

Terapia Gênica: Sistemas de liberação de genes

Profa Dra Fabiana T.M.C. Vicentini

Profa Dra Maria Vitória L.B. Bentley

2020

Cronograma

- Introdução
- Princípios
- Histórico
- Introdução do material genético – *Ex vivo* e *In vivo*
- Contexto atual
- Conclusão

Introdução – Terapia Gênica

- ❑ A ideia central da terapia gênica é introduzir genes terapêuticos no corpo para corrigir uma doença através da expressão ou inibição da expressão de uma proteína

A LEGISLAÇÃO ATUAL PERMITE A TERAPIA GÊNICA APENAS EM CÉLULAS SOMÁTICAS

Introdução – Terapia Gênica

□ Contém uma substância ativa que contém ou consiste em um ácido nucleico recombinante utilizado ou administrado a seres humanos com objetivo de regular, reparar, substituir, adicionar ou eliminar uma sequência genética;

□ O seu efeito terapêutico, profilático ou diagnóstico relaciona-se diretamente com a sequência de ácido nucleico recombinante que contém, ou com o produto da expressão genética desta sequência.



Introdução – Terapia Gênica

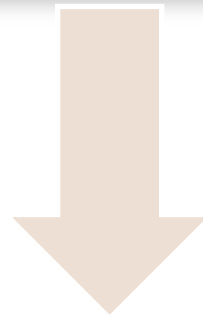
Processo experimental que envolve a alteração da composição genética das células para o tratamento ou prevenção de doenças

Introdução – Terapia Gênica

Um sistema que forneça expressão eficiente, persistente e estável de genes transferidos em células de mamíferos pode ser uma ferramenta útil para diversas aplicações, como regulação de genes, modelagem de doenças, testes de fármacos e suplementação de genes para correção terapêutica

Introdução – Terapia Gênica

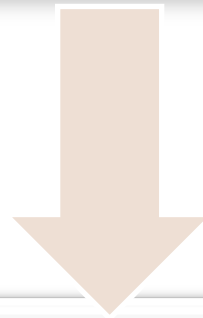
Terapias Convencionais



Sintomas

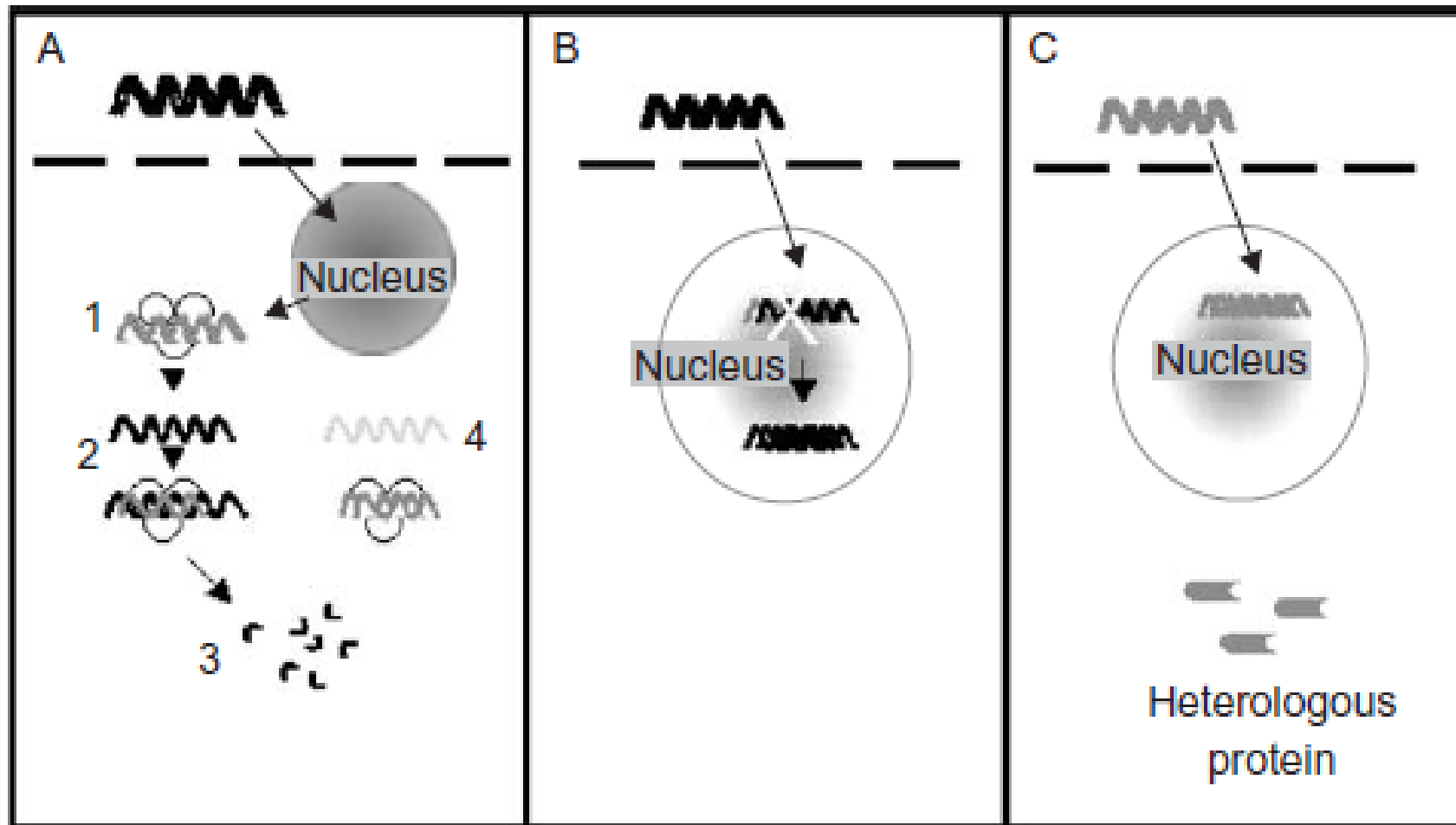
Introdução – Terapia Gênica

Terapia Gênica



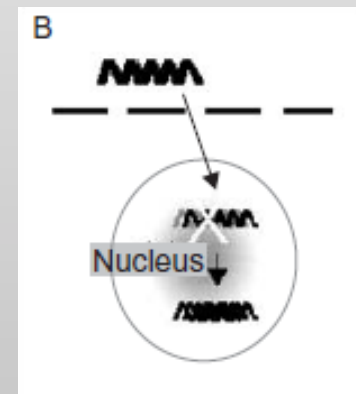
Correção da expressão anormal de determinado gene ou da função celular responsáveis pelos sintomas das doenças

Introdução – Princípios da Terapia Gênica



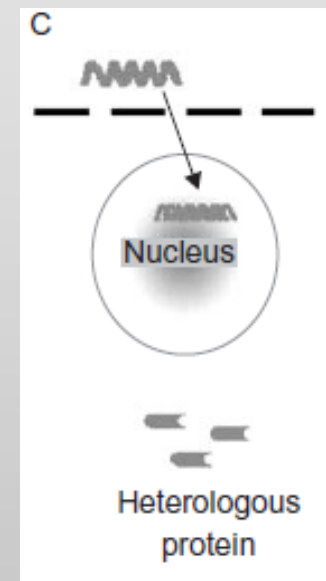
(I) Substituição ou correção de um gene mutante

- ❑ Restaurar a capacidade da célula para produzir proteínas funcionais;
- ❑ Uma das mais utilizadas;
- ❑ Pode ser aplicado a diferentes tipos de doenças;

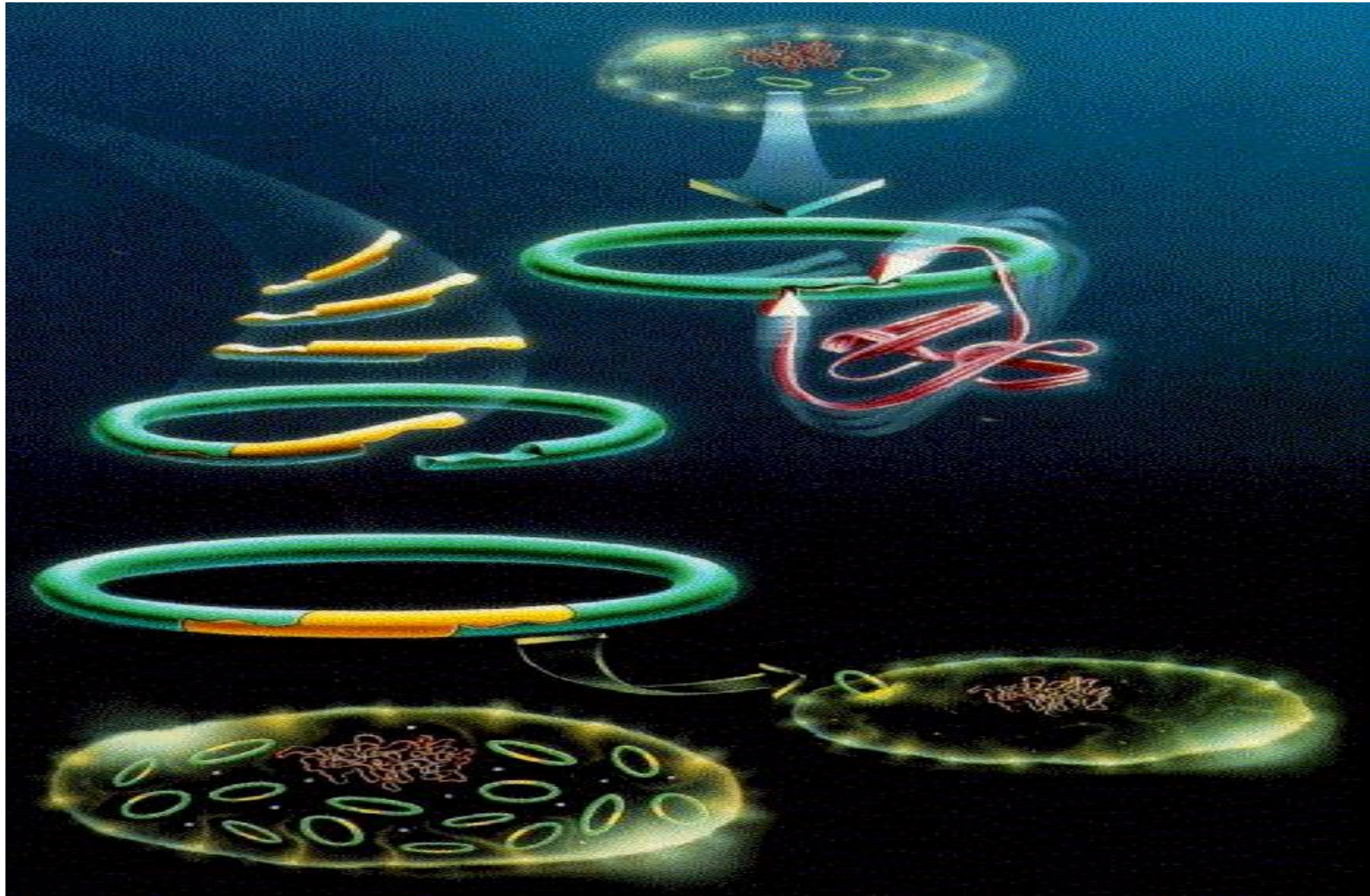


(II) Introdução de um gene heterólogo

- ❑ Protocolos de vacina de DNA ou terapias para doenças infecciosas;
- ❑ Gene que codifica uma proteína antigênica de um patógeno;
- ❑ Intervenções profiláticas



