



Acta Ortopédica Brasileira

ISSN: 1413-7852

1atha@uol.com.br

Sociedade Brasileira de Ortopedia e
Traumatologia
Brasil

Pacheco da Costa, Rafael; Won Han, Sang; Castro Pochini, Alberto de; Reginato, Rejane
Daniele

Terapia gênica para osteoporose

Acta Ortopédica Brasileira, vol. 19, núm. 1, 2011, pp. 52-57

Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia

São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65719079012>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

TERAPIA GÊNICA PARA OSTEOPOROSE

GENE THERAPY FOR OSTEOPOROSIS

RAFAEL PACHECO DA COSTA, SANG WON HAN, ALBERTO DE CASTRO POCHINI, REJANE DANIELE REGINATO

RESUMO

A osteoporose é considerada um dos problemas de saúde mais comuns e sérios da população idosa mundial. É uma doença crônica e progressiva, caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo. A terapia gênica representa uma nova abordagem para o tratamento da osteoporose e tem como princípio devolver a função comprometida pelo metabolismo. Esta revisão visa focar os trabalhos relevantes desenvolvidos nos últimos anos, disponibilizados nas bases de dados médicas, e que utilizaram a terapia gênica para o tratamento da osteoporose em modelos animais, bem como, as perspectivas futuras desta terapia. A maioria dos estudos utiliza os genes BMPs, PTH e OPG na tentativa de restabelecer a massa óssea. Apesar da carência de novas moléculas, todos os genes empregados nos estudos se mostraram eficientes no tratamento da doença. Os benefícios que a terapia gênica proporcionará aos pacientes no futuro devem contribuir substancialmente para o aumento na qualidade de vida dos idosos. Em breve, protocolos clínicos envolvendo humanos irão beneficiar os indivíduos com osteoporose.

Descritores: Osteoporose. Terapia de genes. Ortopedia. Vetores genéticos.

Citação: Pacheco-Costa R, Han SW, Pochini AC, Reginato RD. Terapia gênica para osteoporose. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2011;19(1):51-7. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

ABSTRACT

Osteoporosis is considered one of the most common and serious problems affecting the elderly population worldwide. It is a chronic and progressive disease, characterized by decreased bone mass and degeneration of the microarchitecture of the bone tissue. Gene therapy represents a new approach in osteoporosis treatment, and its main function is to restore the compromised function in the metabolism. This review aims to elucidate the main studies on gene therapy in recent years, in the medical databases, that use gene therapy for the treatment of osteoporosis in animal models, as well as the future prospects of this therapy. The majority of the studies use the BMP, PTH and OPG genes, in an attempt to reestablish bone mass. Despite the lack of new molecules, all genes employed in these studies have proven to be efficient in the treatment of the disease. The benefits that gene therapy will provide for patients in the future should contribute substantially to increasing the quality of life for the elderly. Soon, clinical trials involving humans will benefit individuals with osteoporosis.

Keywords: Osteoporosis. Gene therapy. Orthopaedics. Genetic vectors.

Citation: Pacheco-Costa R, Han SW, Pochini AC, Reginato RD. Gene therapy for osteoporosis. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2011;19(1):52-7. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

A osteoporose é considerada uma doença crônica e progressiva, caracterizada pela diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo. Essas alterações levam ao aumento da fragilidade óssea e consequentemente, a um maior risco para fraturas.¹

Fraturas osteoporóticas são causas significativas de perda funcional e diminuição na qualidade de vida do indivíduo afetado. A perda mais acentuada de massa óssea ocorre nas mulheres a partir da menopausa, e está associada à insuficiência de estrogênio.² Dentre as fraturas decorrentes da osteoporose na pós-menopausa, a mais grave é a fratura de fêmur. Em um estudo desenvolvido por Jiang *et al.*³ no Canadá, o índice de mortalidade

alcançou 6,3% no primeiro ano e 30,8% no segundo ano após a fratura. Esta taxa de mortalidade está de acordo com o resto do mundo, que varia de 1,02 a 10% durante a estadia no hospital e 23 a 30% durante o primeiro ano após a fratura.⁴

No Brasil, os números do censo alertam para o grande número de idosos (14 milhões), população de maior risco para desenvolver a osteoporose. Durante o período de um ano foram diagnosticados 129.611 casos de osteoporose no sistema privado de saúde, sendo a incidência de 4,99% em fraturas de fêmur na população feminina. O tempo médio de permanência hospitalar foi superior a nove dias e o custo direto por paciente após a hospitalização foi calculado em R\$ 24.000,00.⁵

Na cidade de São Paulo, um estudo com indivíduos acima de 65 anos, demonstrou que 92,8% das mulheres apresentavam oste-

