R**epetições **T**erminais **I**nvertidas) para formar uma versão circular, episomal que é referida como responsável pela expressão gênica de longa

duração. Há poucas desvantagens em usar vírus adeno-associados, incluindo a pequena quantidade de DNA que podem carregar (baixa capacidade) e a dificuldade em produzi-los. Este tipo de vírus está sendo usado, entretanto, porque não é patogênico (a maioria das pessoas porta este vírus inofensivo). Diferente dos adenovírus, a maioria das pessoas tratadas com vírus adeno- associados não fará uma resposta imune contra o vírus ou contra as células que foram tratadas de modo bem-sucedido com eles. Dois tecidos onde o vírus parece ser particularmente útil são o músculo e o olho. Entretanto, também foram iniciados experimentos clínicos utilizando vetores de vírus adeno-associados para levar genes para o cérebro. Isto é possível porque vírus adeno-associados podem infectar células que não estão em divisão (quiescentes), como os neurônios onde seus genomas podem ser expressados por muito tempo.

2.2 LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA

2.2.1 Conceito

A leucodistrofia metacromática (LDM) é uma doença genética e hereditária originada num gene autossômico recessivo e causada pela deficiência da enzima arilsulfatase A, responsável pela degradação de lipídios (gorduras). A não-degradação destes lipídios, leva a um acúmulo excessivo de sulfatídios, ocasionando a destruição rápida e progressiva do sistema nervoso. A Leucodistrofia Metacromática (LDM) é uma patologia de caráter autossômico recessivo, causada pela deficiência da enzima arilsulfatase A, a evolução clínica da LDM cursa fundamentalmente com alterações neurológicas

Quando existe uma alteração (erro) no metabolismo (conjunto de reacções enzimáticas que permitem a vida), uma das reacções metabólicas não se realiza com a devida eficácia e isto pode causar a acumulação de um determinado composto que não foi degradado, como os sulfatídeos no caso da LDM. Estas alterações dão lugar à doença nas crianças afetadas.

A LDM pertence a um grupo de doenças conhecidas como erros inatos do metabolismo. Os sintomas aparecem nos primeiros meses de vida ou até a fase adulta. Antes do aparecimento dos sintomas o indivíduo apresenta desenvolvimento das funções neurológicas completamente normal. Para diagnosticar a doença, um teste de sangue é suficiente para avaliar a falta da enzima modificada. Após as primeiras manifestações clínicas o quadro evolui rapidamente com a perda da capacidade de andar, sentar, falar, engolir, respirar sem auxílio de aparelhos, ouvir e enxergar.

A LDM é causada pela atividade deficiente da enzima arilsulfatase A (ARSA), a atividade deficiente da ARSA causa degradação de uma série de lipídeos sulfatados, que têm como principal função constituir a bainha de mielina das células do sistema nervoso central e periférico. O acúmulo de sulfatados no sistema nervoso central e periférico é o principal responsável pelas manifestações patológicas da doença. A suspeita do diagnóstico se dá quando o paciente começa a apresentar sinais de perda de capacidades motoras, intelectuais e cognitivas. A LDM não tem cura, tem curso progressivo e a deterioração do sistema nervoso coincide com a regressão clínica e perda das habilidades funcionais e cognitiva.

O diagnóstico pós-natal é feito por meio da história clínica, avaliação física e ressonância magnética, estudo neurofisiológico e exames laboratoriais. O diagnóstico deve ser confirmado por meio da dosagem da enzima arilsulfatase A em leucócitos obtidos do sangue periférico e presença de sulfatídios em excesso na urina. O diagnóstico pré-natal pode ser realizado pela atividade enzimática ou constatação de mutações em vilosidades coriônicas ou células do líquido amniótico. Vale destacar que o aconselhamento genético familiar é fundamental quando diagnosticado um caso de LDM na família, prevenindo novos casos⁴⁻⁶. Pode ser classificada em três formas clínicas de acordo com a gravidade da manifestação clínica e idade em que apareceram os primeiros sinais: forma infantil (ou infantil tardia), forma juvenil e adulta, sendo a forma infantil a mais prevalente.