VACINAS DE DNA



VACINAS DE DNA

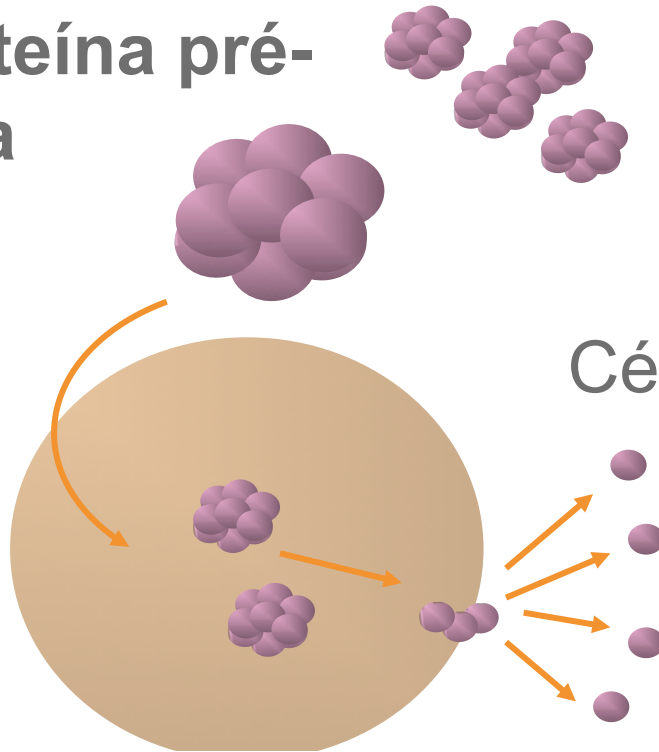
Vacinas tradicionais



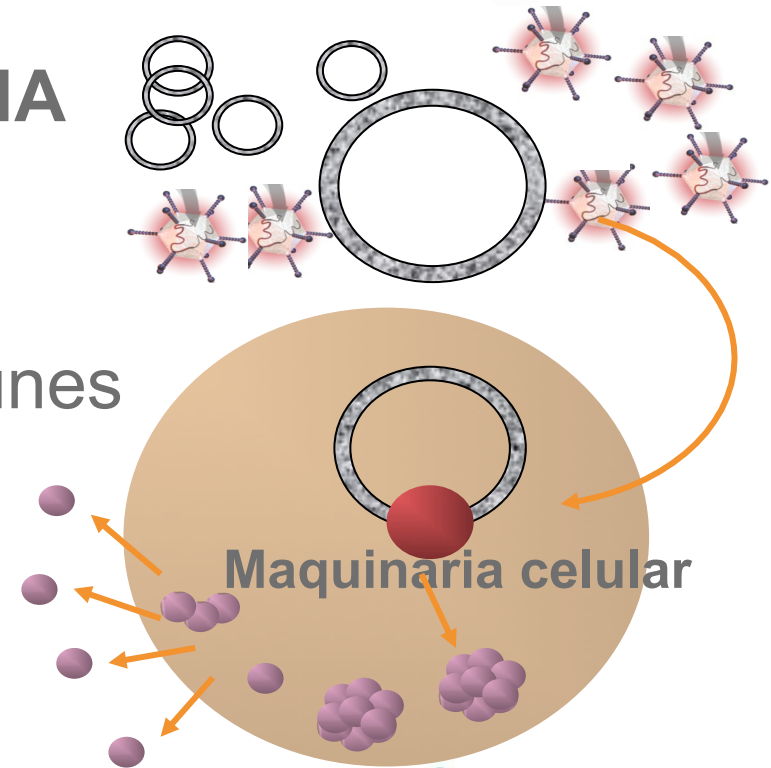
Vacinas baseadas em DNA



Proteína pré-feita

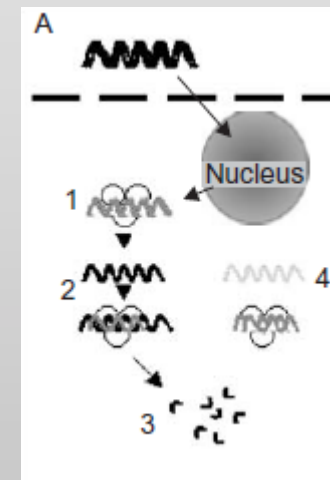


DNA



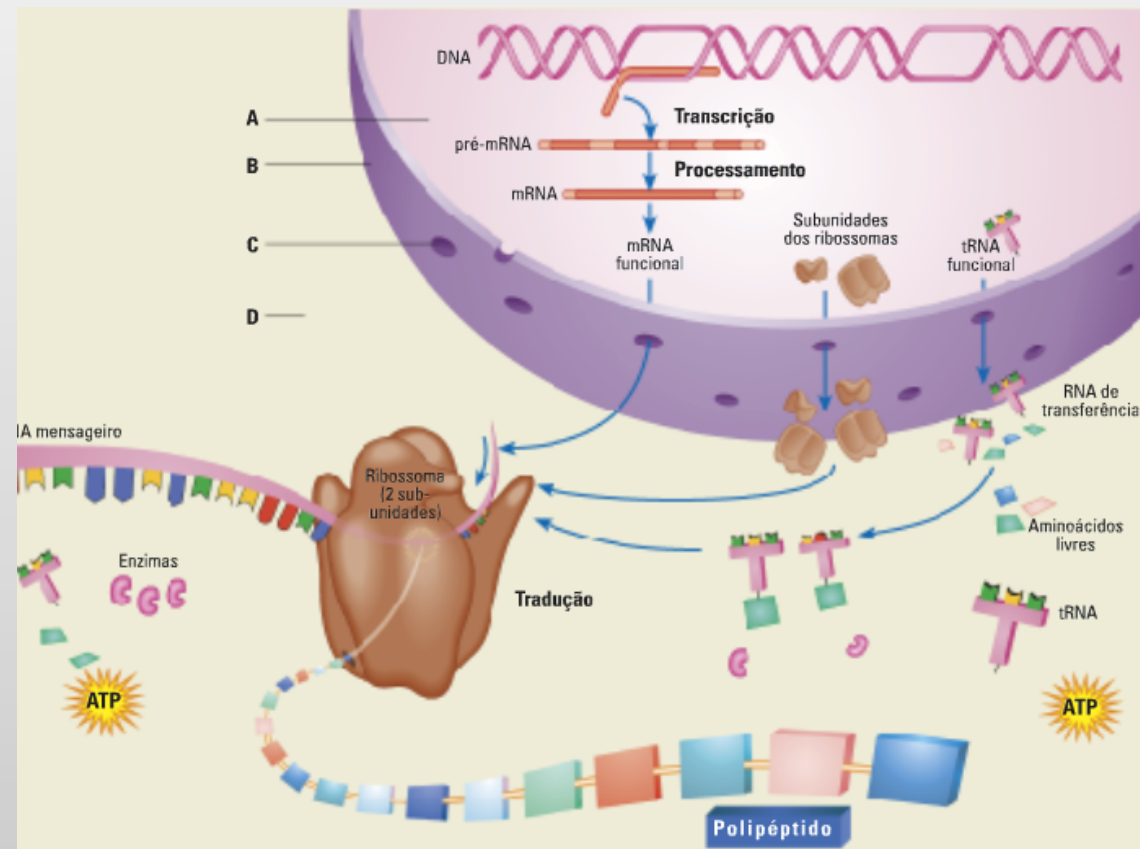
(III) Inativação de um gene

- ❑ Expressão do produto de um gene anormal:
- ❑ Desequilíbrio na célula;
- ❑ Não é fundamental para a célula ou para o indivíduo;



(III) Inativação de um gene

- DNA
- RNAm
- Proteína



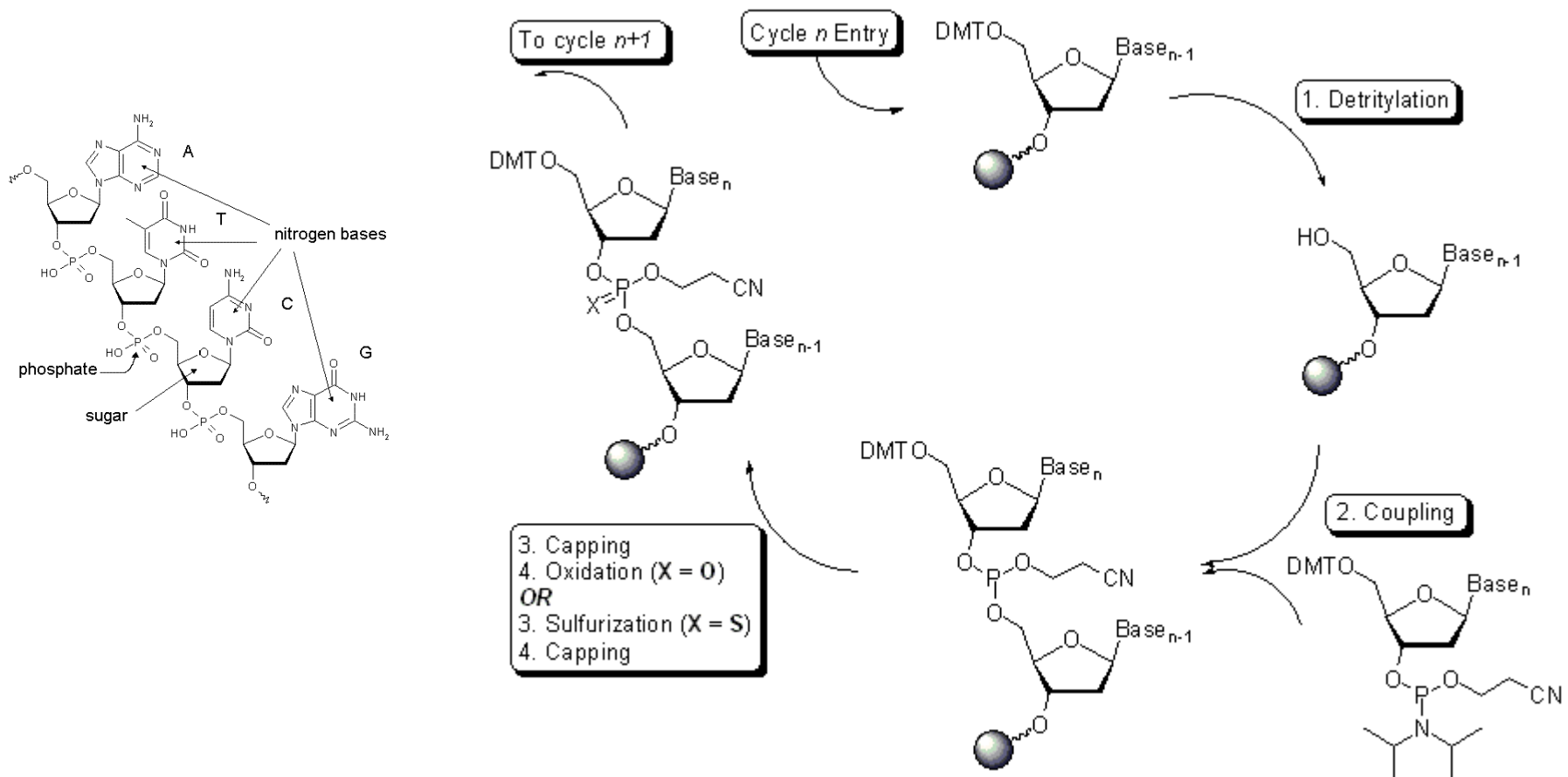
(III) Inativação de um gene

- Oligonucleotídeo Antisense

- RNA interferente ou RNA de interferência

OLIGONUCLEOTÍDEOS

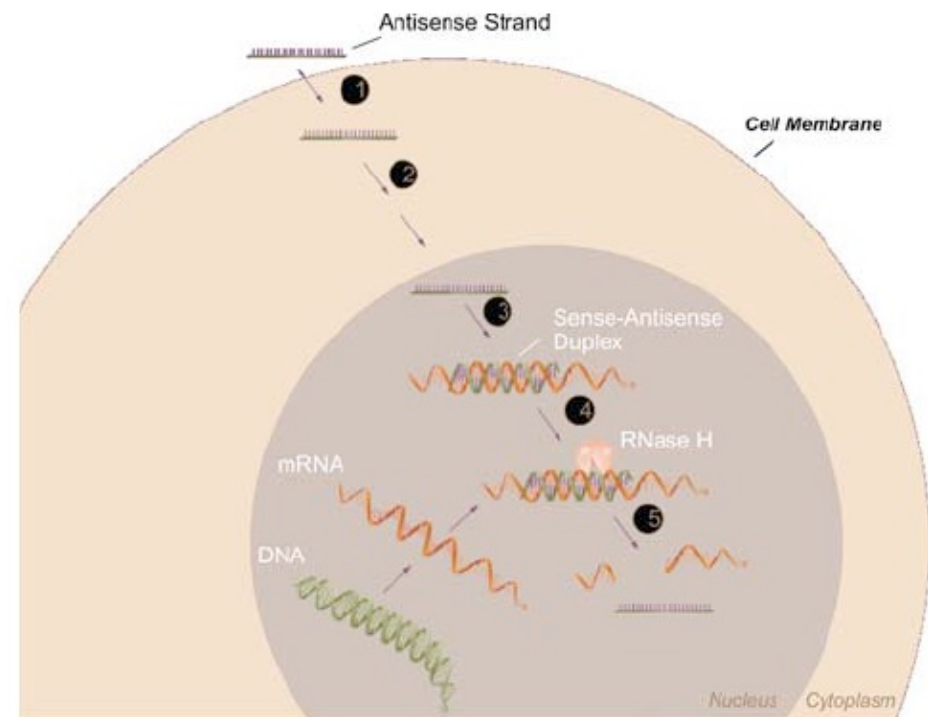
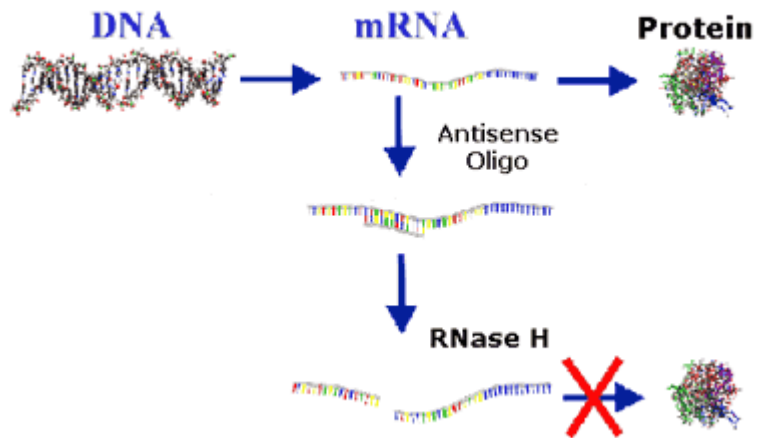
É um fragmento curto de uma cadeia simples de ácido nucléico (DNA ou RNA), tipicamente com 20 ou menos bases



USO DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS

- Iniciadores (*primers*) para seqüenciamento e amplificação de DNA;
- Sondas para detecção de cDNA ou RNA (ex: *microarrays* de DNA; *southern blots* e hibridização *in situ*);
- Ferramenta para introdução de mutações e restrições sítio-dirigidas;
- Ferramenta para síntese artificial de genes;
- **Oligonucleotídeos antisense;**

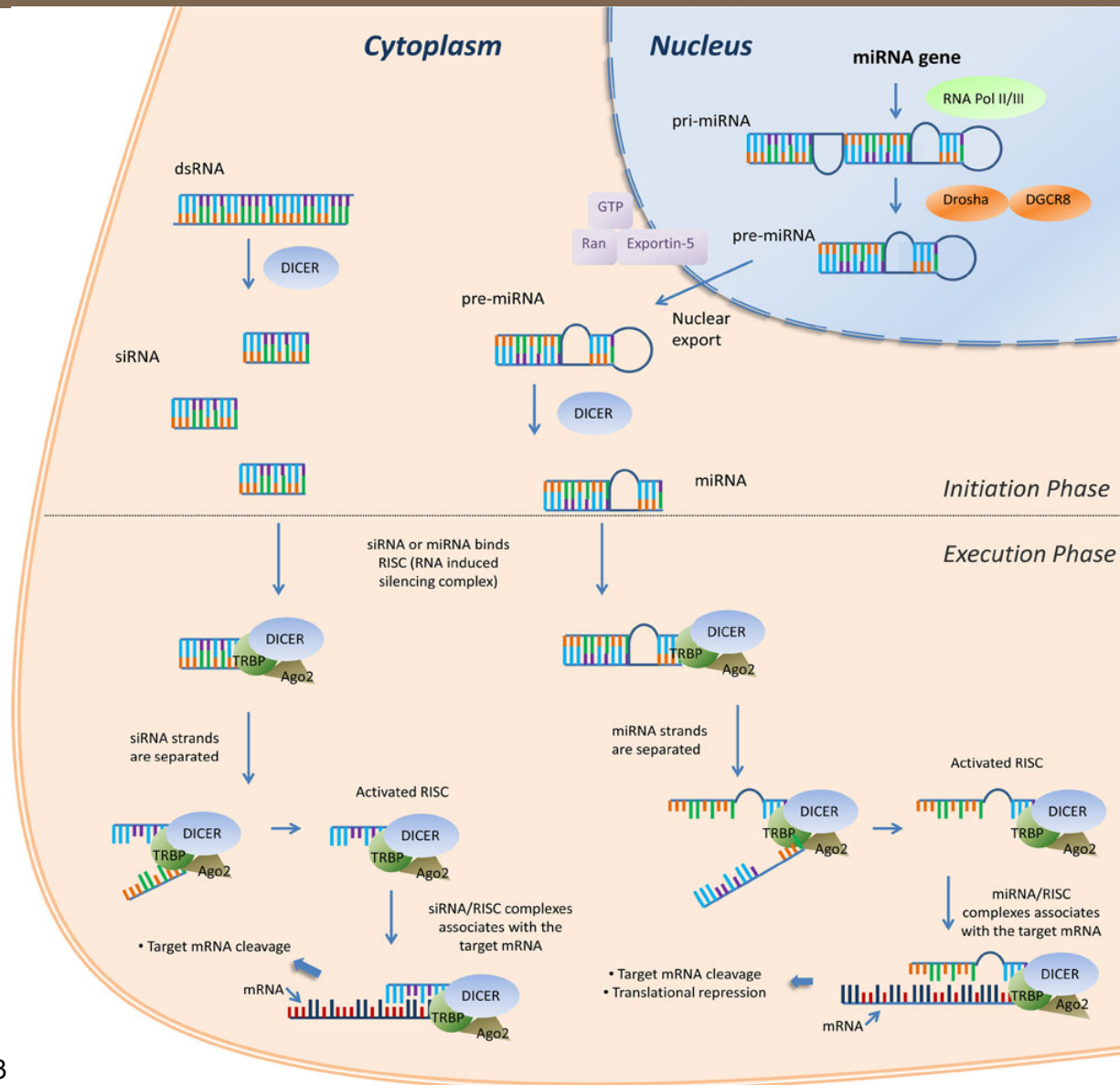
OLIGONUCLEOTÍDEOS ANTISENSE (ASO)



