

## Guia de terapias celulares e genéticas

A terapia genética está a revolucionar a medicina, para pessoas com doenças raras e potencialmente fatais, oferecendo um potencial para vidas mais longas e mais saudáveis. Nalguns casos, um único tratamento pode proporcionar uma vida inteira de benefícios. Estas terapias devem proporcionar enormes benefícios para os doentes, para as suas famílias e para a sociedade em geral.

Terapia genética é o nome coletivo das terapias nas quais o material genético de um doente é reparado ou reestruturado para efeito terapêutico.

O conceito da terapia genética é corrigir um problema genético, na sua origem. Se, por exemplo, numa doença hereditária (normalmente recessiva), uma mutação num determinado gene resultar na produção de uma proteína disfuncional, a terapia genética pode ser usada para produzir uma cópia deste gene que não contém a mutação nociva e, assim, produz uma proteína funcional. Esta estratégia é referida como terapia de substituição genética.

As terapias genéticas ainda estão em investigação para a doença de Pompe, embora os processos de desenvolvimento estejam a tornar-se bem compreendidos, através de terapias licenciadas para outras doenças. A investigação e os ensaios clínicos são extremamente importantes e altamente valiosos para garantir a segurança e eficácia destas terapias a longo prazo. É provável que demore vários anos a desenvolver uma terapia genética bem-sucedida para a doença de Pompe, que poderá ou não satisfazer as expectativas atuais.

### **A terapia genética é classificada em dois tipos**

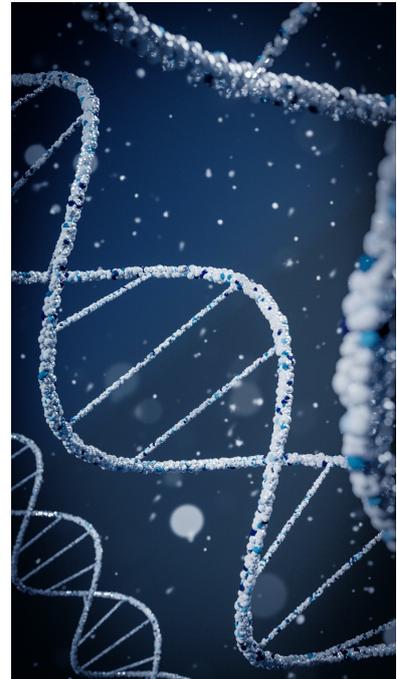
#### Terapia genética de células somáticas

Na terapia genética de células somáticas (*Somatic Cell Gene Therapy*, SCGT), os genes terapêuticos afetam apenas o doente individual e não são transmitidos à descendência. A terapia genética somática representa a investigação básica e clínica principal, na qual se utiliza ADN terapêutico para tratar a doença.

Os distúrbios causados por um único gene, como a doença de Pompe, são bons candidatos para terapia celular somática.

#### Linha germinal

Na terapia genética da linha germinal (*Germline Gene Therapy*, GGT), as células germinais (esperma, óvulo e ovo fertilizado) são modificadas pela introdução de genes funcionais nos seus genomas. Modificar uma célula germinal faz com que todas as células do organismo venham a conter o gene modificado. A mudança é, portanto, hereditária e transmitida às gerações posteriores. Muitos países proíbem a aplicação de GGT em seres humanos por motivos técnicos e éticos, e porque não existe conhecimento suficiente sobre possíveis riscos para as gerações futuras e riscos maiores em comparação com a SCGT.



# Terapias genéticas para a doença de Pompe

Atualmente, estão a ser exploradas três estratégias diferentes de SCGT para a doença de Pompe:

## 1. Vírus adeno-associado (AAV)

Para se replicarem, os vírus introduzem o seu material genético na célula hospedeira, induzindo a maquinaria celular do hospedeiro a utilizá-lo como modelos para proteínas virais. Os cientistas exploram isto substituindo o material genético de um vírus por material genético terapêutico.