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Trabalho realizado no Centro Interdisciplinar de Terapia Gênica da UNIFESP/CINTERGEN

Endereço para correspondência: Departamento de Morfologia e Genética, Disciplina de Histologia e Biologia Estrutural, UNIFESP, Rua Botucatu, 740, 2º andar, Edifício Lemos Torres, Vila Clementino, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 04023-900. E-mail: rafa.pacheco@ig.com.br

Trabalho recebido em 08/10/2008, aprovado em 26/04/2009

openia e ou osteoporose em pelo menos um local do sistema esquelético analisado.⁶

Calcula-se que em 2050 haverá aproximadamente 6,3 milhões de fraturas por ano, a maioria ocorrendo na Ásia e na América Latina.⁷

A maioria das drogas atualmente utilizadas para o tratamento da osteoporose tem ação anti-reabsortiva (estrógenos, raloxifeno, cálcio e vitamina D, alendronato, etidronato, residronato e calcitonina) e / ou anabólica (PTH 1-34 e ranelato de estrôncio).⁸

A terapia gênica vem sendo apontada como um método promissor para o tratamento de doenças osteometabólicas e representa uma nova abordagem no tratamento da osteoporose. A terapia gênica insere o gene que codifica uma proteína que, caso fosse injetada de forma isolada, seria rapidamente degradada.^{9,10}

O princípio básico desta terapia é introduzir um material genético exógeno para corrigir ou modificar a função celular. O material genético, denominado de gene terapêutico, pode ser introduzido na célula-alvo por técnicas de engenharia genética.^{9,11}

A terapia tem início com a modificação de uma estrutura básica, denominada de plasmídeo. O plasmídeo é um pequeno DNA circular encontrado em bactérias. A modificação do plasmídeo consiste basicamente na alteração do cassete de expressão (promotor, DNA complementar do gene terapêutico e um sinal de poliadenilação), que possui os sinais regulatórios necessários para a expressão do gene de interesse. A escolha equivocada de qualquer elemento pode resultar no insucesso da terapia ou até mesmo ser prejudicial à célula-alvo.¹¹

Após a construção do plasmídeo com as sequências específicas e necessárias para a sua manutenção e expressão, este pode ser transferido para a célula-alvo com auxílio de vetores virais (transdução) e não-virais (transfecção).^{11,12} Sabe-se que para a transdução de células hospedeiras os vírus são efetivos em transmitir seu material genético, por isso dentre os vetores virais alguns grupos se destacam como os retrovírus, adenovírus, adeno-associados e o herpes-vírus simples. Na transfecção, o plasmídeo com o gene terapêutico pode ser incorporado à célula-alvo por métodos físicos (eletroporação, biobalística, sonoporação, hidrodinâmica e magnetofecção), químicos (lipoplexo, poliplexo), ou biológicos (infecção via bactéria, virossomo, Ad-lipo). (Tabela 1) A escolha do vetor atual baseia-se no tipo doença, no tamanho do gene terapêutico, na via da terapia e na duração da expressão gênica; estas características são importantes para que a transferência gênica ocorra com sucesso.^{9,11,12}

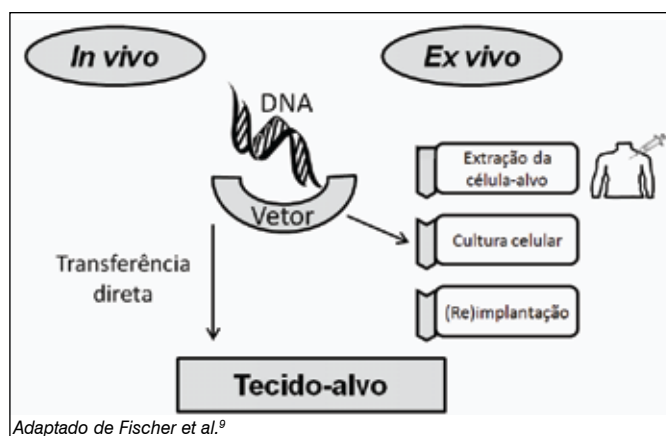
Além disso, o gene terapêutico pode ser entregue ao local de interesse pela estratégia *in vivo*, da qual o gene é transferido diretamente ao local. Este tipo de estratégia se mostrou ser simples, de baixo custo e minimamente invasiva. Em contrapartida, na estratégia *ex vivo* a transferência do gene de interesse é realizada nas células que foram coletadas do paciente, seguido da reimplantação no tecido-alvo. (Figura 1) Por essa razão, esse tipo de abordagem é mais minuciosa e cara.⁹

Cada estratégia apresenta vantagens e desvantagens, enquanto que na *in vivo* o material parece ficar restrito ao local injetado e apresentar uma baixa eficiência na transdução, já na *ex vivo* essa eficiência é maior, com a possibilidade de controlar as partículas virais e os plasmídeos, no entanto, o tempo deste processo é mais longo.^{9,11,12}

Esta revisão visa focar os trabalhos mais relevantes de terapia gênica para o tratamento da osteoporose desenvolvidos nos últimos anos em modelos animais, bem como as perspectivas futuras desta terapia. A metodologia utilizada foi a revisão da literatura realizada por busca eletrônica nas bases de dados MEDLINE/PubMed, LILACS, ISI -Web of Science e SciELO com especial referência aos artigos

Tabela 1. Principais tipos de vetores usados na terapia gênica para potencializar a entrada do DNA dentro do núcleo da célula-alvo.