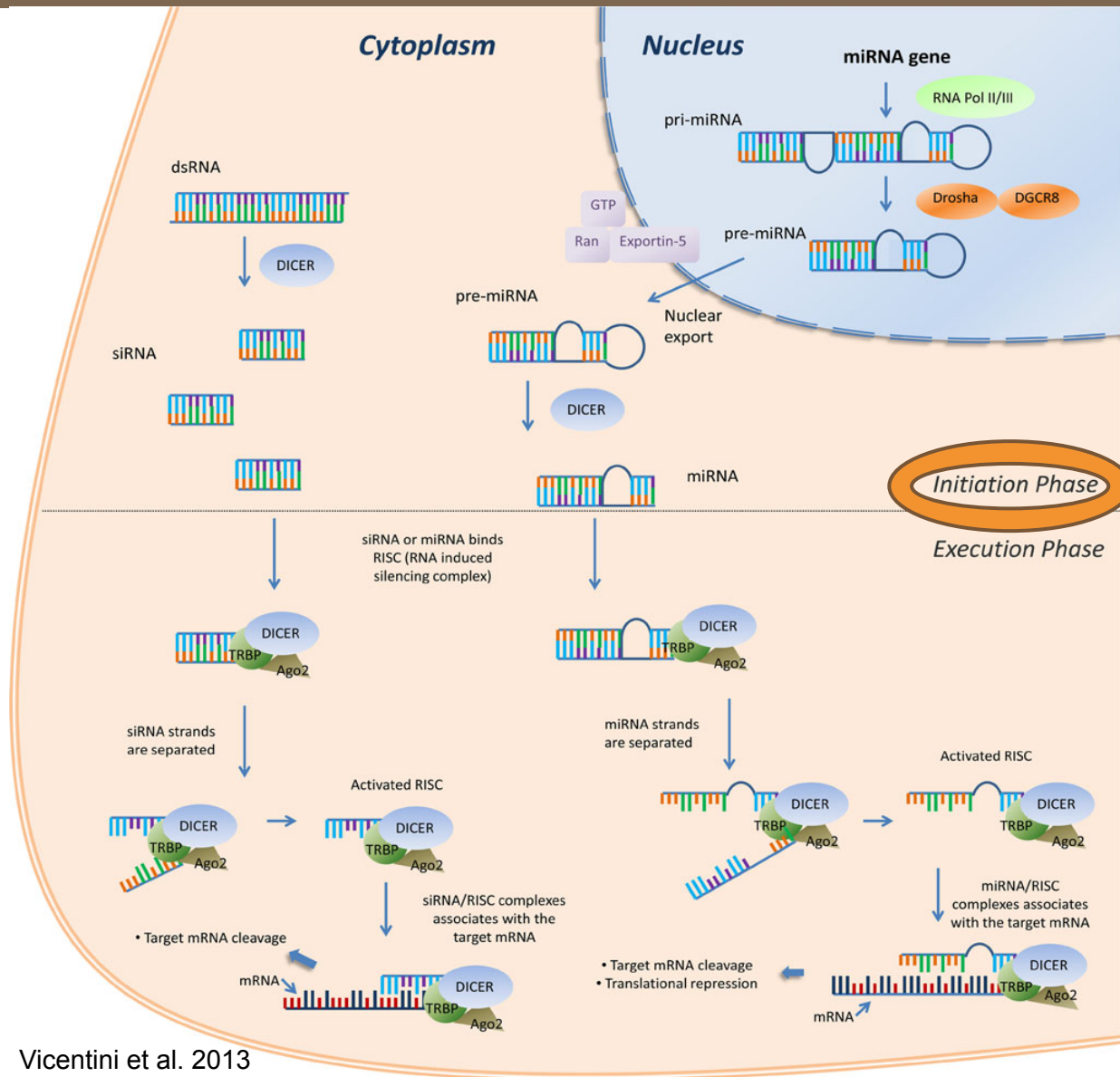
RNAi (RNA interferente ou RNA de interferência)

- Mecanismo exercido por moléculas de RNA complementares a RNAs mensageiros, o qual inibe a expressão gênica na fase de tradução ou dificulta a transcrição de genes específicos;
- miRNA – produtos da transcrição de genes presentes em muitos eucariotos;
- siRNA - derivados de longas moléculas de RNA dupla fita de origem exógena (como aquelas provenientes de vírus de RNA)

RNAi (RNA interferente ou RNA de interferência)

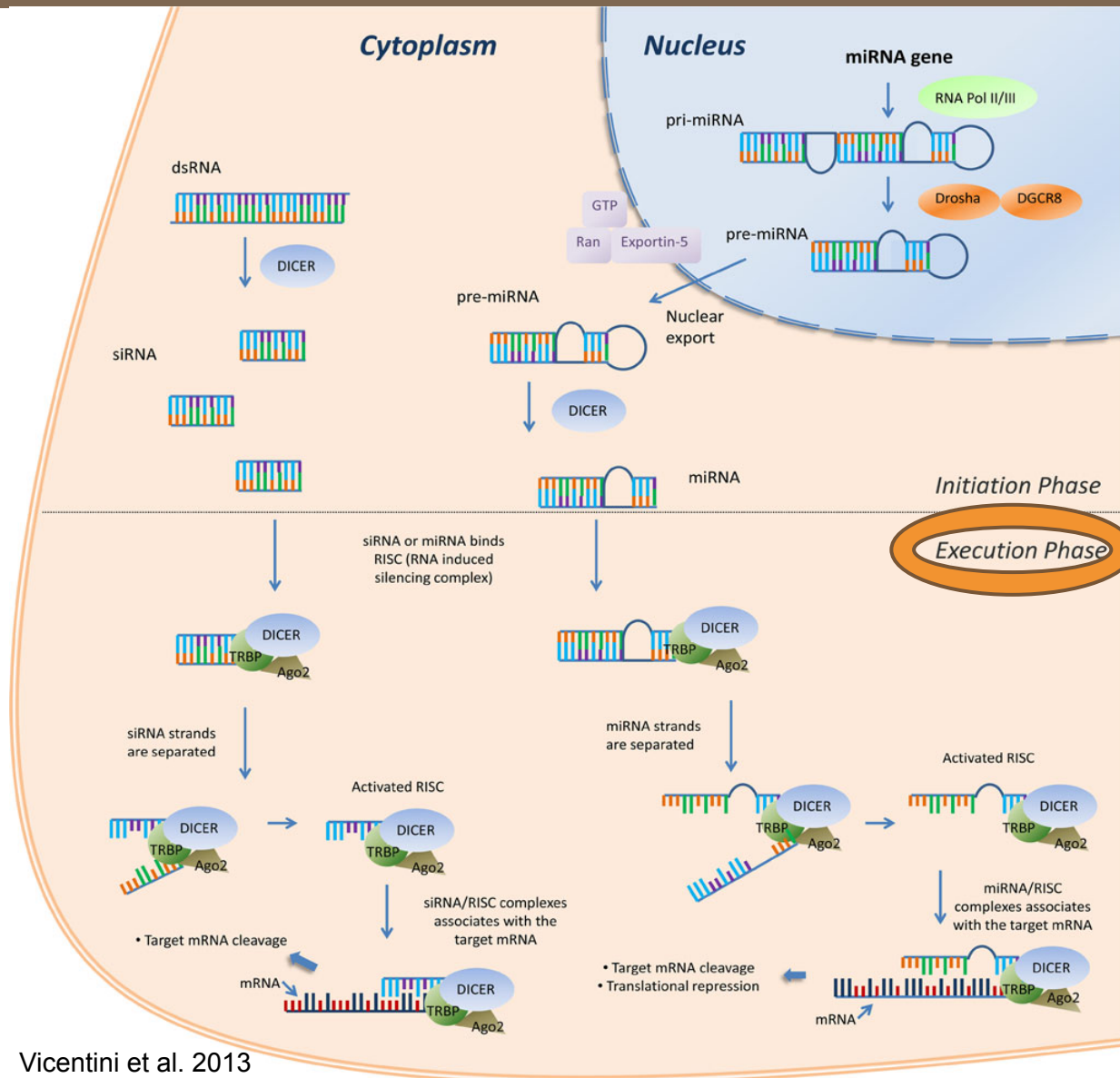


RNAi (RNA interferente ou RNA de interferência)



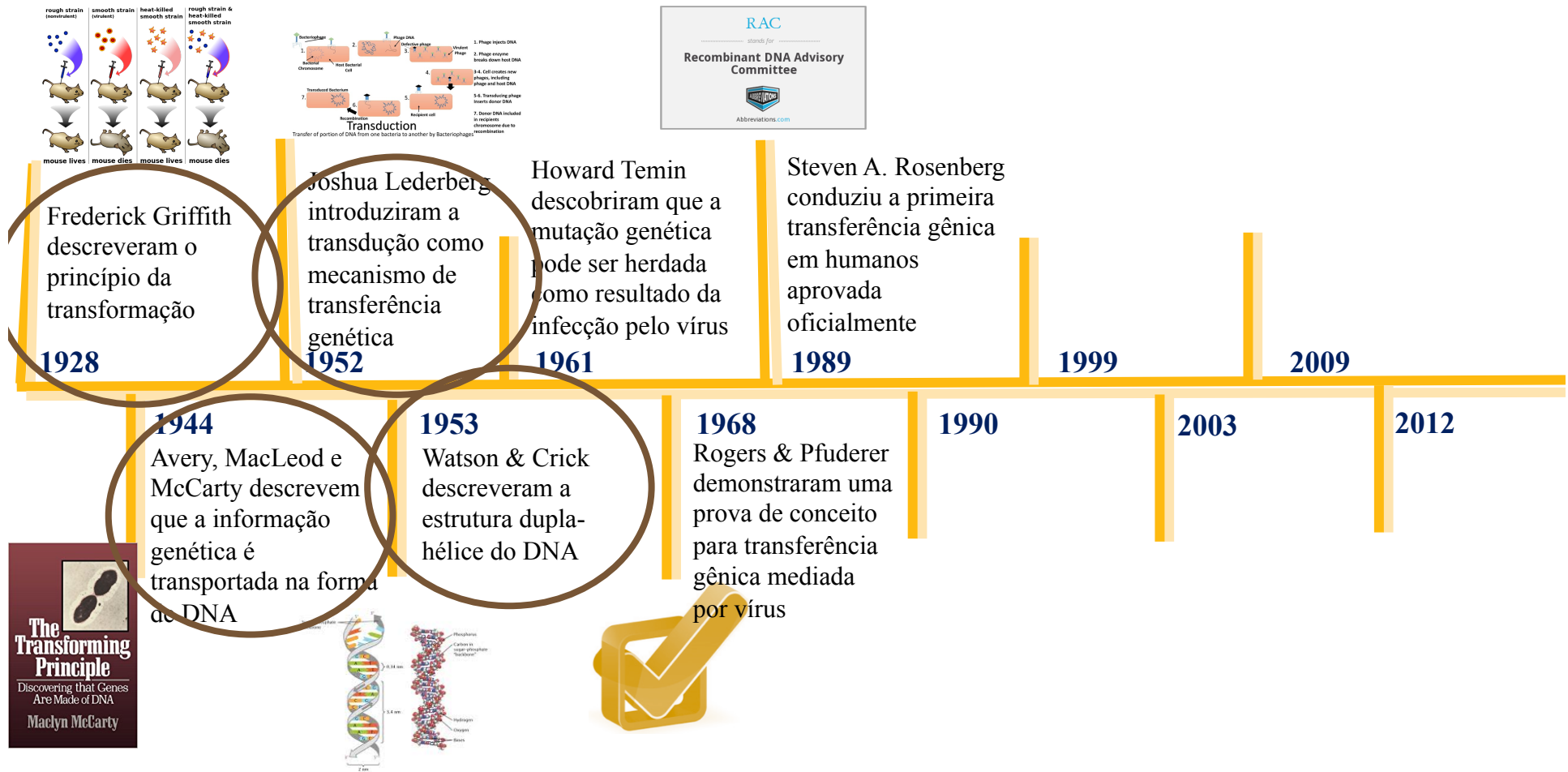
□ Moléculas efetoras (siRNA e microRNA (mi-RNA)) são geradas

RNAi (RNA interferente ou RNA de interferência)



