

INSTRUÇÃO NORMATIVA N.º 9

A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições legais e regulamentares, resolve:

Art. 1º A Intervenção Genética em Seres Humanos obedecerá às normas constantes da presente Instrução Normativa.

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Luiz Antonio Barreto de Castro
Presidente da CTNBio

ANEXO NORMAS SOBRE INTERVENÇÃO GENÉTICA EM SERES HUMANOS

1. Preâmbulo

A. Todo experimento de intervenção ou manipulação genética em humanos deve ser considerado como Pesquisa em Seres Humanos, enquadrando-se assim na Resolução n] 196, do Conselho Nacional de Saúde, e obedecendo aos princípios de autonomia, não maleficência, beneficência e justiça. Só serão examinadas propostas que satisfizerem todas as exigências da mencionada Resolução nº 196/96, como detalhado abaixo.

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.

2. Escopo

De acordo com o art. 8º da Lei 8.974/95, é vedada a intervenção em material genético humano *in vivo*, exceto para o tratamento de defeitos genéticos. Entende-se como defeitos genéticos aqueles herdados ou adquiridos durante a vida e que causam problemas à saúde humana.

Defeitos genéticos podem ser causados por: mutação de ponto, inserção, deleção, translocação, amplificação, perda ou ganho cromossômico, ou pela presença de genoma ou parte de genoma de organismos infecciosos.

Terapia gênica somática ou transferência gênica para células somáticas são técnicas de intervenção ou manipulação genética que visam a 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 defeitos genéticos, ou para prevenir a sua ocorrência.

3. Requerimentos para Propostas de Intervenção ou Manipulação Genética em Humanos

Devem ser encaminhados para avaliação pela CTNBio:

- a. Certificado de Qualidade em Biossegurança - CQB, do laboratório ou instituição;
- b. Descrição da proposta, com resposta aos quesitos discriminados;
- c. Protocolo experimental detalhado, incluindo seqüência nucleotídica completa do gene a ser transferido e do vetor;
- d. documentação demonstrando aprovação pelos Comitês Internos de Ética em Pesquisa como estipulado pela Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, incluindo documentos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito da pesquisa, de acordo com a referida resolução;
- e. Os currículos dos investigadores em forma abreviada, informando particularmente experiência prévia com intervenção ou manipulação genética em humanos.

4. Quesitos Específicos para Propostas de Intervenção ou Manipulação Genética em Humanos

4.1. Objetivos e Estratégias da Proposta

4.1.1. Intervenção genética com Objetivos Terapêuticos

4.1.1.1. Porque a doença selecionada para tratamento através da intervenção genética em humanos é boa candidata para este tratamento?

4.1.1.2. Descreva o curso natural da doença selecionada para tratamento. Existem critérios objetivos para quantificar a atividade e gravidade da doença? O conhecimento da evolução clínica da doença permitirá uma avaliação precisa da eficácia da intervenção genética em humanos?

4.1.1.3. O protocolo está elaborado para prevenir as manifestações da doença, para impedir a progressão da doença depois do aparecimento dos primeiros sintomas ou para reverter as manifestações da doença em pacientes seriamente doente?

4.1.1.4. Existem terapias alternativas? Quais são as suas vantagens e desvantagens em comparação com a intervenção genética em humanos?

4.1.1.5. Existem experiência de intervenção genética em humanos para esta doença em outros países? Caso positivo, apresente literatura a respeito.

4.1.2. Intervenção Genética com Outros Objetivos

4.1.2.1. Qual o objetivo do protocolo de intervenção genética?

4.1.2.2. Quais células serão alvo da intervenção genética? Porque é necessária a intervenção genética?

4.1.2.3. Existem metodologias alternativas? Quais são as suas vantagens e desvantagens em comparação com a intervenção?

4.2. Delineamento Experimental, Riscos e Benefícios Antecipados.

4.2.1. Estrutura e Características do Sistema Biológico

Apresente descrição completa dos métodos e reagentes a serem empregados na intervenção genética e a razão estratégica do seu uso. Aborde especificamente os seguintes pontos:

4.2.1.1. No caso de transferência gênica, qual a estrutura do DNA clonado a ser utilizado?

4.2.1.1.1. Descreva a origem do gene (genômico ou cDNA), o veículo e a forma da transferência gênica. Forneça a seqüência nucleotídica completa, um mapa detalhado da construção e evidências de que o material a ser transferido corresponde ao pretendido.

4.2.1.1.2. Quais elementos regulatórios estão presentes na construção (e.g. promotores, "enhancers", sítios de poliadenilação, origens de replicação, etc). De qual fonte originaram-se estes elementos? Sumarize o que é conhecido sobre o caráter regulatório de cada elemento. O gene a ser transferido é potencialmente oncogênico? Caso positivo, quais os riscos acarretados e quais medidas poderão ser tomadas para reduzir estes riscos?