Tipos de vetores		
Virais	Não-virais	
Retrovírus	DNA nu	
Adenovírus	Físicos:	
Adeno-associados		Eletroporação
Herpes-vírus simples		Biobalística
		Sonoporação
		Hidrodinâmica
		Magnetofecção
	Químicos:	
		Lipoplexo
		Poliplexo
	Biológicos:	
		Bactéria
		Virossomo
		Ad-lipo



Adaptado de Fischer et al.⁹

Figura 1. Esquema das estratégias de entrega do gene terapêutico ao local de interesse. Transdução *in vivo* envolve a transferência direta do gene e a *ex vivo* envolve a coleta da célula-alvo, expansão em cultura celular, transdução do vetor e (re)implantação no local de interesse.

originais envolvendo as palavras-chave osteoporosis, gene therapy, viral vector, non-viral vector, adenovirus, retrovirus, adeno-associated virus, lentivirus, bone morphogenetic protein e osteoprotegerin, usando como referência o MeSH (Medical Subject Headings) ou DeCS (Descritores em Ciências da Saúde). O critério de inclusão foram os estudos publicados nos idiomas inglês, português e espanhol realizados nos últimos anos. Os principais artigos experimentais estão expressos na Tabela 2 e alguns destes foram citados no texto.

Fisiopatologia da osteoporose

O esqueleto humano é constantemente renovado pela ação conjunta e coordenada dos osteoblastos e osteoclastos, tipos celulares especializados, responsáveis pela remodelação óssea. O desequilíbrio entre a atividade formadora dos osteoblastos e atividade reabsortiva dos osteoclastos resultam em perda de massa óssea e fragilidade esquelética, contribuindo para a fisiopatologia da osteoporose.² O paratormônio (PTH) e a calcitonina são os principais reguladores da homeostase do cálcio e respondem às alterações da calcemia. A baixa da calcemia induz ao aumento na produção do PTH, enquanto que, elevações diminuem sua

Tabela 2. Principais estudos de terapia gênica conduzidos para o tratamento da osteoporose em modelos animais não-humano nos últimos anos.

Estudos experimentais de terapia gênica para osteoporose					
Gene Terapêutico	Vetor	Quantidade	Modelo	Investigador	Ano
CXCR4 e Cbfa-1	Adenovírus – mediado por CTM	1x10 ⁶ células	Camundongos ♀	Lien <i>et al.</i> ²⁰	2009
BMP-2	Adenovírus (Ad5F35) – mediado por CTM	2500 partículas virais	Camundongos ♂	Gugala <i>et al.</i> ²⁴	2007
RANK-Fc	Retrovírus – mediado por CTM	1x10 ⁷ células por mL (volume total de 0,2mL/animal)	Camundongos ♀	Kim <i>et al.</i> ¹⁸	2006
BMP-2	Plasmídeo nu	25 µg	Ratos ♂	Kawai <i>et al.</i> ²³	2005
Integrina β3 humana	Retrovírus (Lentivírus) – mediado por células mononucleares	2x10 ⁶ células mononucleares	Camundongos ♀	Zhao <i>et al.</i> ³¹	2005
BMP-2	Adenovírus (Ad5) – mediado por CTM	1x10 ⁷ e 2 x10 ⁷ células por bloco	Ratos ♂	Yue <i>et al.</i> ²²	2005
hOPG	Vírus adeno-associado (AAV-2)	5x10 ⁹ partículas virais	Ratas ♀	Ulrich-Vinther <i>et al.</i> ²⁶	2005
hPTH e RGD	Plasmídeo nu	300 µg de RGD e 100 µg de hPTH	Ratas ♀	Chen <i>et al.</i> ¹⁶	2005
hOPG	Vírus adeno-associado (AAV-2)	6x10 ¹¹ partículas virais	Camundongos ♀	Kostenuik <i>et al.</i> ²⁷	2004
Pré e prepro-sequência do hPTH	Plasmídeo nu	50 µg	Camundongos ♀	Liu <i>et al.</i> ³³	2004
hPTH	Plasmídeo nu	50 µg	Camundongos ♀	Liu <i>et al.</i> ¹⁷	2003
BMP-4	Vírus adeno-associado (AAV-2)	2x10 ¹² partículas virais	Ratos ♂	Luk <i>et al.</i> ²¹	2003
IL-1Ra	Adenovírus (Ad5)	1x10 ¹⁰ partículas virais	Camundongos ♀	Baltzer <i>et al.</i> ¹⁴	2001
BMP-2	Retrovírus – mediado por células	5x10 ⁶ células	Camundongos ♂	Engstrand <i>et al.</i> ²⁵	2000