Na terapêutica com base em AAV, é utilizado o envelope do vírus adeno-associado (AAV). Este é um vírus inofensivo. Foram removidos ao vetor do AAV os genes causadores de doença, para que deixassem de ser eficazes, e adicionou-se o gene pretendido. Existem diferentes subtipos de AAV, que são indicados por um número. Por exemplo, o subtipo AAV5 ou AAV8 tem como alvo o fígado e o subtipo AAV1 tem como alvo as células musculares.

A estrutura do vetor/gene quase não se integra no genoma humano (dentro dos cromossomas que transportam o ADN), mas persiste como uma entidade cromossômica extra. Isto tem consequências, porque quando uma célula se divide, a estrutura do AAV não é duplicada como o restante ADN. Por conseguinte, o AAV será diluído ao longo do tempo, à medida que as células se dividem (por exemplo, células estaminais do sangue).

Na doença de Pompe, a terapêutica será normalmente concebida para visar as células hepáticas ou musculares. O cérebro está protegido contra a infecção por uma membrana conhecida como a barreira hematoencefálica, pelo que não se espera que estes tipos de terapias genéticas com AAV corrijam células doentes no cérebro ou no sistema nervoso central (SNC). Existem outros vetores do AAV que podem visar o cérebro, mas estes não estão atualmente a ser considerados para a doença de Pompe.

As terapias genéticas com AAV serão geralmente administradas como uma perfusão intravenosa (IV) única, embora seja provável que os sistemas de saúde insistam na monitorização regular durante muitos anos após a perfusão.

Os dois tipos de terapias genéticas com AAV incluem:

### Fígado visado

Estas terapêuticas fornecem ADN terapêutico ao fígado para produzir continuamente uma cópia saudável da enzima deficiente na doença de Pompe (alfa-glucosidase ou GAA). Esta enzima saudável é então administrada às células do corpo (exceto o sistema nervoso), especialmente às células musculares, de forma semelhante a uma perfusão contínua de Terapêutica de Substituição Enzimática (TSE).

# Guia de terapias celulares e genéticas

## Músculo visado

Estas terapêuticas fornecem ADN terapêutico diretamente às células musculares (fibras), para substituir a falha genética no ADN muscular. As células musculares tratadas devem então ser capazes de produzir a enzima GAA para restabelecer a função muscular normal e interromper a progressão da doença.

## Vantagens das terapias genéticas com AAV

- Transportam o gene de forma relativamente fácil
- Praticamente não são integradas no ADN do hospedeiro
- As probabilidades de tumorigénese são pequenas
- São independentes da mutação GAA do doente

## Desvantagens das terapias genéticas com AAV

- A resposta imunitária ao vetor AAV será desenvolvida de tal forma que não seja possível repetir o tratamento
- Nem todos os doentes serão elegíveis devido a anticorpos pré-existentes
- A terapêutica irá perder a eficácia ao longo do tempo.
- Pode ocorrer toxicidade hepática com doses virais elevadas
- Em crianças, o AAV será diluído pelo crescimento da criança, ao longo do tempo.
- Esta terapia não consegue tratar doentes infantis com apresentação clássica através do fígado antes dos ~4 anos de idade, devido ao crescimento e à diluição da terapêutica
- Dificuldade em chegar ao cérebro.

## 2. Terapia genética lentiviral

A terapia genética lentiviral é uma técnica que retira as células estaminais do próprio doente, a partir da sua medula óssea, modifica-as fora do corpo (ex-vivo) num ambiente estéril e, em seguida, volta a colocar as células modificadas no corpo. Como a técnica envolve a modificação permanente das células estaminais, tem o potencial de proporcionar uma terapêutica ao longo da vida, após uma única intervenção. Também proporciona efeito terapêutico no sistema nervoso central (SNC). Um exemplo recente é dado pela aprovação da EMA da terapia genética lentiviral para tratar o SNC na leucodistrofia metacromática (LDM), uma doença que está relacionada com a doença de Pompe.