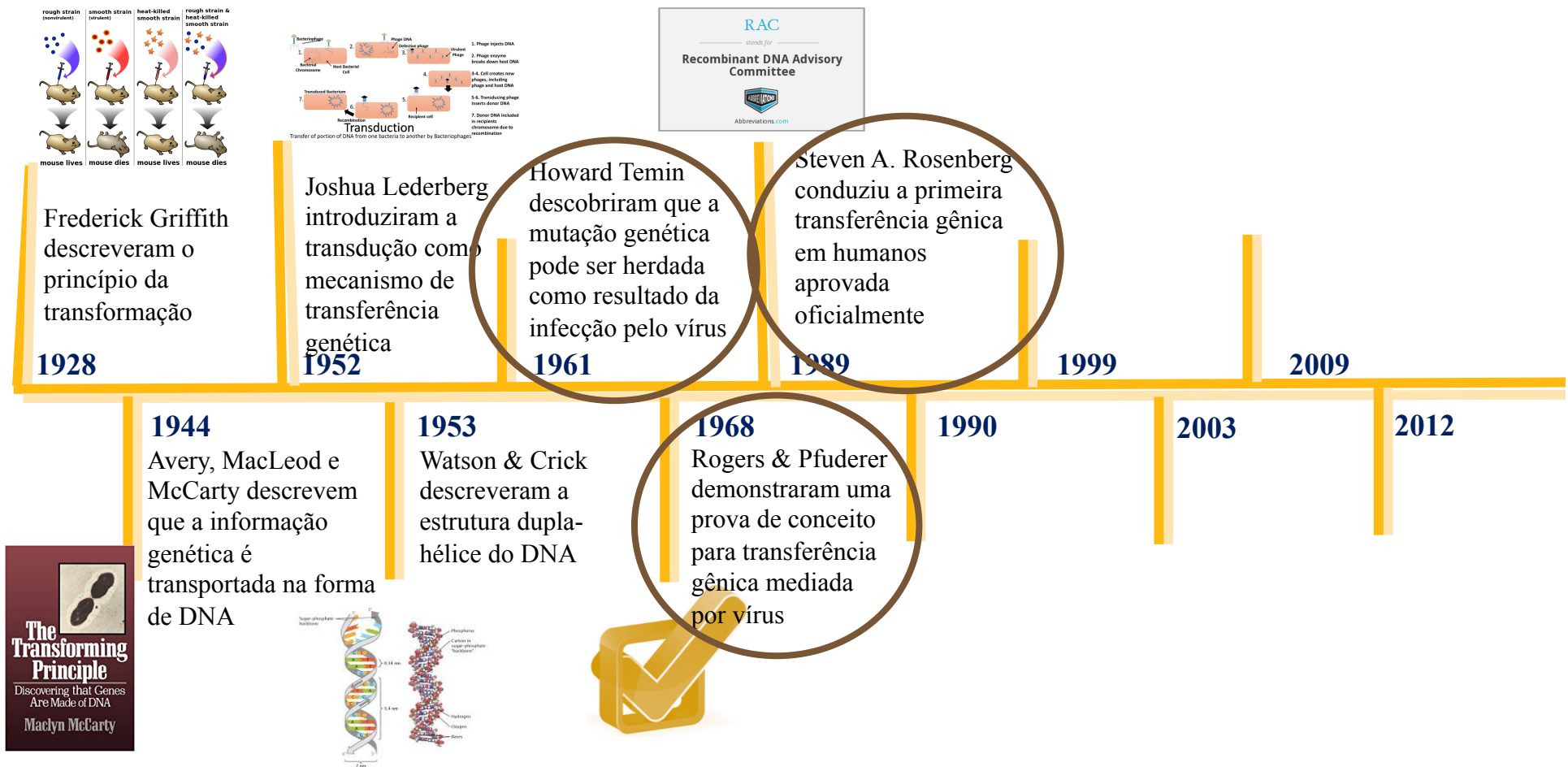
- Ocorre a incorporação das moléculas efetoras em complexos protéicos e promoção do silenciamento gênico

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

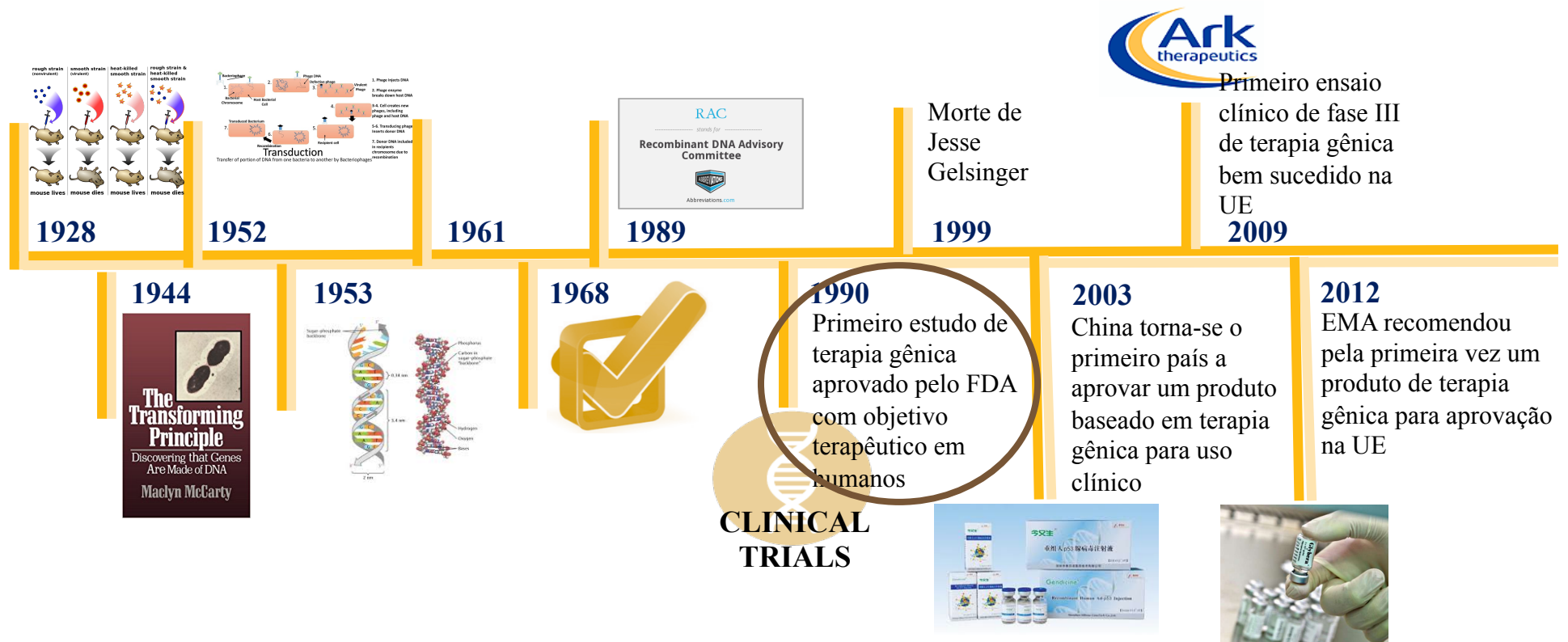
Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

Adaptado de Wirth et al., 2013

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

Adaptado de Wirth et al., 2013

1990 – Tratamento de uma menina de 4 anos Síndrome da imunodeficiência combinada severa

- ❑ Principais causas de SCID - Deficiência da enzima adenosina desaminase (ADA);
- ❑ Mutações no gene - degeneração das células T do sistema imune;
- ❑ Tratamento convencional: reposição da enzima através de injeções semanais;
- ❑ Paciente desenvolveu uma alergia ao preparado da enzima usado para injeções;
- ❑ Autorização dos comitês de ética - médico William French Anderson iniciar um teste de TG

Cada um ou dois meses

Retiravam
células T
do sangue

Inseriam o
gene da ADA
e induziam a
proliferação
dessas
células

Devolviam
as células
tratadas
para o
sangue da
paciente


Retrovírus

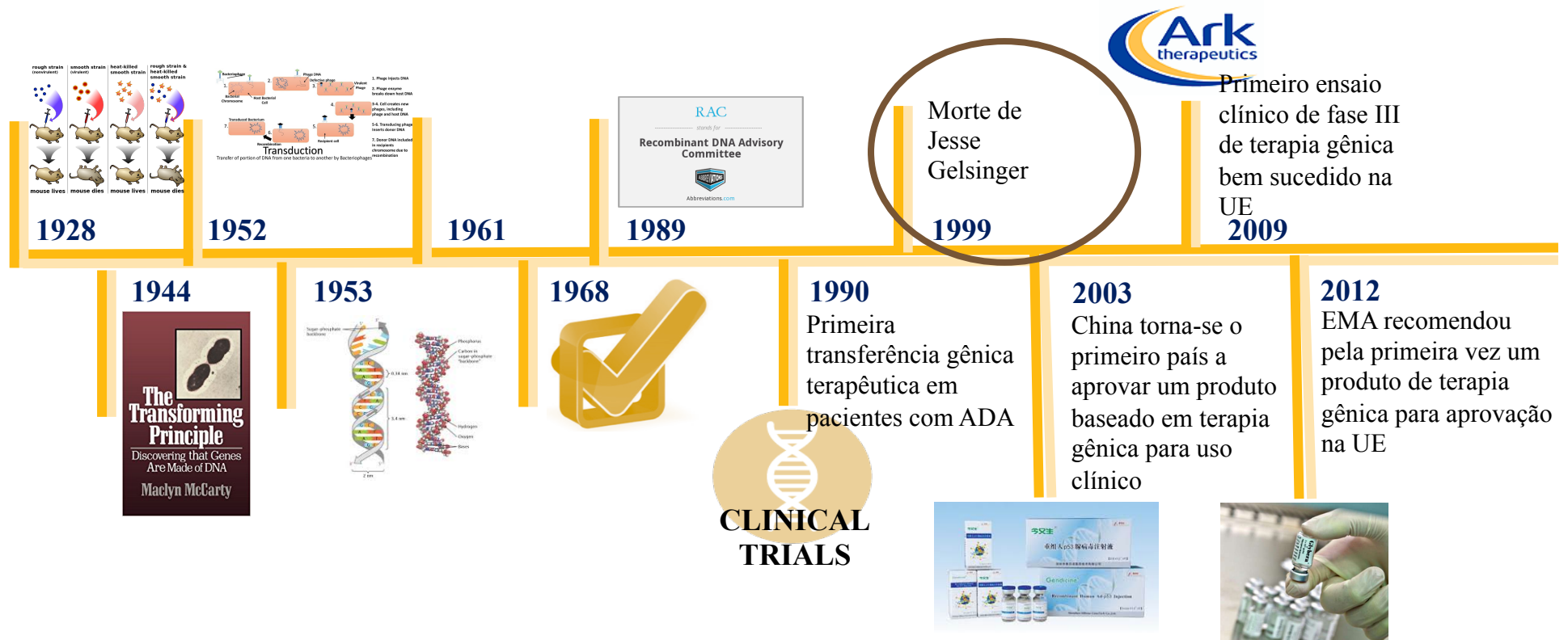
Resultados

- ❑ Melhora clínica - redução da quantidade de enzima que era necessário repor;
- ❑ Níveis da enzima no sangue das pacientes aumentaram progressivamente e se mantiveram estáveis no intervalo de descanso de 6 meses;
- ❑ 12 anos após terminarem as infusões
- ❑ Grande números de células T continuaram expressando o gene terapêutico

Sucesso Clínico

Marco na história da TG e inspirou o crescimento dessa área de investigação científica

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

Adaptado de Wirth et al., 2013

Segurança

1999

-
- Teste suspenso definitivamente pelas Agências Reguladoras, apesar da ausência de efeitos adversos graves nos outros 17 pacientes
- tratados no mesmo estudo
-

de

um

ada

Segurança

2002

- ❑ Síndrome de imunodeficiência combinada severa ligada ao cromossomo X (SCID-XL)

20
crianças
< 1 ano

05 -
leucemia

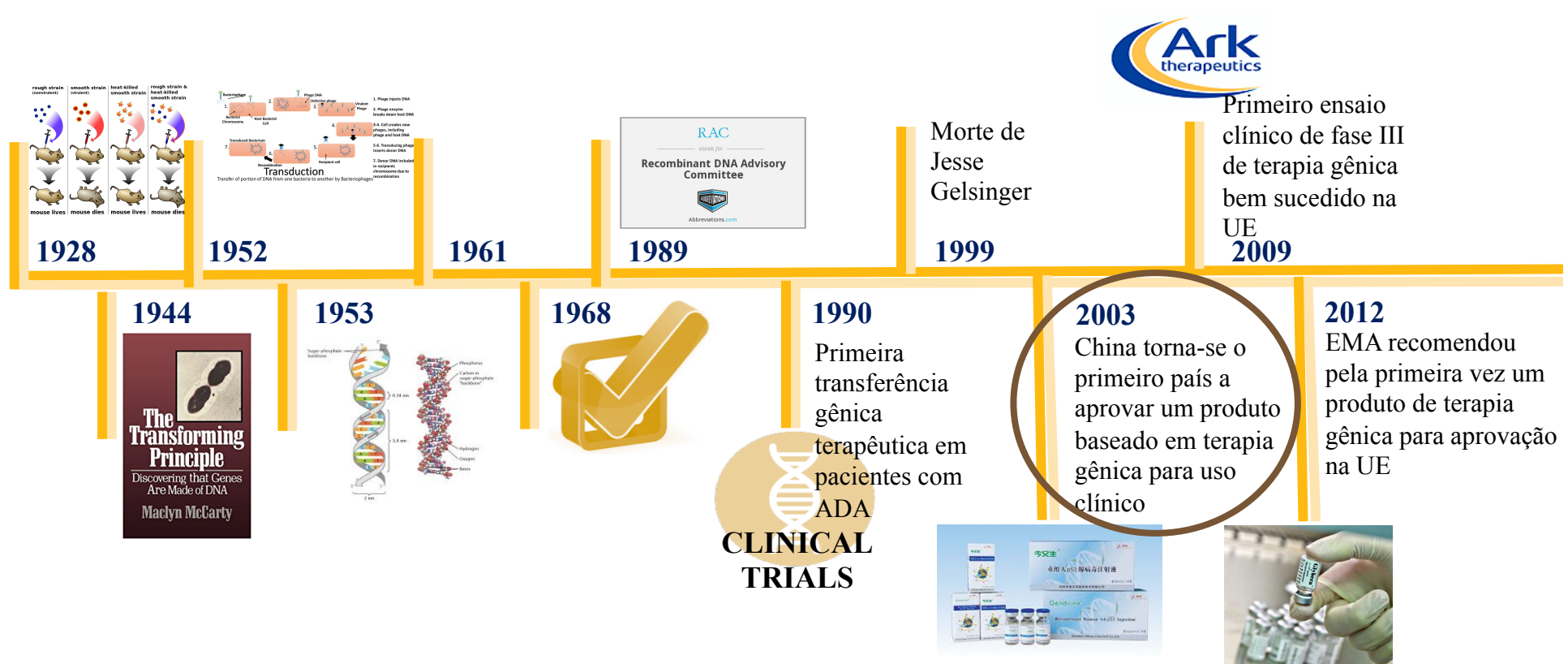
01 - óbito;
04 - remissão
completa após
quimioterapia

Vetores retrovirais

Segurança

- ❑ Constituem os exemplos mais graves efetivamente caracterizados como efeitos adversos diretos da TG;
- ❑ Origem em características dos vetores virais utilizados