produção. A presença do receptor de PTH do tipo 1 (PTHr1) acoplado a proteína G no osteoblasto possibilita o reconhecimento da porção amino-terminal do PTH, que resulta na ativação das vias da proteína-quinase C (PKC) e a via da proteína-quinase A (PKA). Apesar das duas vias serem ativadas pelo PTH, a PKA é a principal via de ativação,⁸ conduzindo ao aumento no número de osteoclastos. O mecanismo simplificado está demonstrado na Figura 2.

Ao contrário do PTH, a calcitonina age diminuindo o nível do cálcio sério por estimular a atividade osteoblástica.² Causas multifatoriais podem ser atribuídas para o desencadeamento da osteoporose como a diminuição na ingestão ou da absorção intestinal do cálcio e da vitamina D, duração do ciclo reprodutivo, fatores genéticos, hábitos como o álcool e fumo, exercícios entre outros.¹³

Apesar dos esforços, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no processo da osteoporose permanecem incompletos.

Terapia gênica: estudos pré-clínicos

Um dos primeiros trabalhos a avaliar a possibilidade de utilizar um modelo murino para terapia gênica para o tratamento da osteoporose foi desenvolvido por Baltzer *et al.*¹⁴ Neste estudo os autores utilizaram um modelo de camundongos fêmeas ooforectomizadas e o vetor adenoviral do sorotipo cinco para efetuar a entrega do gene IL-1Ra humano na cavidade medular do osso fêmur. O gene IL-1Ra é responsável por codificar a proteína “receptor antagonista da interleucina do tipo 1”. A função biológica desta proteína é inversa a uma das atividades da citocina inflamatória IL-1 (Interleucina-1), que é indutora da reabsorção óssea e está aumentada em mulheres na pós-menopausa. Desta maneira, uma proteína que inibe a atividade da IL-1, parece ser uma importante ferramenta na tentativa de

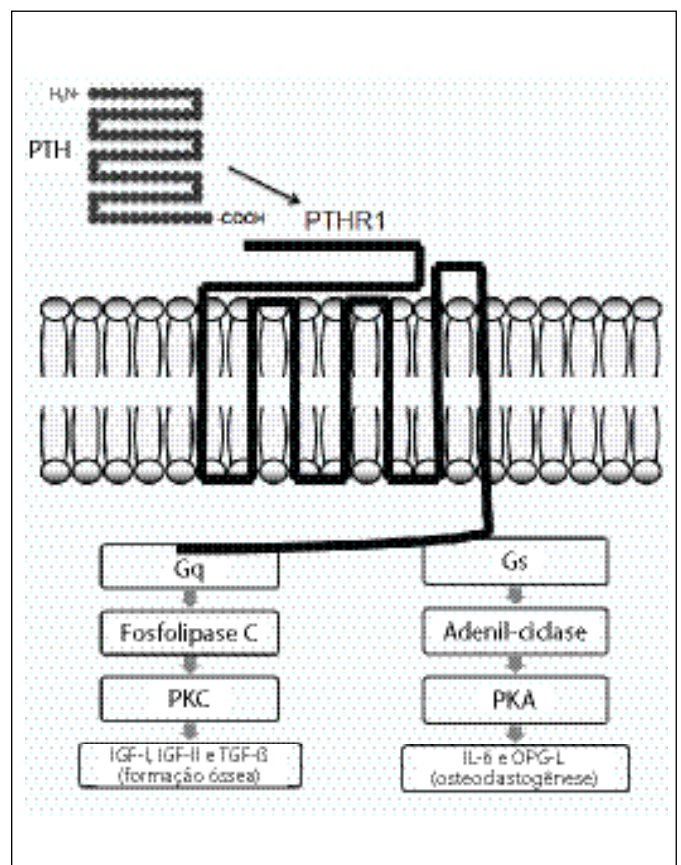


Figura 2. Esquema da interação entre o PTH com o receptor PTHr1 presente nos osteoblastos.

diminuir a perda óssea. Os resultados mostraram que todos os ossos foram protegidos contra a perda da massa óssea, e não apenas o fêmur que recebeu a injeção com o vetor. Os autores reforçam a ideia proposta por Oyama *et al.*¹⁵ de que as células transduzidas tem a capacidade de trafegar através da medula óssea de diferentes ossos.