2.2.2 Apresentação

Cada uma das reações do metabolismo que vai dar lugar aos compostos que formam o nosso corpo está determinada geneticamente (codificada). Todos herdamos de nossos pais a informação correta ou alterada que determina que se realize cada um destes processos do metabolismo. Se herdamos uma informação errônea ou parcialmente alterada, aquela reação metabólica funcionará mal e pode chegar a produzir uma doença metabólica hereditária. No caso de LMC, as mutações no gene ARSA que codifica a enzima arilsulfatase A, causam a deficiência na actividade desta enzima. Após as primeiras manifestações clínicas o quadro evolui rapidamente com a perda da capacidade de andar, sentar, falar, engolir, respirar sem auxílio de aparelhos, ouvir e enxergar.

Estudos sobre a LDM são escassos, os relatos de caso existentes indicam que as manifestações clínicas são heterogêneas e que podem variar entre indivíduos de uma mesma família. No Brasil, foram publicados três artigos com relatos de casos de crianças com LDM, nestes todas as crianças tinham até três anos de idade e nenhum dos estudos teve como

objetivo principal descrever as manifestações neuromotoras apresentadas pelos pacientes.

A criança vai desenvolver uma doença neurológica, leucodistrofia metacromática. Pode manifestar-se, segundo o grau do defeito enzimático, nos primeiros anos de vida, na idade juvenil ou na vida adulta.

A forma infantil pode iniciar-se entre os 12 a 24 meses de vida com quedas frequentes e perda da marcha (deambulação), deterioração cognitiva e da linguagem, atingimento visual e epilepsia. A deterioração pode ser mais ou menos rápida e variável em cada doente.

A forma de início juvenil começa com alterações do comportamento, dificuldade de aprendizagem, alterações progressivas da marcha, ataxia, convulsões e deterioração global lenta.

Finalmente a forma adulta cursa com demência, alterações do comportamento, ataxia e convulsões.

Até o momento não existe tratamento e a doença evolui inexoravelmente para o óbito. Uma dieta sem gordura não impede a evolução da doença, pois como as gorduras estão relacionadas com as funções vitais do organismo, mesmo quando ela não é ingerida, ocorre a biossíntese, ou seja, a produção da gordura pelo próprio organismo. A literatura médica mundial menciona uma incidência de 1:40.000 nascidos.

2.3. UTILIZAÇÃO DA TERAPIA GÊNICA USANDO O VÍRUS DO HIV PARA CURAR A LEUCODISTROFIA METACROMÁTICA

Nas últimas décadas, no entanto, os pesquisadores têm desenvolvido um método capaz de corrigir diretamente genes defeituosos: a terapia genética. Para isso, retiram células-tronco da medula óssea dos pacientes. Em um laboratório, os cientistas utilizam um vírus para entrar na célula e alterar seu DNA, inserindo o gene desejado. Os pacientes, então, recebem de volta as células-tronco, e passam a produzir a proteína necessária. Como o vírus é alterado geneticamente, ele não é capaz de provocar patologia no organismo.

As terapias gênicas costumam funcionar muito bem em testes com animais em laboratório, mas apresentam problemas quando são transferidas para a clínica. Algumas vezes, o gene terapêutico é produzido em quantidades muito pequenas ou por um período muito curto, abreviando o tratamento. Outras vezes, a terapia acaba por levar ao desenvolvimento de câncer. Para tentar contornar esses problemas, os pesquisadores italianos

estudaram a utilização de um tipo especial de vírus: os lentivirus, que agem lentamente e são capazes de deixar, de modo permanente, seu DNA na célula hospedeira. O HIV é, justamente, um dos lentivirus mais conhecidos e estudados.

A Leucodistrofia Metacromática é causada por mutações no gene ARSA, importante para o sistema nervoso. Os bebês com essa doença são aparentemente saudáveis no nascimento, mas em algum ponto de seu desenvolvimento eles começam a perder gradualmente as habilidades cognitivas e motoras, sem nenhum tratamento capaz de frear o processo neurodegenerativo – que acabará por levar à óbito a criança.

A partir de uma técnica parecida, os pesquisadores italianos inseriram genes ARSA funcionais nas células-tronco desses pacientes e as devolveram ao corpo. Ali, elas começaram a produzir as enzimas funcionais e a se reproduzir, atingindo o cérebro das crianças, o local mais afetado pela doença. Pesquisadores afirmam que a terapia gênica foi capaz de frear a progressão da Leucodistrofia Metacromática. Nesse caso, o mecanismo terapêutico foi mais sofisticado: as células-tronco corrigidas atingiram o cérebro por meio do sangue e liberaram a proteína correta, que é acumulada pelas células nervosas sobreviventes.