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

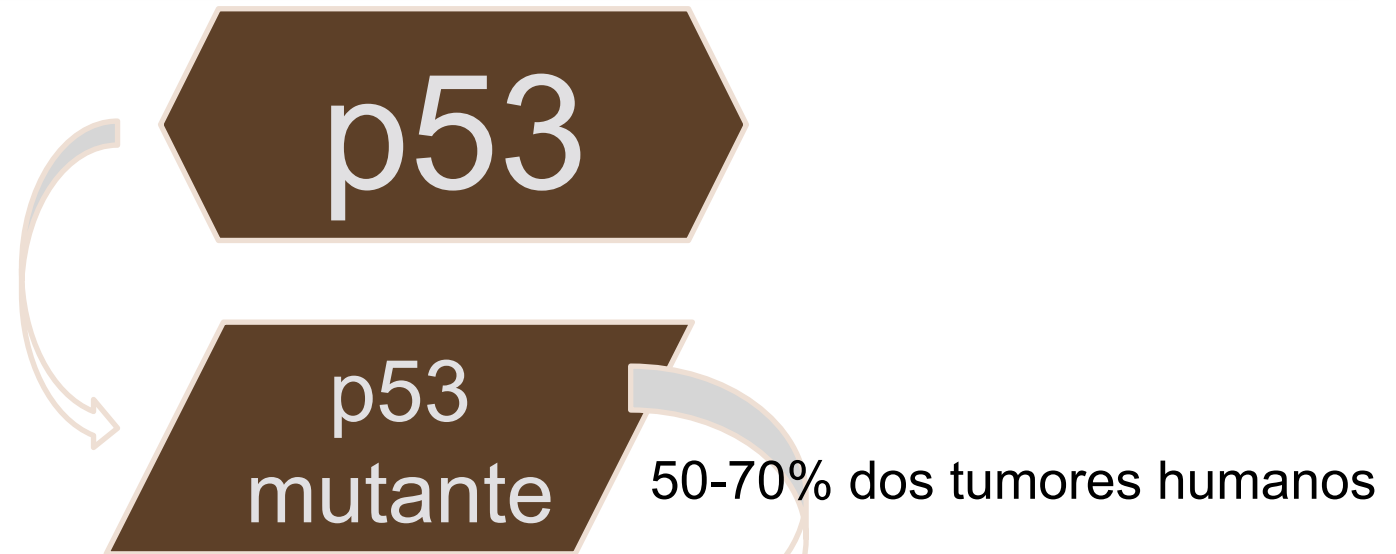
Adaptado de Wirth et al., 2013

Gendicine®

- ❑ Aprovado para comercialização em 2003
- ❑ China's State Food and Drug Administration - SFDA;
- ❑ Tratamento de carcinoma de cabeça e pescoço;
- ❑ Shenzhen Sibiono Genetech

Gendicine®

□ rAd-p53



- Inativos
- Funções oncogênicas
- Proteínas resultantes - resistência a quimioterápicos

Gendicine®

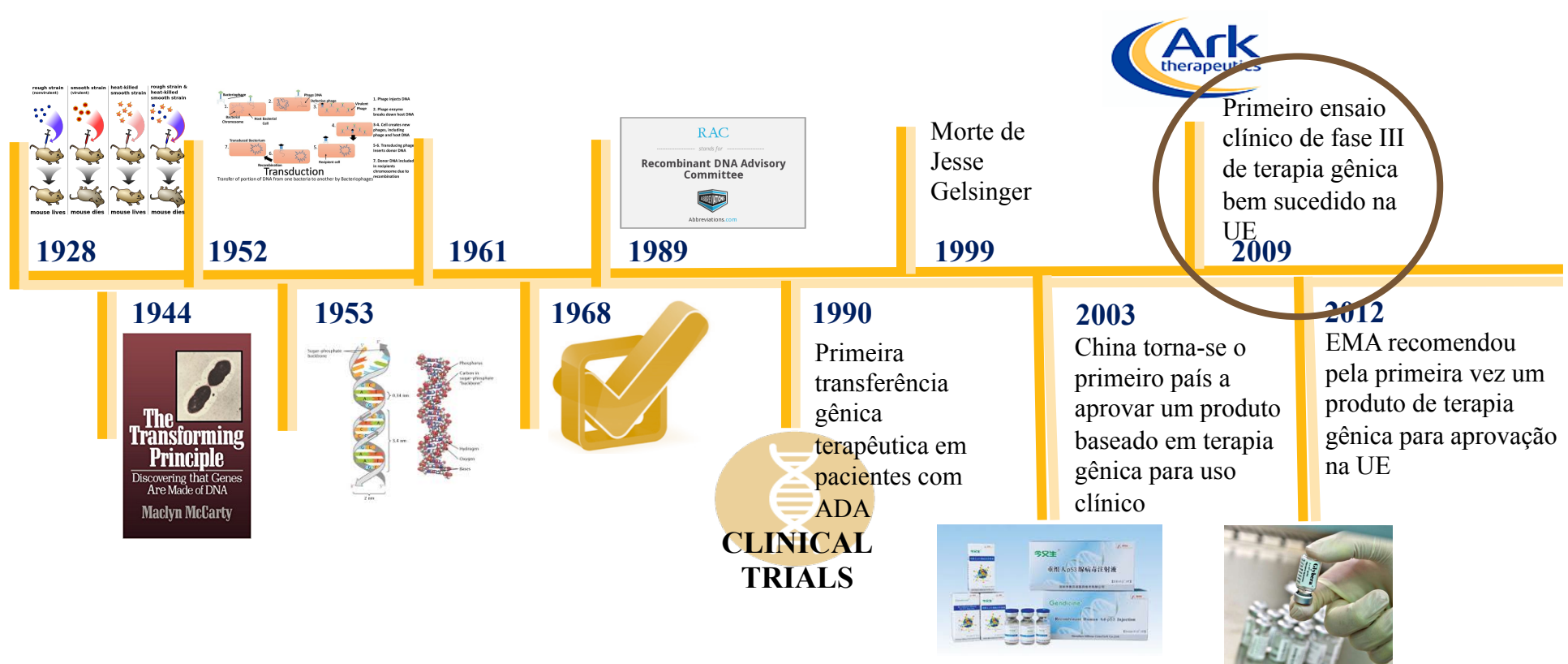
☐ Controle e eliminação do tumor;



Food and Drug Administration da China aprovou a Gendicine sem dados de um ensaio clínico de fase III

e

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

Adaptado de Wirth et al., 2013

Cerepro[®]

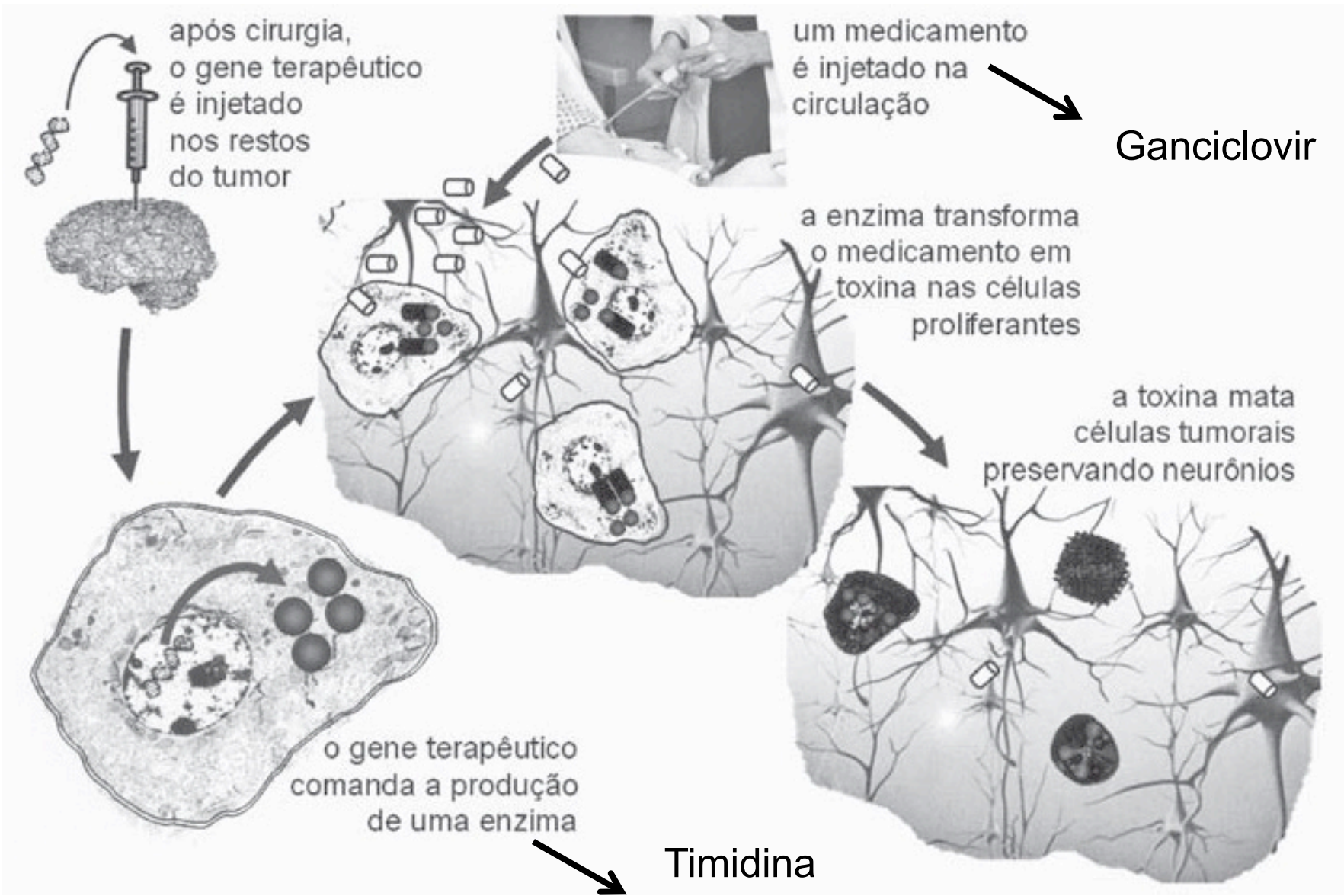
- ❑ Vetor adenoviral que contém o gene da timidina quinase do vírus Herpes simplex (HSV-tk)
- ❑ Tratamento de tumores cerebrais malignos

- ❑ Ensaio clínico de fase I/II - Aumento significativo da sobrevida do grupo de 17 pacientes tratados por TG

- ❑ Vetor – Ark Therapeutics:
- ❑ Estudo multicêntrico de fase III com 250 pacientes;
- ❑ Fevereiro de 2009 = primeira autorização para uso compassionado do produto

Câncer

- ❑ Maioria dos ensaios clínicos de TG;
- ❑ Morte seletiva das células tumorais;
- ❑ Diversas abordagens da TG:
 - “Técnica de genes suicidas”;
 - Melhoria mecanismos de defesa imunológica dirigidos contra as células tumorais



após cirurgia,
o gene terapêutico
é injetado
nos restos
do tumor

um medicamento
é injetado na
circulação

Ganciclovir

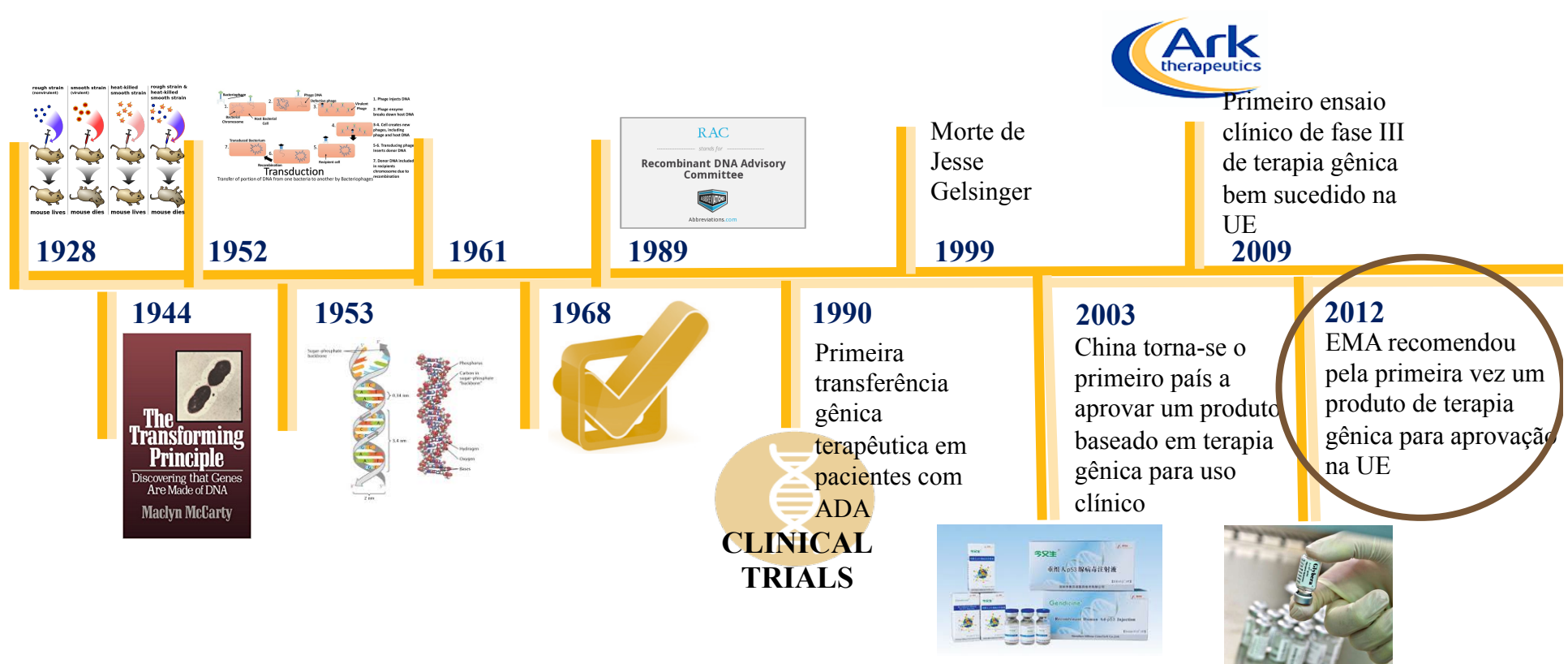
a enzima transforma
o medicamento em
toxina nas células
proliferantes

a toxina mata
células tumorais
preservando neurônios

o gene terapêutico
comanda a produção
de uma enzima

Timidina
quinase

Histórico – Terapia Gênica



Cronograma destacando alguns marcos importantes da Terapia Gênica

Adaptado de Wirth et al., 2013

Glybera®

❑ Originalmente desenvolvido pela Amsterdam Molecular Therapeutics e agora comercializado pela UniQure

❑ Foi reprovado três vezes antes de receber uma
❑ recomendação positiva para aprovação pelo
❑ Comitê dos Medicamentos de Uso Humano
(CHMP)