Chen *et al.*¹⁶ também utilizaram o modelo de animal ooforectomizado para induzir a perda óssea, no entanto, usaram ratas com 56 semanas de idade. Após o procedimento cirúrgico o músculo quadríceps de ambas as patas foi transfectado com o plasmídeo nu contendo o gene do PTH ou o gene codificador do peptídeo RGD. Após três meses os animais foram sacrificados e os resultados mostraram que houve o aumento na densidade mineral óssea em 10,1% no grupo que recebeu o gene do PTH e 8,9% no que recebeu o gene RGD. A perda óssea foi evitada nos animais que receberam o gene RGD, pois este é antagonista de algumas integrinas responsáveis pela adesão celular, como exemplo a integrina $\beta 3$ humana, desta maneira, os osteoclastos não conseguem se manter aderidos à superfície celular, e a taxa de reabsorção diminui, além disso, esta molécula também induz a apoptose dos osteoclastos. Já nos animais que receberam o gene codificante do PTH, o aumento nos parâmetros avaliados pode ser explicado pelo fato do PTH exercer ação anabólica quando administrado de modo intermitente e em baixas doses.⁸

Em um estudo anterior conduzido por Liu *et al.*¹⁷ os autores já haviam realizado com sucesso a transfecção do músculo quadríceps de camundongos fêmeas com gene codificador do PTH. Naquela ocasião haviam observado que no final de oito semanas de tratamento a expressão se manteve. A fim de aumentar a eficiência da transfecção os autores usaram o método conhecido como eletroporação. Neste método uma descarga elétrica foi aplicada por meio de uma pistola, provocando alteração na permeabilidade da membrana plasmática, o que facilitou a entrada do gene nas células-alvo.¹²

Muitos pesquisadores utilizam as células-tronco mesenquimais (CTMs) como mediadoras para o tratamento da osteoporose, induzindo a sua diferenciação em osteoblastos e evitando a perda óssea acentuada.^{18,19}

O primeiro trabalho que mostrou a aplicabilidade da transplantação sistêmica de CTMs manipuladas geneticamente e injetadas intravenosamente é recente. Os autores após induzirem a perda óssea com glicocorticóides, transduziram CTMs com o adenovírus portando o gene codificante da proteína CXCR4 ou CXCR4 com Cbfa-1 em camundongos fêmeas e notaram que a recuperação total da massa óssea ocorreu nos animais que expressavam a proteína CXCR4 enquanto a força e dureza foi recuperada apenas no grupo que recebeu os dois genes. A recuperação da massa óssea ocorreu devido ao fato das células transduzidas com CXCR4 desempenharem um papel crucial na diferenciação osteogênica.²⁰

Com o envelhecimento do indivíduo, o número de CTM diminui, mas a capacidade de diferenciação não se altera, o que poderia representar um problema, pois os estudos utilizam modelos de animais ooforectomizados relativamente jovens em comparação com o que ocorre na osteoporose primária do tipo I¹⁸ (caracterizada pela deficiência do estrógeno em mulheres na pós-menopausa).

Diante do exposto, é evidente a necessidade de mais estudos que enfoquem a quantidade de CTM e a capacidade de diferenciação durante os diferentes estágios do desenvolvimento humano, principalmente após a menopausa.

A maior parte dos estudos em terapia gênica para osteoporose emprega os fatores de crescimento conhecidos como BMPs (Proteínas morfogenéticas ósseas). Estas proteínas fazem parte da superfamília do TNF- β (Fator de necrose tumoral β) e agem atuando na diferenciação, proliferação e quimiotaxia, estimulando a osteogênese em animais e humanos. As BMPs mais estudadas e empregadas na terapia gênica incluem a BMP-2 e a BMP-4.²¹⁻²⁴

Yue *et al.*²² mostraram que a quantidade de CTM diminui com o envelhecimento, no entanto, a expressão do gene BMP-2 pela CTM não se altera quando injetado em animais de diferentes idades, estimulando inclusive a formação óssea em animais idosos. Para estudar reparo de fraturas, os mesmos autores perfuraram o osso fêmur e em seguida aplicaram sobre a perfuração um bloco poroso de fosfato de cálcio. Este bloco antes de ser aplicado sobre o local foi cultivado por sete dias com CTMs transduzidas com o vetor adenoviral (Ad5) contendo o gene BMP-2. Após 6 semanas as CTM expressaram o BMP-2. Os dados mostraram que o gene BMP-2 devolveu o potencial osteogênico às CTMs. Os autores reforçam a ideia de que a incorporação do material genético *ex* ou *in vivo* por meio das CTMs é uma abordagem útil para a prevenção ou tratamento das fraturas osteoporóticas.