A suspeita do diagnóstico se dá quando o paciente começa a apresentar sinais de perda de capacidades motoras, intelectuais e cognitivas. A LDM não tem cura, tem curso progressivo e a deterioração do sistema nervoso coincide com a regressão clínica e perda das habilidades funcionais e cognitiva. O diagnóstico baseia-se em dados clínicos, na neuroimagem, em estudos de velocidade de condução motora, no estudo enzimática da arilsulfatase A nos leucócitos ou em cultura de fibroblastos e no estudo mutacional no gene ARSA.

Até o momento não existe tratamento e a doença evolui inexoravelmente para o óbito. Uma dieta sem gordura não impede a evolução da doença, pois como as gorduras estão relacionadas com as funções vitais do organismo, mesmo quando ela não é ingerida, ocorre a biossíntese, ou seja, a produção da gordura pelo próprio organismo. A terapia gênica tem sido recentemente descoberta como um meio possível para tratar a doença.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo geral deste trabalho foi apresentar a utilização de vírus, através da terapia genética, para o tratamento Leucodistrofia Metacromática (LDM), através de uma pesquisa bibliográfica que mostrou as dificuldades encontradas pela medicina para deixar esse novo

método de tratamento com uma taxa de eficácia elevada, necessitando de mais pesquisas para diminuir os efeitos adversos e complicações decorrentes da terapia.

O conceito da terapia gênica iniciou durante os anos 60. O primeiro paciente a ser tratado com a terapia gênica era uma menina, criança, de quatro anos tratada no Centro Clínico de NIH em 1990. Teve uma doença congênita chamada a deficiência do deaminase (ADA) da adenosina que afeta severamente a imunidade e a capacidade de combater infecções (MANDAL, 2014).

A Leucodistrofia Metacromática afeta o desenvolvimento do sistema nervoso, podendo levar a morte. Como o defeito está nos genes, essa doença era considerada, até pouco tempo, incurável. Agora, com a descoberta da Terapia gênica, antes vista como uma experimentação que só serviria para gerações futuras, pode ajudar diversas pessoas a se tratarem e terem uma expectativa de cura, levando a uma vida saudável.

Existem alguns obstáculos que devem ser enfrentados pelos pesquisadores para decidirem se é viável ou não a terapia gênica, como: Possibilidade de induzir um tumor - Se o DNA é integrado no lugar errado, no genoma, por exemplo, em um gene supressor tumoral, poderia induzir um tumor. Além disso, os distúrbios que surgem a partir de mutações em um único gene são os melhores candidatos para a terapia gênica.

Infelizmente, alguns dos distúrbios que ocorrem mais comumente, tais como doença cardíaca, pressão arterial elevada, a doença de Alzheimer, artrite, e diabetes, são causados por variações dos efeitos combinados de muitos genes. Distúrbios de vários genes como esses, seriam especialmente difíceis de tratar eficazmente usando terapia gênica.

Diante do exposto, é possível concluir que a utilização da terapia genética para o tratamento do Leucodistrofia Metacromática requer ainda mais teste e pesquisas, buscando resultados mais eficazes e diminuindo a probabilidade de fracasso com o tratamento.

4. REFERÊNCIAS

CUNHA, Marco Aurélio. **Leucodistrofia Metacromática**. Disponível em: <http://estudandoraras.blogspot.com.br/2009/06/leucodistrofia-metacromatica_30.html>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.

MANDAL, Ananya. **História da Terapia Gêtica**. Disponível em: <[https://www.news-medical.net/health/Gene-Therapy-History-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Gene-Therapy-History-(Portuguese).aspx)>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.

ROSA, Guilherme. **Terapia genética usa vírus do HIV para curar doenças raras**. Disponível em:

<<http://veja.abril.com.br/ciencia/terapia-genetica-usa-virus-do-hiv-para-curar-doencas-raras/>>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.

VENTURA, Armando Morais. **Terapia genética usa vírus do HIV para curar doenças raras.** Disponível em: <http://veja.abril.com.br/ciencia/terapia-genetica-usa-virus-do-hiv-para-curar-doencas-raras/>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.