O processo de tratamento tem vários passos que podem demorar algumas semanas a concluir:

1. Preparar o corpo para que as células estaminais da medula óssea sejam libertadas na corrente sanguínea.
2. Retirar sangue do doente para colher células estaminais suficientes da medula óssea.
3. Modificar as células estaminais recolhidas numa instalação estéril, inserindo um vetor lentiviral que contém o gene terapêutico.
4. Preparar a medula óssea utilizando um agente de pré-condicionamento como, por exemplo, o bussulfano.

## Guia de terapias celulares e genéticas

5. Administrar uma perfusão intravenosa (IV) das células estaminais da medula óssea modificadas
6. A medula óssea torna-se uma fábrica viva para a proteína terapêutica, fornecendo uma fonte contínua de TSE no sangue.
7. As células derivadas da medula óssea passam a barreira hematoencefálica e secretam a proteína terapêutica no SNC.

### Vantagens das terapias genéticas lentivirais

- Intervenção única para tratamento ao longo da vida
- Também pode tratar o SNC
- Independente da mutação GAA
- Demonstrou segurança em vários ensaios clínicos para outras doenças e foi recentemente aprovado para a LDM
- Deve ser adequado para doentes infantis com apresentação clássica, independentemente da idade
- Sem exclusão de doentes com base em anticorpos antivirais

### Desvantagens das terapias genéticas lentivirais

- Integra-se no ADN das células estaminais da medula óssea: dose baixa utilizada para minimizar o risco de danos no ADN.
- Os agentes de pré-condicionamento são invasivos e requerem uma dosagem cuidadosa, para evitar efeitos secundários. O procedimento faz parte dos regimes padrão de transplante de medula óssea que, até ao momento, são procedimentos clínicos aplicados em todo o mundo e muito seguros.

## 3. Oligonucleótido antisense (ASO ou AON)

Os oligonucleótidos antisense (*AntiSense OligoNucleotide*, ASO ou AON) são capazes de influenciar o processamento de ARN e modular a expressão de proteínas. Este tipo de terapêutica pode ser aplicado, por exemplo, para mutações GAA que afetam o processamento de ARN. Em doentes de início tardio de ascendência europeia, ~90% de todos os doentes têm a mesma mutação GAA c.-32-13T>G (IVS1), que afeta o processamento do ARN. Foram gerados AON que conseguem corrigir o processamento de ARN em células de doentes IVS1, bem como para doentes com outras mutações mais raras.

Caixa 1: O ARN é a transcrição que é produzida a partir do ADN, a partir da qual é produzida a proteína. O ARN é de curta duração, tal como a proteína, e tem de ser feito a pedido para produzir proteína. O ARN não altera o ADN, trata-se apenas de uma cópia do mesmo. Após a utilização, é degradado. Os AON, que modulam o ARN (correto) precisam também de ser dados regularmente. Os AON são modificados quimicamente para melhorar a sua estabilidade; uma vez captados pelas células, são muito mais estáveis do que as proteínas. Por conseguinte, espera-se que, quando aplicados na clínica, os AON necessitem de perfusões regulares que sejam menos frequentes do que a TSE.

## Guia de terapias celulares e genéticas

### Vantagens dos oligonucleótidos antisense terapêuticos para a doença de Pompe

- Restabelecer a produção normal da proteína GAA
- Mecanismo diferente da TSE e por isso poderia ser benéfico para doentes que não respondam bem a esta terapêutica
- É possível a combinação com TSE
- Relevante para a maioria dos doentes com doença de Pompe de início tardio de ascendência europeia, uma vez que estes transportam a mutação IVS1 que pode ser corrigida com AON

### Desvantagens dos oligonucleótidos antisense terapêuticos para a doença de Pompe

- Administração ao longo da vida — *não* é um tratamento único
- Efeitos secundários desconhecidos neste momento
- Não adequado para doentes clássicos com aparecimento da doença de Pompe na infância
- Específico para a mutação: apenas doentes com uma mutação específica

## Resposta imunitária às terapias genéticas

Tal como acontece com outras terapêuticas, como, por exemplo, a Terapêutica de Substituição Enzimática (TSE), pode ocorrer uma resposta de anticorpos a terapias genéticas. Em casos ligeiros, estes podem ser geridos com medicamentos comuns até os sintomas desaparecerem, mas algumas pessoas podem desenvolver anticorpos neutralizantes à terapia, o que impede que a substância ativa funcione como deveria.