Kawai *et al.*²³ demonstraram que o plasmídeo transportando o gene BMP-2, além de induzir a ossificação endocondral, foi capaz de induzir a ossificação intramembranosa no músculo gastrocnêmico de ratos com auxílio da eletroporação transcutânea.

Os vetores adeno-associados,²¹ adenovírus,^{22,24} retrovírus²⁵ e o plasmídeo nu²³ já foram utilizados para a transferência dos genes BMP com sucesso. Em todos os vetores citados acima, houve resposta positiva no tecido ósseo, mas a escolha do melhor vetor para o tratamento da osteoporose ainda é discutida.

Além da possibilidade de tratar a osteoporose por estimular a formação óssea, a terapia gênica também pode atuar nos mecanismos de reabsorção.²⁶⁻²⁸ A osteoprotegerina (OPG) é uma proteína endógena sintetizada pelos osteoblastos, e é responsável pela inibição da osteoclastogênese e da atividade dos osteoclastos. A OPG atua como um atrativo para o RANKL (Receptor ativador do fator nuclear κB ligante), prejudicando sua ligação com o RANK (Receptor ativador do fator nuclear κB), como resultado não há indução dos sinais intracelulares responsáveis pela diferenciação, função e sobrevivência dos osteoclastos. A produção da OPG é regulada por moléculas que aumentam sua síntese (IL-1 α , IL-6, IL-11, IL-17, IL-18, TNF- α , TNF- β , BMP-2, estrogênio, cálcio e vitamina D3) e outras que a diminuem (paratormônio, os glicocorticóides e a prostaglandina E2).²⁹

Kostenuik *et al.*²⁷ conseguiram estabilizar a perda óssea no processo inicial de osteopenia, no modelo de camundongos fêmeas ooforectomizados. Os autores utilizaram o vetor adeno-associado como transportador do gene OPG humano. A densidade mineral óssea da tíbia aumentou significativamente nos animais que receberam o gene OPG, havendo também uma redução na quantidade de osteoclastos na superfície da metáfise proximal da tíbia. Os camundongos sham-operados (exposição dos ovários, mas sem a remoção), também apresentaram aumento da densidade mineral óssea quando comparados com os outros animais que receberam um gene sem efeito sobre o metabolismo ósseo.

O adenovírus conduzindo o gene OPG também foi estudado para o tratamento da osteoporose. Este tipo de vetor ao transduzir uma célula hospedeira mantém o genoma não integrado ao cromossomo (forma episomal), mas quando a célula infectada se divide o episomo pode se perder, podendo também levar

a uma resposta imune, e consequentemente o efeito do gene terapêutico é perdido. Apesar disso, Bolon *et al.*²⁸ demonstraram que a expressão pode ser mantida por pelo menos 18 meses e levar ao aumento da densidade óssea.

As interleucinas representam um importante alvo para o tratamento e prevenção da osteoporose. Foi demonstrada que a IL-11 é um importante fator estimulador da osteoblastogênese e formação do osso, possivelmente por aumentar a produção das BMPs. A IL-11 pode representar uma nova estratégia terapêutica para o tratamento da osteoporose senil.²⁹

Sabe-se que a deficiência do estrogênio causa o aumento na produção da IL-7, refletindo em uma maior quantidade de osteoclastos, dessa forma, a neutralização da IL-7 repercute na diminuição da reabsorção óssea. Cada vez mais o papel das interleucinas no metabolismo ósseo tem sido investigado, e muitas das descobertas podem ajudar a expor novos alvos para a terapia gênica.³⁰

CONCLUSÃO

Poucos relatos na literatura científica utilizaram a terapia gênica como um instrumento para tratar a osteoporose.

A matriz calcificada do tecido ósseo representa um obstáculo a mais no estudo da terapia gênica para as doenças osteometabólicas, pois a difusão do vetor através da matriz é praticamente impossível, o que torna esta terapia mais elaborada para osteoporose, afetando diretamente no sucesso da transfecção ou transdução das células osteogênicas. Uma alternativa para contornar este obstáculo, diz respeito à utilização das células-tronco mesenquimais portando o gene terapêutico, pois são células precursoras dos osteoblastos e, refletem no aumento da massa óssea por sintetizar matriz.^{18,22} Apesar disso, os trabalhos relatados restabeleceram a massa óssea e com isso diminuíram o risco para fraturas.

A maioria dos trabalhos relatou a utilização de apenas um gene terapêutico, teoricamente, nada impede que o cassete de expressão do plasmídeo possua seqüências gênicas para atuar tanto nos osteoblastos, estimulando a formação óssea, quanto nos osteoclastos, diminuindo a taxa de reabsorção. Desta maneira é possível potencializar o tratamento para a osteoporose

e ter uma resposta positiva mais rápida, principalmente para indivíduos com osteoporose severa.