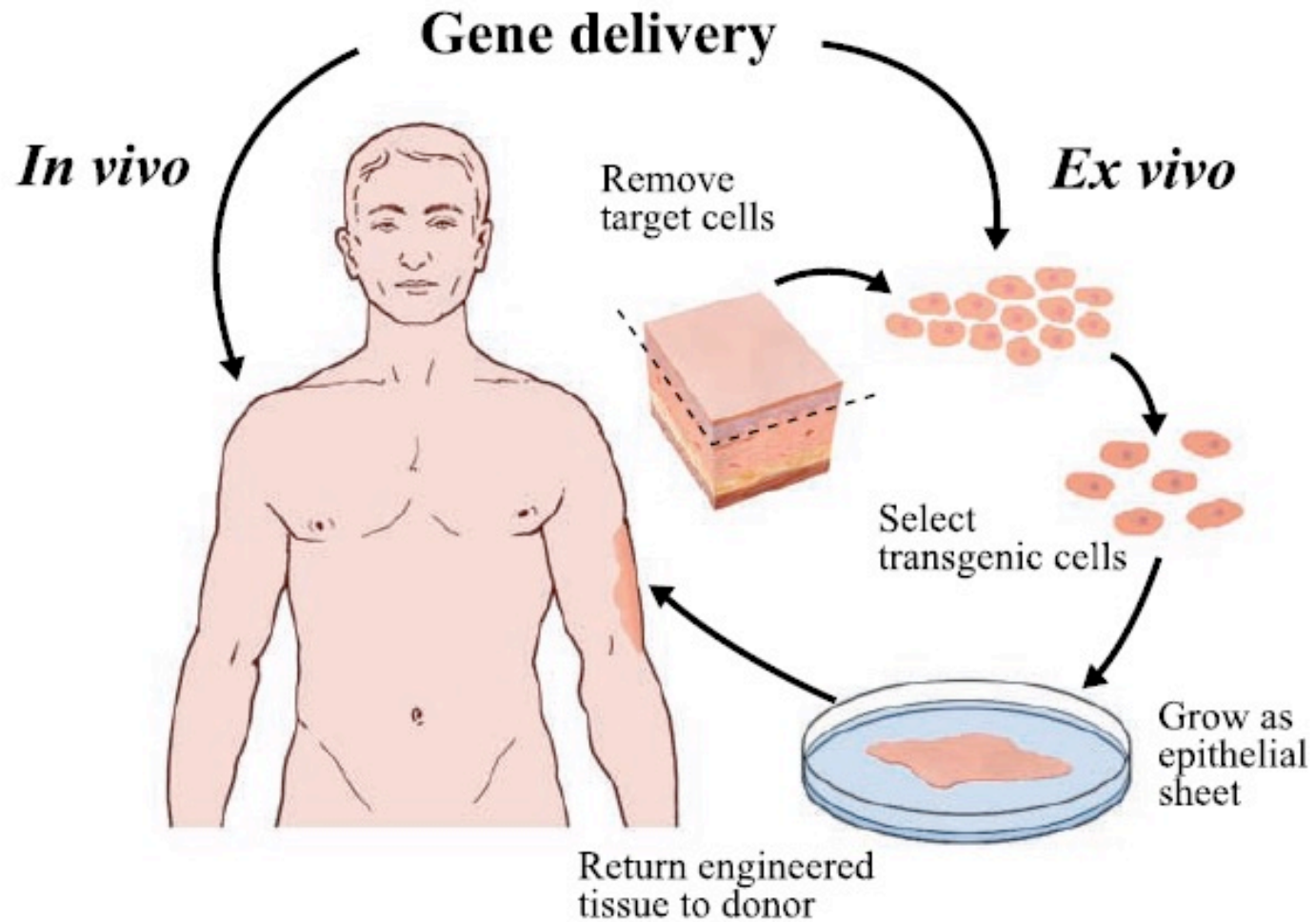
a



O que é necessário para a realização da TG?

- ❑ Compreensão do processo da doença – base molecular;
- ❑ Entender a estrutura e a função do gene a ser introduzido;
- ❑ Transporte eficiente do gene de interesse;
- ❑ Controle da expressão gênica;
- ❑ Prevenção e controle de resposta imune;

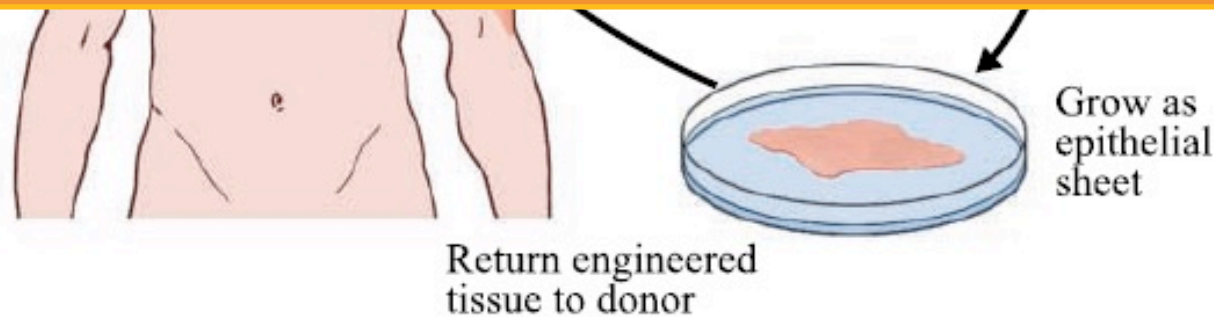
Introdução do material genético



Introdução do material genético

Gene delivery

○ transgene precisa se expressar de modo efetivo no organismo que o receberá



Introdução do material genético - *Ex vivo*

- ❑ Estar disponíveis em grandes quantidades;
- ❑ Longa vida após a transferência para célula hospedeira;
- ❑ Expressar o gene de interesse por um longo período de tempo;
- ❑ Não desencadear qualquer tipo de resposta imune.

Vantagens

Maior eficiência de transfecção e alcance da célula alvo;

Evita a administração de vetores diretamente para o paciente com o risco concomitante de disseminação sistêmica;

Possibilidade de caracterização da população de células modificadas antes da transferência;

Permite estudos de segurança

Desvantagens

Mais etapas;

Apenas alguns quadros clínicos são passíveis de tratamento;

Pequena porcentagem de células permanecem viáveis

***Ex vivo* – Epidermólise bolhosa**

Doença hereditária rara



Mutação autossômica recessiva laminina 332

componente chave da junção epiderme-derme



Fragilidade cutânea

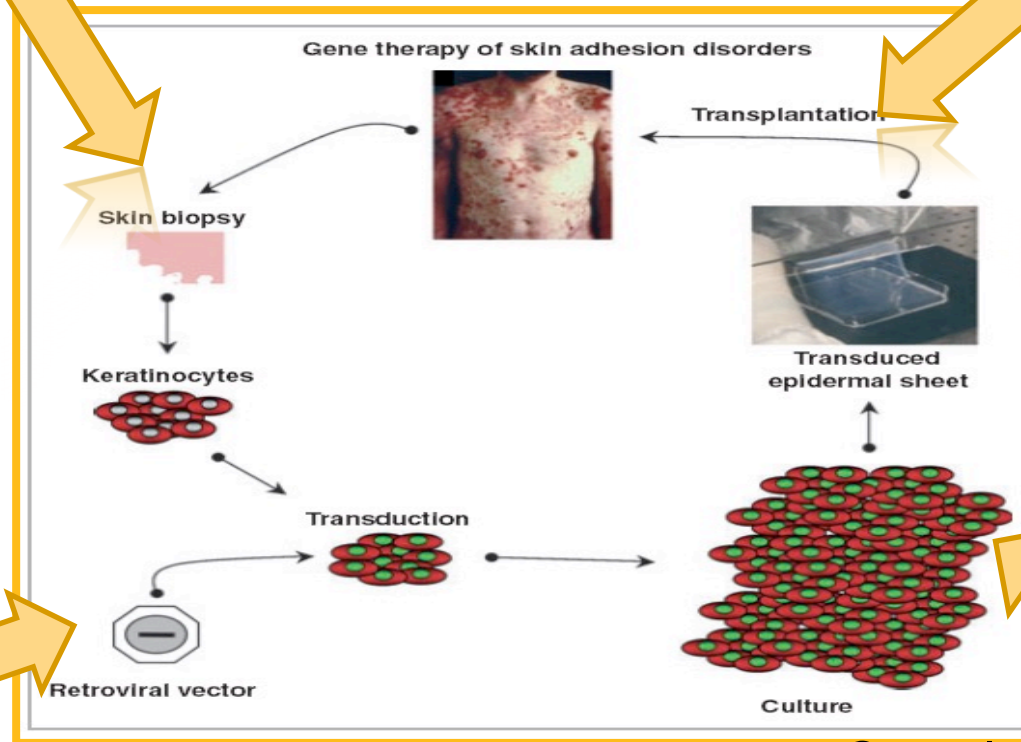
formação de bolhas por disjunção dermo-epidérmica em
conseqüência de pequenos traumatismos ou de fricção

Ex vivo – Epidermólise bolhosa

Sítio doador - presença de holoclones

Paciente 36 anos

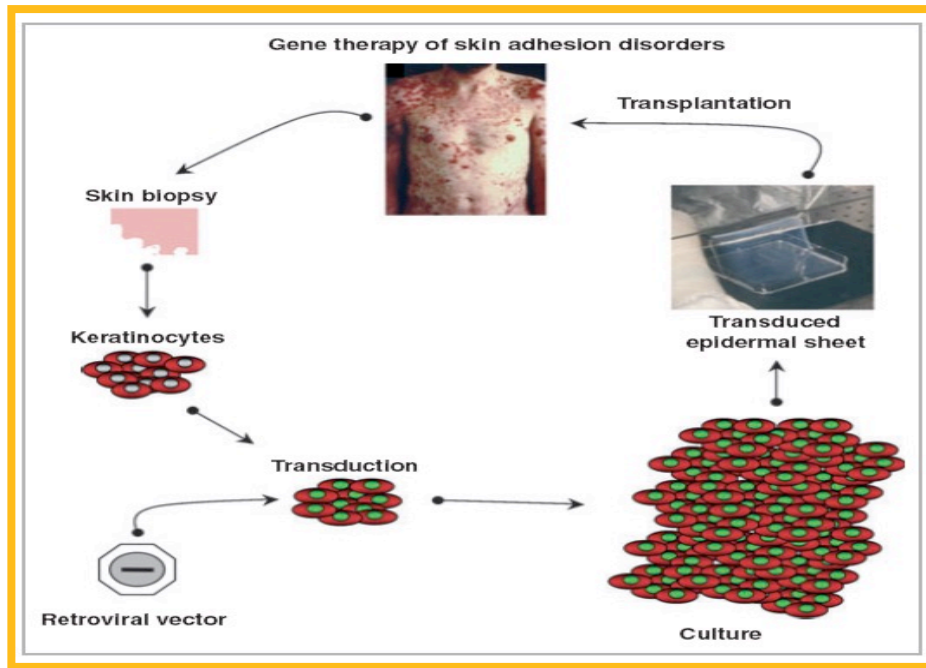
Out. 2005
Enxertos – coxas



Vetor retroviral
MLV-cDNA LAMB3
(>95% transfecção)

Completa restauração da síntese e expressão de laminina 332

Ex vivo – Epidermólise bolhosa



- 3-6 meses = Sem evidência de resposta imune;
- Exame clínico – pele normal

Introdução do material genético - *In vivo*

Características dos ácidos nucleicos

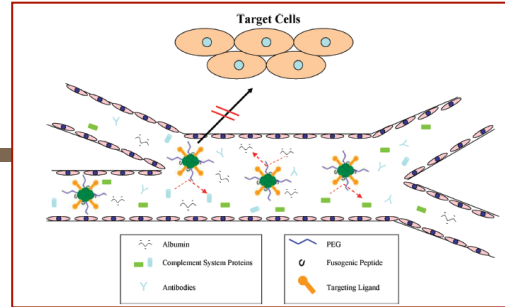
- ❑ Alvos são invariavelmente intracelular;
- ❑ Variam em tamanho de 10³ kDa (oligonucleotídeos) a 10⁶ kDa (genes);
- ❑ Macromoléculas hidrofílicas carregadas negativamente;
- ❑ Rapidamente degradados por endonucleases;

Introdução do material genético - *In vivo*

- Sucesso limitado da Terapia Gênica
- Dificuldades relacionadas com a entrega eficaz de ácidos nucleicos nas células alvo



Barreiras Biológicas



Fernandez & Rice, 2009

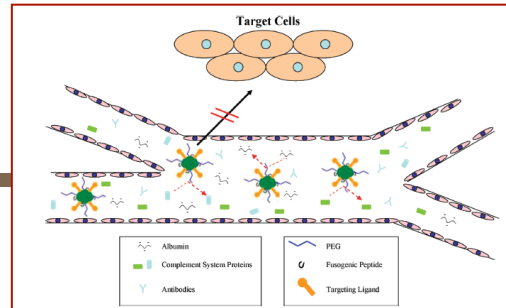
Metabolismo
prematureo fora da
célula alvo