Está em curso investigação para compreender a resposta de anticorpos a novas terapêuticas e é provável que sejam desenvolvidas medidas para prevenir ou remover anticorpos durante o tratamento. Estas medidas irão aumentar a complexidade dos protocolos de terapia genética, mas só devem ser necessárias durante o tratamento, por isso, para a maioria das pessoas, apenas uma vez na vida.

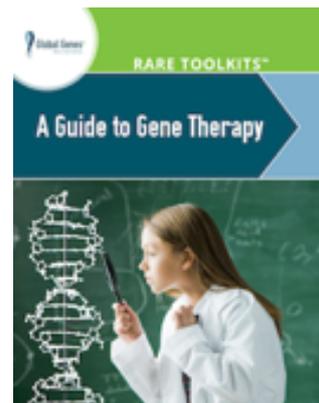
Um exemplo de um tratamento para gerir anticorpos é a plasmaférese, ou troca de plasma para terapêutica. Trata-se de um processo de transfusão de sangue em que o sangue do doente é colhido de uma veia, o plasma contendo os anticorpos é substituído por plasma filtrado ou não afetado e, em seguida, o sangue é substituído. Um exemplo deste processo está disponível aqui:

<https://www.verywellhealth.com/plasma-exchange-ms-treatment-2440905>

# Leitura adicional sobre terapias celulares e genéticas

Existe um número crescente de recursos online, para saber mais sobre as terapias celulares e genéticas. A organização nacional de Pompe ou o seu especialista podem fornecer-lhe informações e pode encontrar mais informações em websites como, por exemplo:

1. Brochura da ciência da terapia genética — pode transferir esta brochura em <https://sparktx.com/scientific-platform-programs/about-gene-therapy/>
2. Este vídeo da ASGCT (*American Society of Gene & Cell Therapy* [Sociedade Americana de Terapia Genética e Celular]):  
[www.asgct.org/education/pompe-disease](http://www.asgct.org/education/pompe-disease)
3. O conjunto de ferramentas Global Genes focado na terapia genética  
<https://globalgenes.org/wp-content/uploads/2018/11/Guide-to-Gene-Therapy-Toolkit-spread-DIGITAL-1.pdf>



## Terapia genética: A resposta às suas perguntas

Vídeo apresentado num formato de perguntas e respostas, apresentado pela *National Organization for Rare Disorders* (NORD [Organização Nacional de Doenças Raras, EUA]).

A mais recente adição à [Biblioteca de Vídeos de Doenças Raras da NORD](#) é um conjunto de quatro vídeos sobre edição de genomas.



## Informações sobre ensaios clínicos

Existem vários grupos de investigação que investigam a terapia genética na doença de Pompe, cada um em diferentes fases. Algumas destas potenciais terapias já foram testadas em ensaios clínicos, enquanto outras estão na fase pré-clínica e estão a ser testadas em animais.

## Guia de terapias celulares e genéticas

As informações sobre estudos de investigação que recrutam pessoas com a doença de Pompe podem ser encontradas em websites internacionais e nacionais, por exemplo:

- [www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)
- [www.clinicaltrialsregister.eu](http://www.clinicaltrialsregister.eu)

e no website da IPA [www.worldpompe.org](http://www.worldpompe.org).

### Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer aos nossos consultores médicos pelas suas contribuições e revisão deste documento:

Dr. Pim Pijnappel, Erasmus University Medical Center, Roterdão, Países Baixos.

Prof. Emérito Arnold Reuser, Erasmus University Medical Center, Roterdão, Países Baixos.

***Isenção de responsabilidade:*** a IPA não apoia nenhum dos produtos, medicamentos, tratamentos ou informações referidos nestas páginas. Os artigos no website da IPA destinam-se apenas a fins informativos. Recomendamos vivamente que converse sobre todos os medicamentos, tratamentos e/ou produtos com o seu médico.