Uma grande parte dos estudos utiliza a OPG, a BMP e o PTH como moléculas promissoras para o tratamento da osteoporose, entretanto, há uma carência de novas moléculas como possíveis alvos a serem estudados, limitando praticamente os pesquisadores a utilizarem as mesmas moléculas. Apesar de tudo, a seqüência RGD e o estudo com a integrina $\beta 3$ humana se mostraram alvos importantes para a terapia gênica anti-reabsortiva.^{16,31}

Estudos futuros devem ser realizados, focando a utilização de modelos animais de grande porte, a utilização de novos genes terapêuticos e do melhor vetor para a transferência gênica.

O custo, a via de administração e os efeitos colaterais são alguns dos fatores indesejáveis que podem culminar no abandono ou interrupção no tratamento convencional, comprometendo a eficácia do medicamento e a saúde do paciente.⁸ Em pacientes tratados pela terapia gênica, espera-se que, o abandono e ou a interrupção no tratamento se torne menos frequente.

Na busca de diminuir os aspectos negativos na terapêutica atual para a osteoporose, a terapia gênica se mostra uma ferramenta importante. Espera-se que no futuro, por meio de uma ou poucas intervenções minimamente invasivas, o gene terapêutico possa restabelecer a função do tecido ósseo e causar pouco ou nenhum efeito colateral. Para isso, o controle do nível da expressão é essencial, pois um baixo nível pode não exercer os resultados terapêuticos e o inverso pode ser prejudicial à célula. Mecanismos de controle estão sendo estudados para controlar a expressão do gene.^{11,32}

Com os avanços das técnicas de engenharia genética, o custo desta terapia deve cair consideravelmente. Os benefícios que esta ferramenta poderá trazer no futuro aos pacientes devem contribuir substancialmente para o aumento na perspectiva e na qualidade de vida dos idosos, principalmente da população feminina, que mais sofre com esta doença.

A prevenção ou o restabelecimento mais rápido de fraturas decorrentes da osteoporose certamente acarretará um menor impacto econômico no orçamento governamental.⁵

No futuro próximo, protocolos clínicos envolvendo humanos devem trazer esperança a milhares de pessoas que sofrem com esta doença.

REFERÊNCIAS

1. WHO. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO study group. WHO Technical Report Series. 1994;843:1-129.
2. Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev*. 2001;81:419-47.
3. Jiang HX, Majumdar SR, Dick DA, Moreau M, Raso J, Otto DD et al. Development and initial validation of a risk score for predicting in-hospital and 1-year mortality in patients with hip fracture. *J Bone Miner Res*. 2005;20:494-500.
4. Riera-Espinoza G. Epidemiology of osteoporosis in Latin America 2008. *Salud Publica Mex*. 2009;51(Suppl 1):52S-5S.
5. Araújo DV, Oliveira JHA, Bracco OL. Custo da fratura osteoporótica de fêmur no sistema suplementar de saúde brasileiro. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005;49:897-901.
6. Camargo MB, Cendoroglo MS, Ramos LR, Latorre MR, Saraiva GL, Lage A, et al. Bone mineral density and osteoporosis among a predominantly caucasian elderly population in the city of São Paulo, Brazil. *Osteoporos Int*. 2005;16:1451-60.
7. Wark JD. Osteoporosis: a global perspective. *Bull World Health Organ*. 1999;77:424-6.
8. Brixen KT, Christensen PM, Ejersted C, Langdahl L. Teriparatide (biosynthetic human parathyroid hormone 1-34): a new paradigm in the treatment of osteoporosis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004;94:260-70.
9. Fischer J, Kolk A, Wolfart S, Pautke C, Warnke PH, Plank X, et al. Future of local regeneration: protein versus gene therapy. *J Craniomaxillofac Surg*. 2010.
10. Evans CH, Ghivizzani SC, Gouze E, Rediske JJ, Schwarz EM, Robbins PD. The 3rd International Meeting on Gene Therapy in Rheumatology and Orthopaedics. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:273-8.
11. Morales MM, organizador. Terapias avançadas: células-tronco, terapia gênica e nanotecnologia aplicada à saúde. Rio de Janeiro: Atheneu; 2007.
12. Cohen M, Pochini AC, Han S, Ingham SM, Eijnisman B, Abdalla RJ. Gene therapy in orthopedics. *Rev Bras Ortop*. 2006;41:233-40.
13. Cohen AJ, Roe FJ. Review of risk factors for osteoporosis with particular reference to a possible aetiological role of dietary salt. *Food Chem Toxicol*. 2000;38:237-53.
14. Baltzer AWA, Whalen JD, Wooley P, Latterman C, Truchan LM, Robbins PD. Gene therapy for osteoporosis: evaluation in a murine ovariectomy model. *Gene Ther*. 2001;8:1770-6.
15. Oyama M, Tatlock A, Kavalkovich K, Nishimura K, Johnstone B, Robbins PD, et al. Retrovirally transduced bone marrow stromal cells isolated from a mouse model of human osteogenesis imperfecta (oim) persist in bone and retain the ability to form cartilage and bone after extended passaging. *Gene Ther*. 1999;6:321-9.
16. Chen W, Liu J, Diao W, Tang J, Ji J. Bone loss induced by ovariectomy in rats is prevented by gene transfer of parathyroid hormone or an Arg-Gly-Asp-containing peptide. *Biotechnol Lett*. 2005;27:41-8.