Degradação pelas
endonucleases

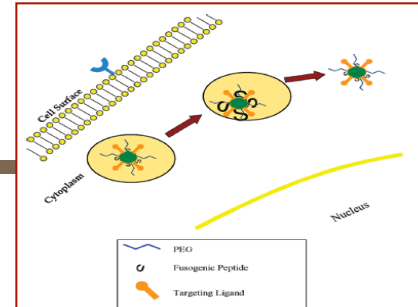
Reconhecimento
das células alvo

Internalização
celular

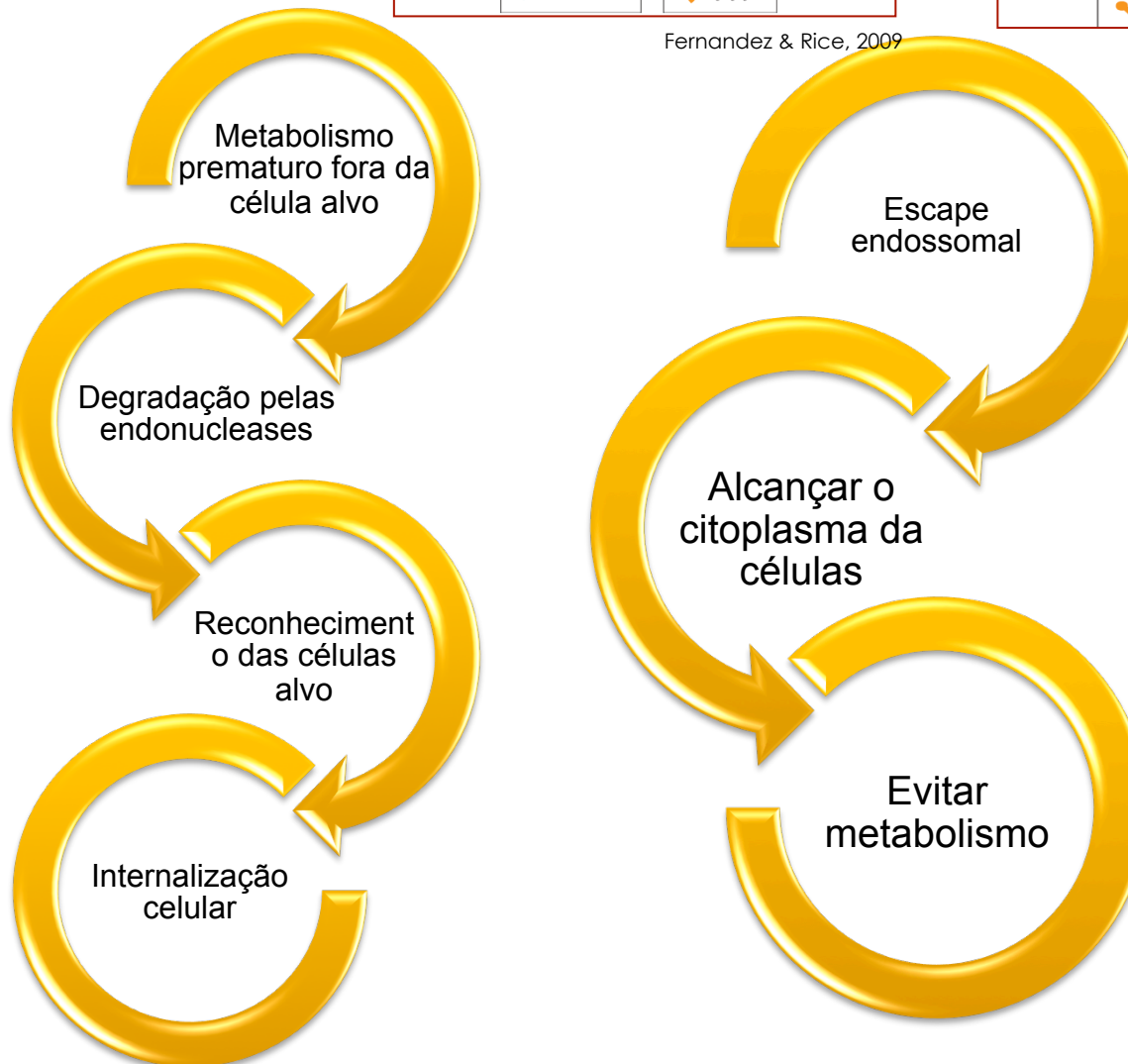
Barreiras Biológicas



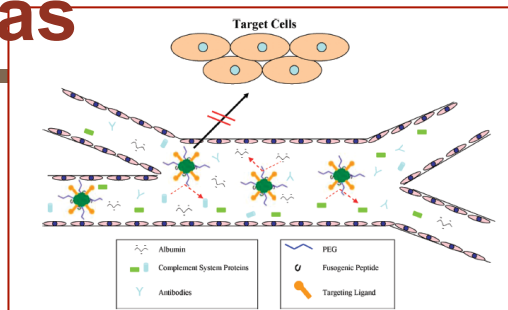
Fernandez & Rice, 2009



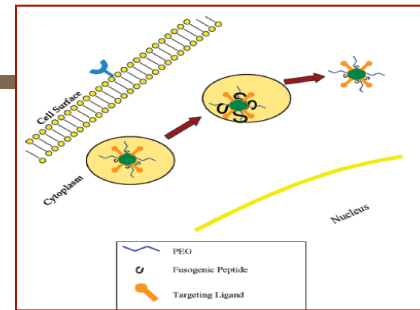
Fernandez & Rice, 2009



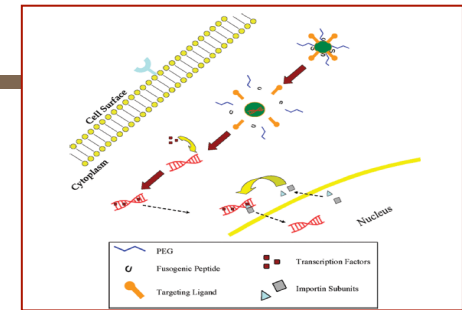
Barreiras Biológicas



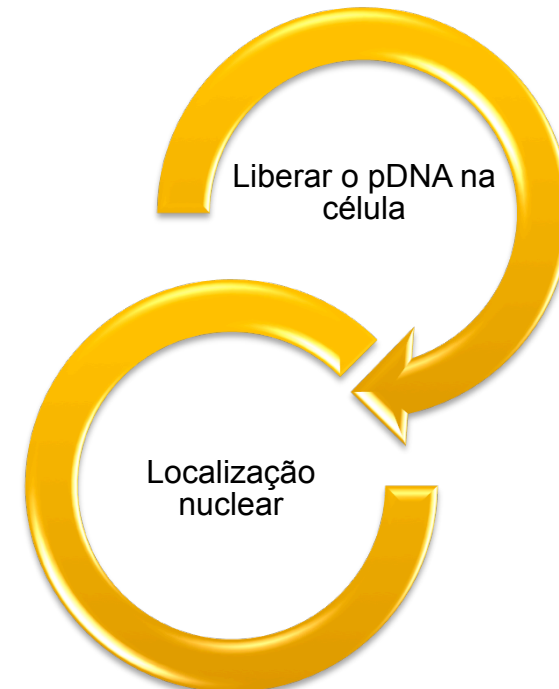
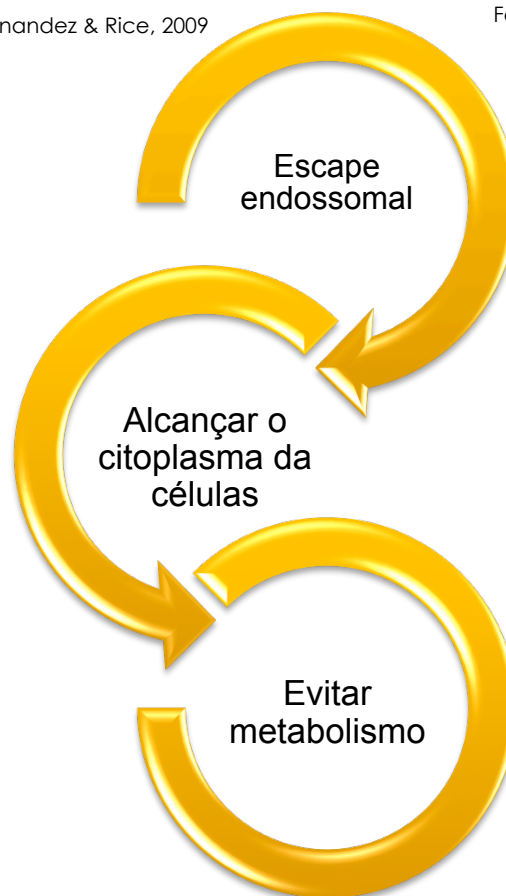
Fernandez & Rice, 2009



Fernandez & Rice, 2009



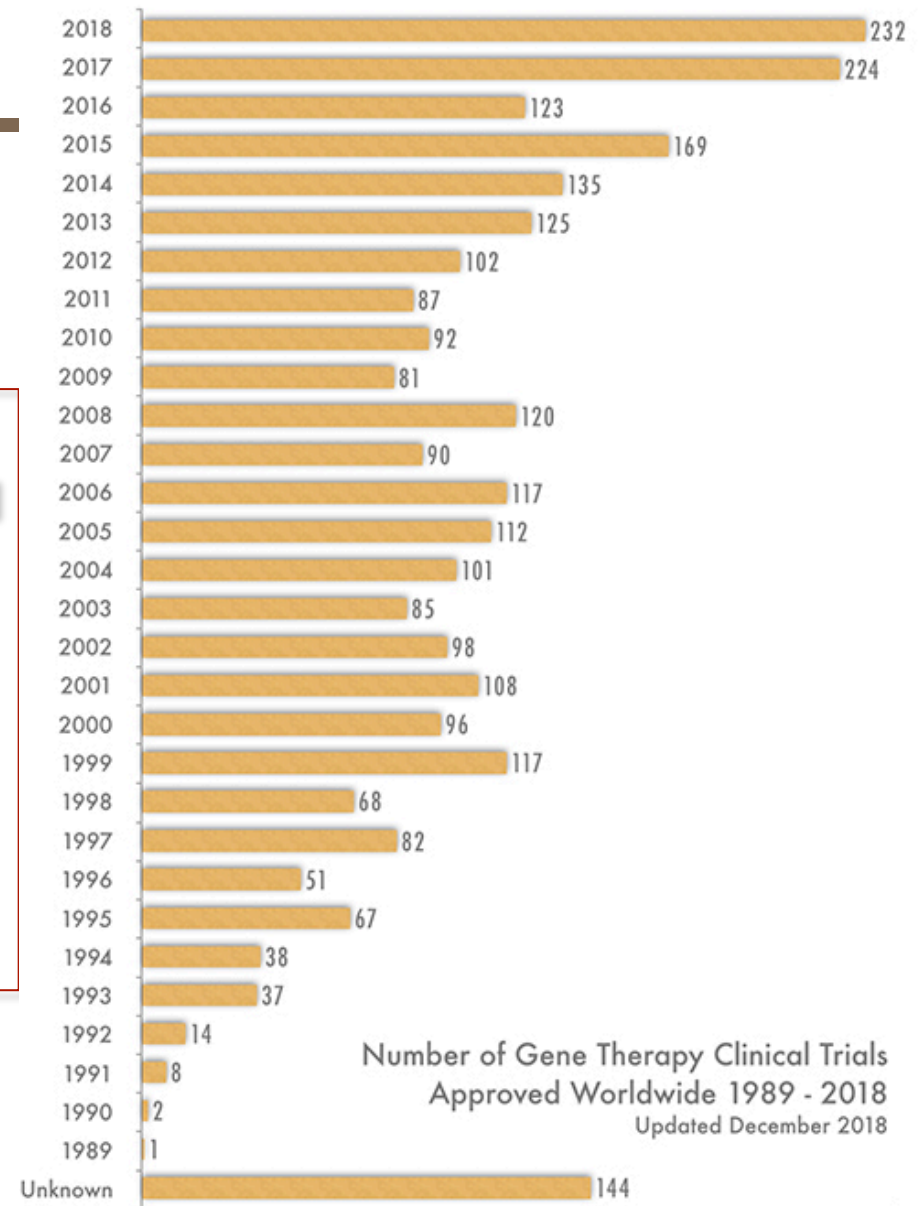
Fernandez & Rice, 2009



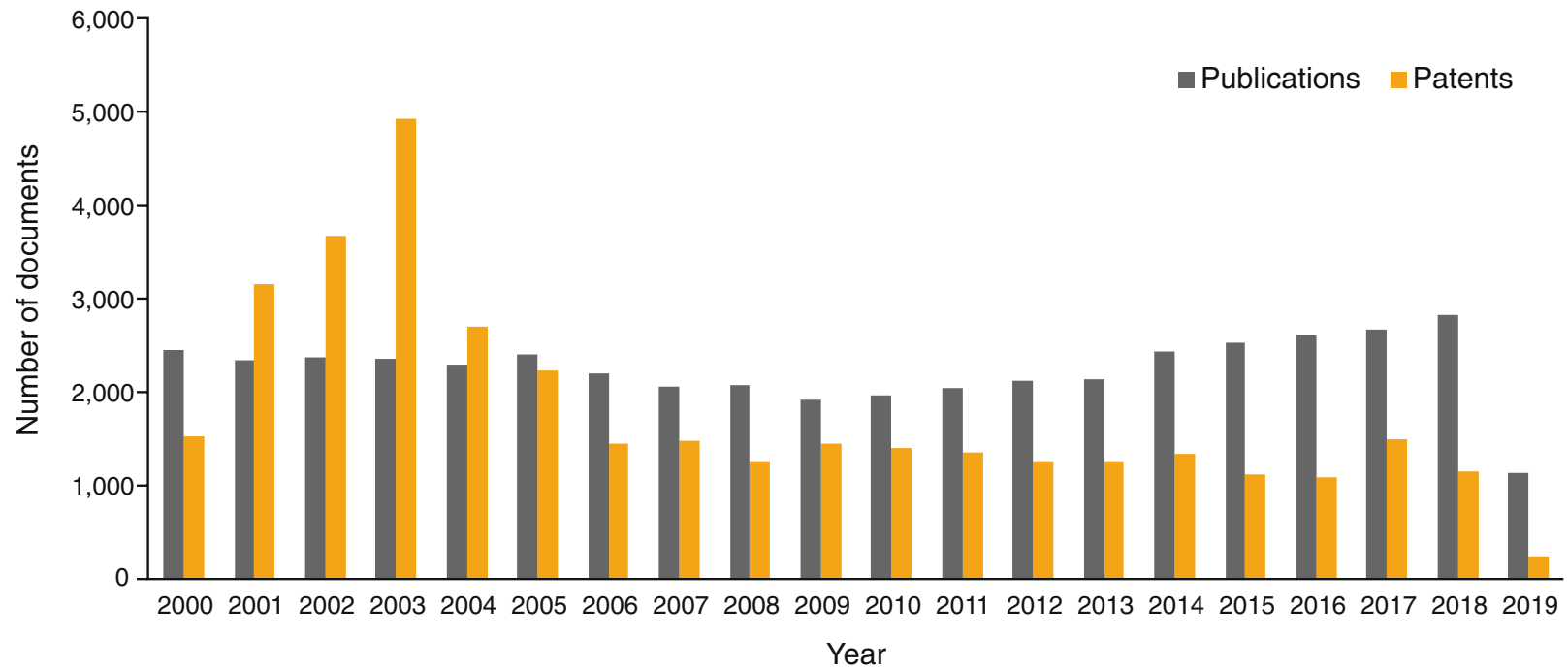
Contexto Atual – Terapia Gênica



- o uso de terapia gênica em medicina utilizando DNA plasmidial (pDNA), oligodeoxinucleotídeo (ODN) ou RNA de interferência (siRNA) representa uma nova e promissora abordagem para tratar uma variedade de doenças genéticas e adquiridas