4.2.1.1.3. Resuma as etapas do processo de obtenção da construção.

4.2.1.2. Qual é a estrutura do material que será administrado ao paciente e como será administrado?

4.2.1.2.1. Descreva a preparação, estrutura e composição dos materiais que serão administrados ao paciente ou usados para tratar as células do paciente:

4.2.1.2.1.1. Caso seja DNA, qual é a sua pureza (tanto em termos de ser uma espécie molecular única, quanto em termos de contaminação com proteínas, carboidratos lipídeos, etc.). Quais os testes usados para estimar esta pureza e qual a sua sensibilidade?

4.2.1.2.1.2. Caso seja vírus, como foi preparado a partir da construção de DNA? Em quais células foram crescidos os vírus? Qual o meio e o soro usados? Como foi feita a purificação do vírus? Qual é a sua estrutura e grau de pureza? Quais providências foram tomadas (e qual a sua eficiência) para detectar a presença de contaminação por outros vírus, DNAs, RNAs e/ou proteínas?

4.2.1.2.1.3. Se foi usado o co-cultivo, quais células foram utilizadas? Quais providências foram tomadas (e qual a sua eficiência) para detectar a presença de qualquer contaminação?

4.2.1.2.2. Descreva qualquer outro material que será usado na preparação do inóculo. Por exemplo, se um vetor viral está sendo usado, qual a natureza do vírus "helper"? Se outras partículas carreadoras forem ser usadas, qual a sua natureza?

4.2.2. Estudos Pré-Clínicos, Incluindo Estudos para Levantamento de Riscos
Descreva resultados de experimentos em culturas de células ou animais experimentais que demonstrem a segurança, eficácia e viabilidade dos procedimentos propostos. Explique porque o modelo experimental escolhido é o mais apropriado.

4.2.2.1. Sistema de transferência gênica.

4.2.2.1.1. Quais são as células alvo para a transferência gênica? Quais células serão tratadas *ex vivo* e reintroduzidas no paciente? Como será feita a seleção das células alvo que recebem o DNA transferido? Como será feita a caracterização das células antes e depois do tratamento? Quais os dados teóricos e práticos que permitem assumir que apenas as células alvo receberão o material genético?

4.2.2.1.2. Qual é a eficiência do sistema de transferência gênica? Qual o percentual previsto de células alvo que conterá o DNA transferido?

4.2.2.1.3. Como será feita a monitorização da estrutura das seqüências transferidas e qual a sensibilidade da análise? O DNA transferido é extra-cromossômico ou integrado? O DNA transferido poderá sofrer rearranjos?

4.2.2.1.4. Quantas cópias do DNA transferido espera-se que estejam presentes por células? Qual a estabilidade do DNA transferido?

4.2.2.2. Transferência Gênica e Expressão em Termos de Persistência e Estabilidade Estrutural

4.2.2.2.1. Quais modelos de cultura de tecidos e de animais experimentais foram usados em estudos laboratoriais para avaliar a eficiência *in vitro* e *in vivo* do sistema de transferência gênica? Quais as similaridades e diferenças destes modelos em comparação com a proposta de transferência gênica para humanos:?

4.2.2.2.2. Qual é o nível mínimo de transferência e/ou expressão gênica que estima-se ser necessário para sucesso da transferência gênica? Como foi determinado este nível?

4.2.2.2.3. Explique em detalhes os experimentos pré-clínicos que demonstram a eficiência do sistema de transferência, em termos de níveis mínimos necessários para a transferência gênica.

4.2.2.2.4. O DNA integrado modifica a expressão de outros genes? Como foi verificado isto?

4.2.2.2.5. Em qual percentagem das células que receberam o DNA transferido ocorre expressão do gene? O produto do gene transferido é biologicamente ativo? Qual proporção da atividade normal é derivada do gene transferido? Como foi verificado isto?

4.2.2.2.6. O gene transferido expressa-se em células além das células-alvo? Como foi verificado isto?

4.2.2.3. Sistemas de Transferência Baseados em Retrovírus

4.2.2.3.1. Quais os tipos celulares que serão infectados com o vetor retroviral? Espera-se que haja produção de partículas virais?

4.2.2.3.2. Quão estáveis são o vetor retroviral e o provírus resultante em termos de deleção, rearranjos, recombinação e mutação? Que informação está disponível sobre o risco de recombinação com retrovírus endógenos ou outros vírus que porventura possam estar presentes nas células do paciente?

4.2.2.3.3. Existem alguma evidência de que a transferência gênica possa vir a ter efeitos adversos (e.g. desenvolvimento de neoplasias, mutações deletérias, regeneração de partículas infecciosas, respostas imunes, etc.)? Quais precauções serão tomadas para minimizar a patogenicidade?