17. Liu B, Tang J, Ji J, Gu J. Prevention of osteoporosis in ovariectomized mice by electroporational gene transfer of parathyroid hormone. *Biotechnol Lett*. 2003;25:2117-22.
18. Kim D, Cho SK, Her SJ, Yang JY, Kim SW, Kim SY et al. Retrovirus-mediated gene transfer of receptor activator of nuclear factor- κ B-Fc prevents bone loss in ovariectomized mice. *Stem Cells*. 2006;24:1798-805.
19. Bielby R, Jones E, McGonagle D. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury*. 2007;38:26-32.
20. Lien CY, Ho KCY, Lee OK, Blunn GW, Su Y. Restoration of bone mass and strength in glucocorticoid-treated mice by systemic transplantation of CXCR4 and Cbfa-1 co-expressing mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res*. 2009;24:837-48.
21. Luk KDK, Chen Y, Cheung KMC, Kung HF, Lu WW, Leong JCY. Adeno-associated virus-mediated bone morphogenetic protein-4 gene therapy for in vivo bone formation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308:636-45.
22. Yue B, Lu B, Dai KR, Zhang XL, Yu CF, Lou JR et al. BMP2 gene therapy on the repair of bone defects of aged rats. *Calcif Tissue Int*. 2005;77:395-403.
23. Kawai M, Bessho K, Maruyama H, Miyazaki JI, Yamamoto T. Human BMP-2 gene transfer using transcutaneous in vivo electroporation induced both intramembranous and endochondral ossification. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2005;287:1264-71.
24. Gugala Z, Davis AR, Fouletier-Dilling CM, Gannon FH, Lindsey RW, Olmsted-Davis EA. Adenovirus BMP2-induced osteogenesis in combination with collagen carriers. *Biomaterials*. 2007;28:4469-79.
25. Engstrand T, Daluiski A, Bahamonde ME, Melhus H, Lyons KM. Transient production of bone morphogenetic protein 2 by allogeneic transplanted transduced cells induces bone formation. *Hum Gene Ther*. 2000;11:205-11.
26. Ulrich-Vinther M, Schwarz EM, Pedersen FS, Søballe K, Andreassen TT. Gene therapy with human osteoprotegerin decreases callus remodeling with limited effects on biomechanical properties. *Bone*. 2005;37:751-8.
27. Kostenuik PJ, Bolon B, Morony S, Daris M, Geng Z, Carter C et al. Gene therapy with human recombinant osteoprotegerin reverses established osteopenia in ovariectomized mice. *Bone*. 2004;34:656-64.
28. Bolon B, Carter C, Daris M, Morony S, Capparelli C, Hsieh A et al. Adenoviral delivery of osteoprotegerin ameliorates bone resorption in a mouse ovariectomy model of osteoporosis. *Mol Ther*. 2001;3:197-205.
29. Papadopoulou AE, Klonaris CN, Theocharis SE. Role of OPG/RANKL/RANK axis on the vasculature. *Histol Histopathol*. 2008;23:497-506.
30. Weitzmann MN, Roggia C, Toraldo G, Weitzmann L, Pacifici R. Increased production of IL-7 uncouples bone formation from bone resorption during estrogen deficiency. *J Clin Invest*. 2002;110:1643-50.
31. Zhao H, Kitaura H, Sands MS, Ross FP, Teitelbaum SL, Novack DV. Critical role of $\beta 3$ integrin in experimental postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2005; 20:2116-23.
32. Wübbenhort D, Dumler K, Wagner B, Wexel G, Imhoff A, Gansbacher B, et al. Tetracycline-regulated bone morphogenetic protein 2 gene expression in lentivirally transduced primary rabbit chondrocytes for treatment of cartilage defects. *Arthritis Rheum*. 2010; 62(7):2037-46.
33. Liu B, Tang J, Ji J, Gu J. The expression of functional human parathyroid hormone in a gene therapy model for osteoporosis. *Cell Tissue Res*. 2004; 317:57-63.