4.2.2.3.4. Há alguma evidência experimental de que o vetor possa penetrar em células não tratadas, especialmente células germinativas? Qual a sensibilidade destas análises?

4.2.2.3.5. O protocolo de transferência gênica para humanos foi testado em primatas não-humanos ou outros animais de laboratório? Especificamente, há alguma evidência de recombinação do vetor retroviral com retrovírus endógenos ou outras seqüências virais presentes nestes animais?

4.2.2.4. Sistemas de Transferências Gênica Não-Retrovirais

4.2.2.4.1. Quais experimentos em animais foram realizados para determinar se há riscos de conseqüências indesejadas ou deletérias do protocolo de terapia gênica (incluindo inserção de DNA em células não-alvo, especialmente

células germinativas)? Por quanto tempo foram os animais estudados Após o tratamento? Quais outros estudos de biossegurança foram realizados?

4.2.3. Procedimentos Clínicos, Incluindo Monitorização dos Pacientes

Descreva o tratamento que será administrado aos pacientes e os métodos diagnósticos que serão usados para monitorizar a resposta ao tratamento. Descreva estudos clínicos prévios com métodos iguais ou similares. Especificamente responda:

4.2.3.1. Serão removidas células do paciente para tratamento *ex vivo*? Descreva os tipos e números das células e os intervalos nos quais elas serão retiradas.

4.2.3.2. Os pacientes serão tratados para eliminar ou reduzir o número de células alvo não-modificadas (e.g. radiação ou quimioterapia)?

4.2.3.3. Quais células tratadas (ou combinações vetor/DNA) serão administradas aos pacientes? Como será feita a administração? Qual o volume a ser usado? O tratamento será único ou múltiplo? Qual o espaçamento dos tratamentos?

4.2.3.4. Como será averiguada a transferência e expressão do gene nas células do paciente? A expressão será examinada em células não-alvo?

4.2.3.5. Quais estudos serão realizados para avaliar presença e efeitos de contaminantes?

4.2.3.6. Quais são os pontos finais clínicos do estudo? Haverá mensurações quantitativas para avaliar a história natural da doença? Como será feito o seguimento clínico dos pacientes?

4.2.3.7. Quais as expectativas em relação aos maiores efeitos benéficos ou adversos da transferência gênica? Quais medidas serão tomadas para impedir ou reverter reações adversas, caso elas ocorram?

4.2.3.8. Se um paciente tratado vier a falecer, quais estudos especiais serão realizados *post-mortem*?

4.2.4. Considerações de Saúde Pública

Discuta o possível risco da transferência gênica para outras pessoas além dos pacientes.

Especialmente, responda às seguintes perguntas:

4.2.4.1. Há qualquer risco para a saúde pública?

4.2.4.2. Há possibilidade de que o DNA transferido alastre-se dos pacientes para outras pessoas ou o meio ambiente?

4.2.4.3. Quais precauções serão tomadas para evitar o afastamento?

4.2.4.4. Quais medidas serão tomadas para minimizar o risco para a saúde pública?

4.2.4.5. Tendo em vista riscos potenciais para a progenia dos pacientes, incluindo transmissão vertical, serão tomadas medidas contraceptivas?

4.2.5. Qualificação dos Pesquisadores e Adequação das Facilidades Clínicas e Laboratoriais

Descreva o treinamento e experiência da equipe. Descreva as facilidades clínicas e laboratoriais que serão usadas. Especificamente, responda às perguntas:

4.2.5.1. Descreva as instalações onde serão preparados os materiais a serem usados na intervenção genética, incluindo condições ambientais para a eventual manipulação de células *ex-vivo*.

4.2.5.2. Quais profissionais estarão envolvidos nos estudos pré-clínicos e clínicos e quais são suas qualificações? Inclua currículos resumidos.

4.2.5.3. Em qual hospital ou clínica será feita a intervenção genética? Quais facilidades serão especialmente importantes para o estudo proposto? Os pacientes ocuparão leitos normais ou ficarão isolados? Onde residirão os pacientes no período de acompanhamento após a intervenção genética?

4.3. *Seleção dos pacientes*

Os critérios de seleção dos pacientes obedecerão as normas da Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde.

Estime o número de pacientes envolvidos no estudo. Descreva os procedimentos de seleção dos pacientes. Especificamente, responda aos seguintes quesitos:

4.3.1. Quantos pacientes serão tratados?

4.3.2. Quantos candidatos à intervenção genética poderão ser identificados por ano?

4.3.3. Qual o método de recrutamento dos pacientes?

4.3.4. Quais os critérios de seleção dos pacientes potenciais?

4.3.5. Caso haja mais candidatos para a intervenção genética do que vagas, quais critérios serão usados para selecionar os pacientes.