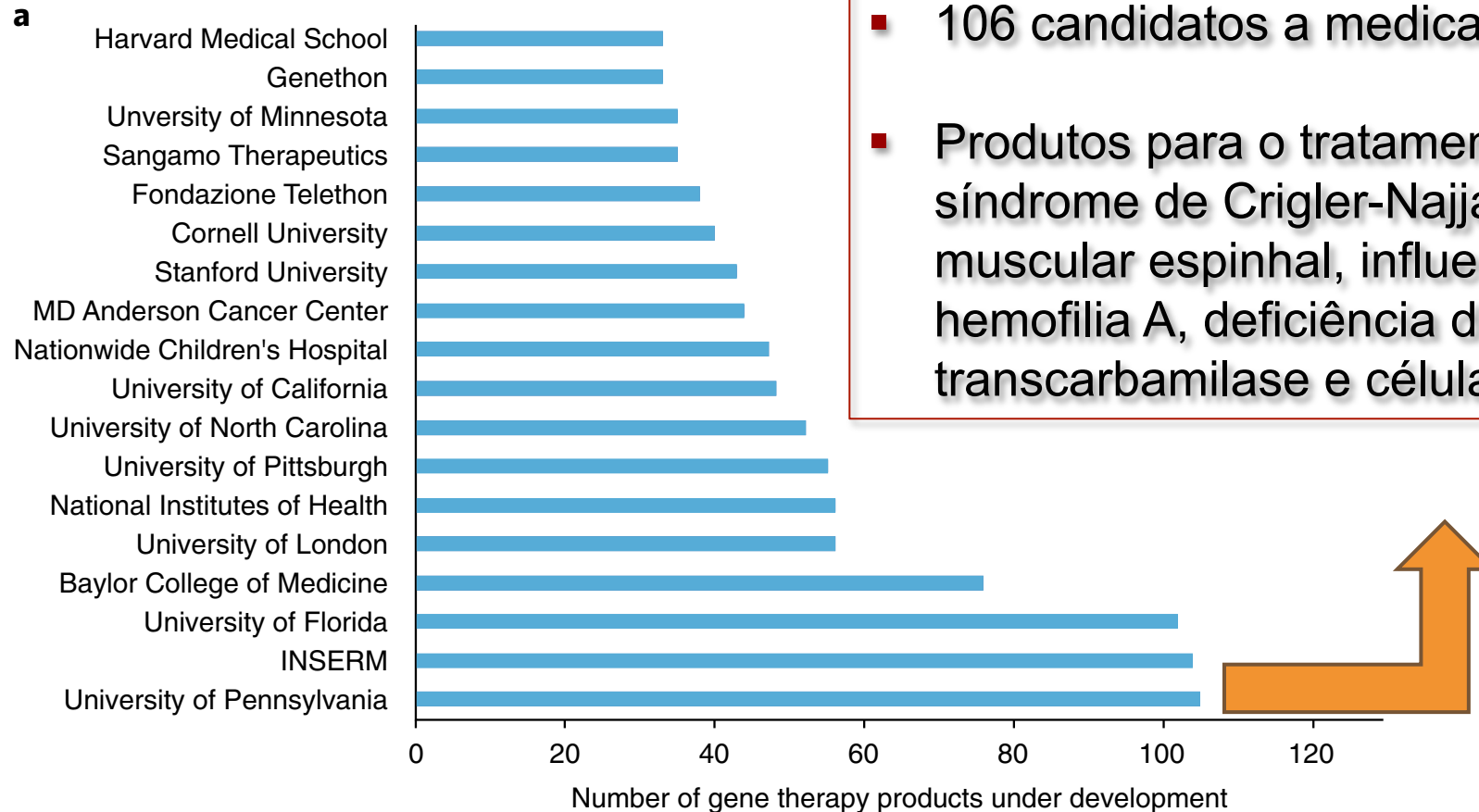


Contexto Atual – Terapia Gênica

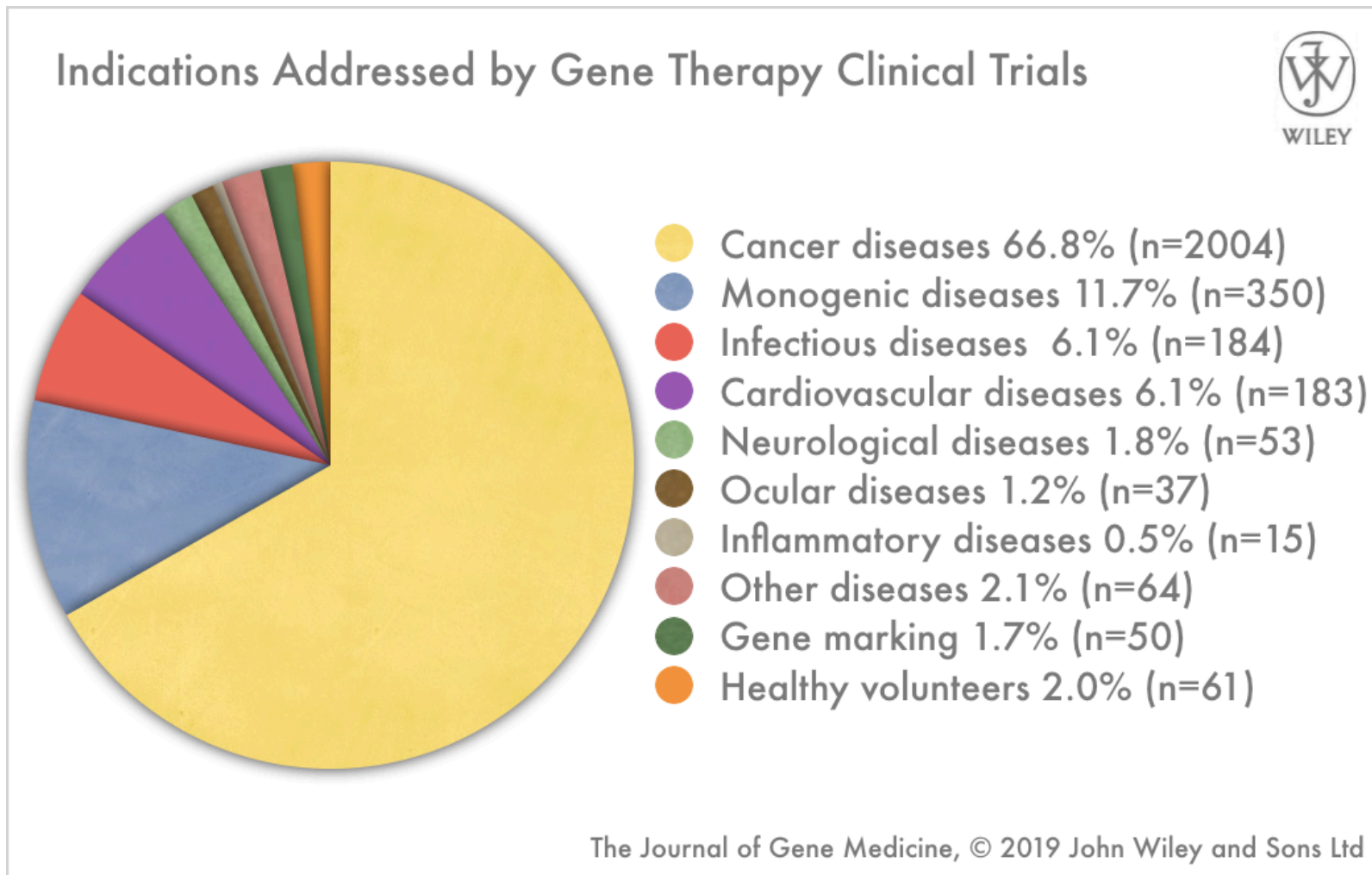


Picanço-Castro, V. et al. 2020

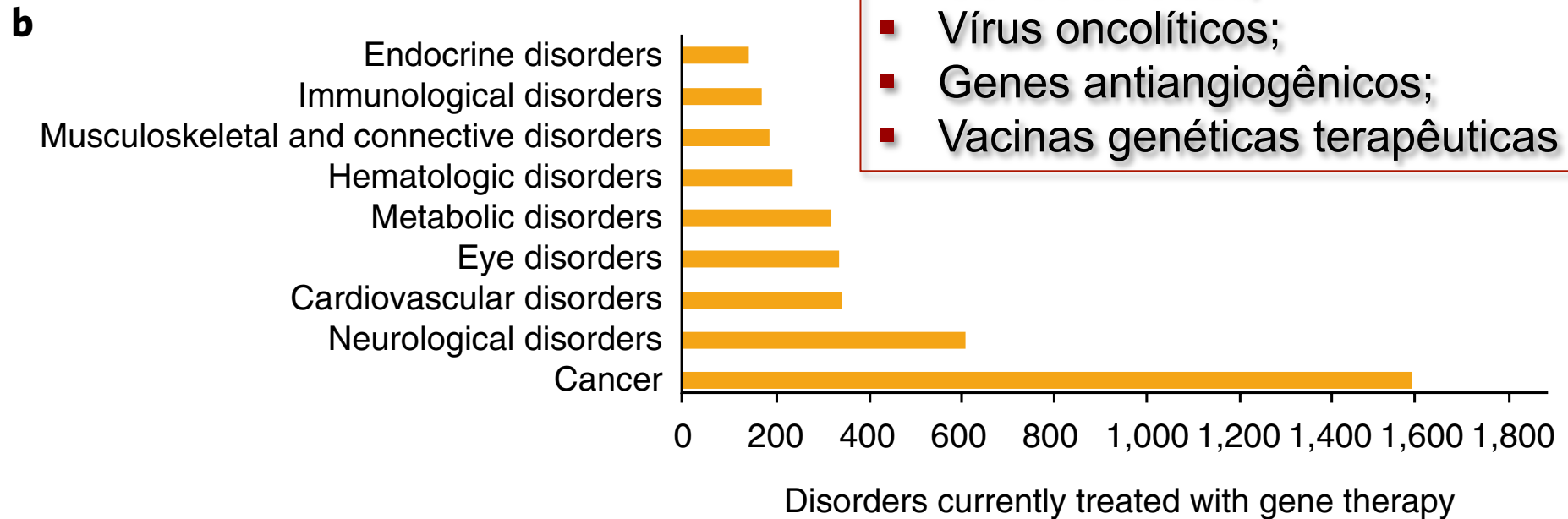
Contexto Atual – Terapia Gênica



Contexto Atual – Terapia Gênica

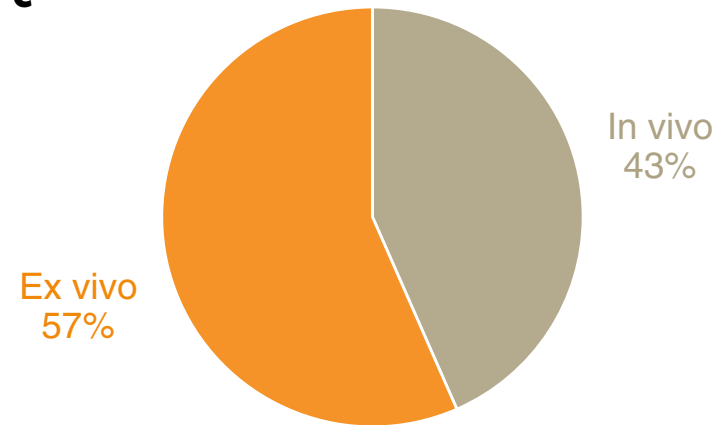


Contexto Atual – Terapia Gênica

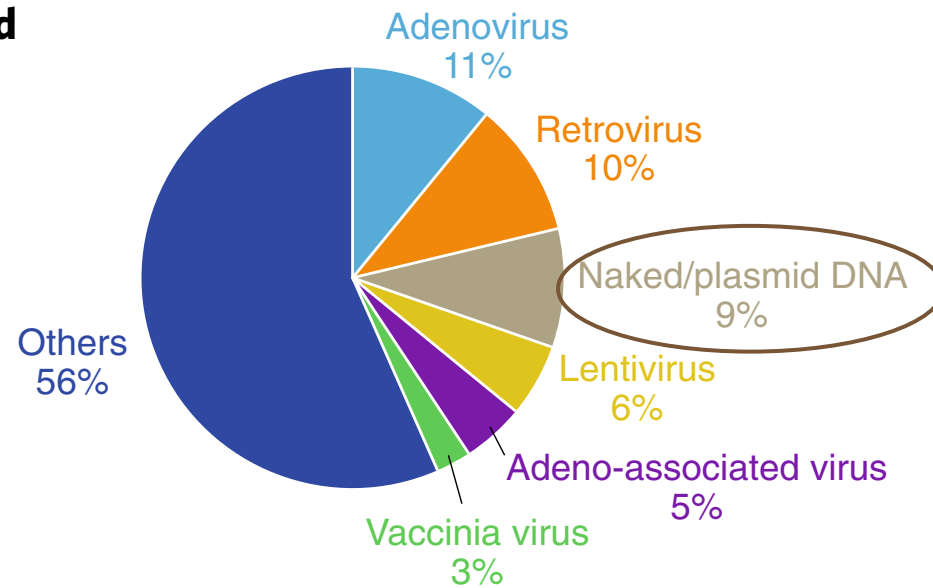


Contexto Atual – Terapia Gênica

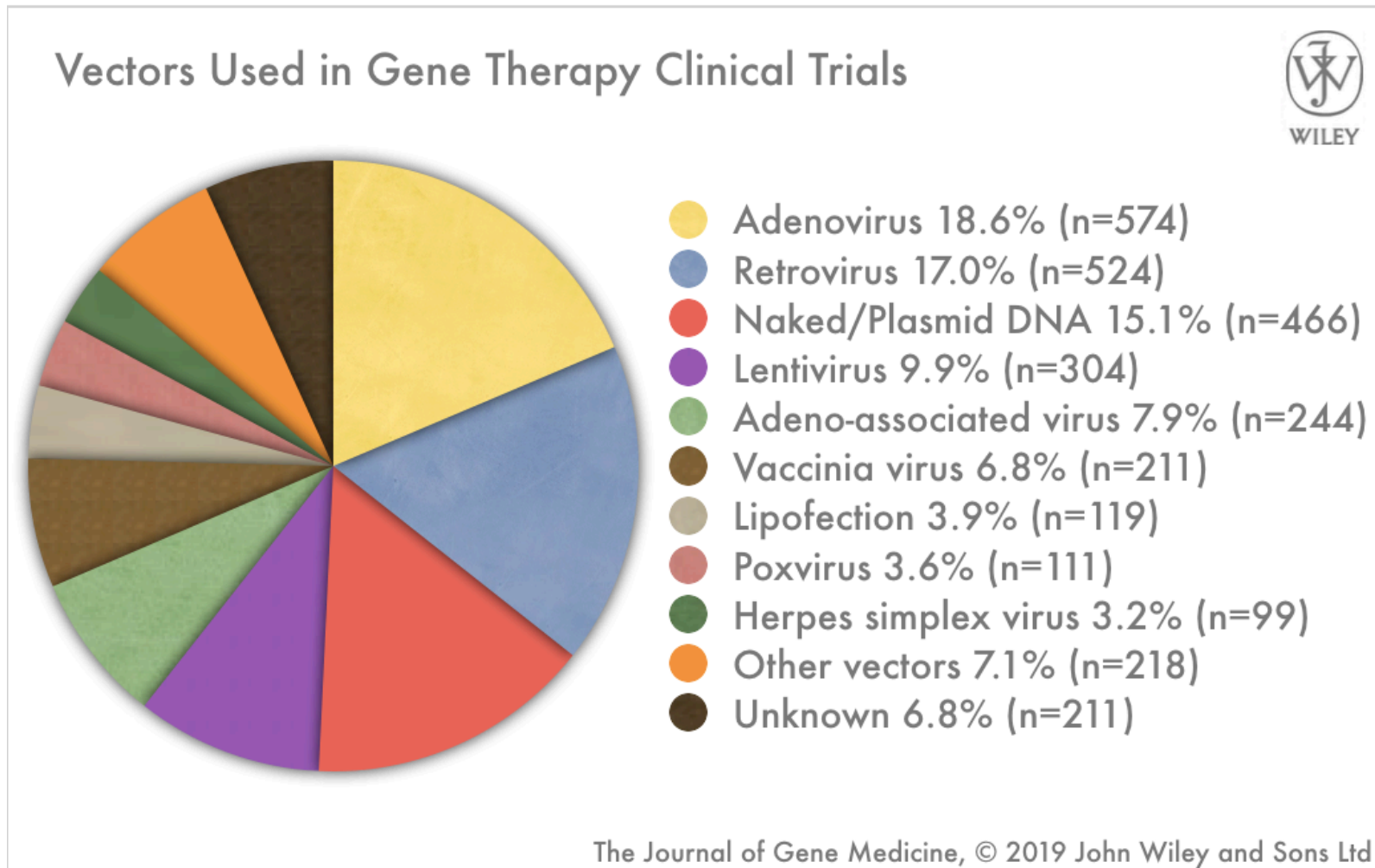
c



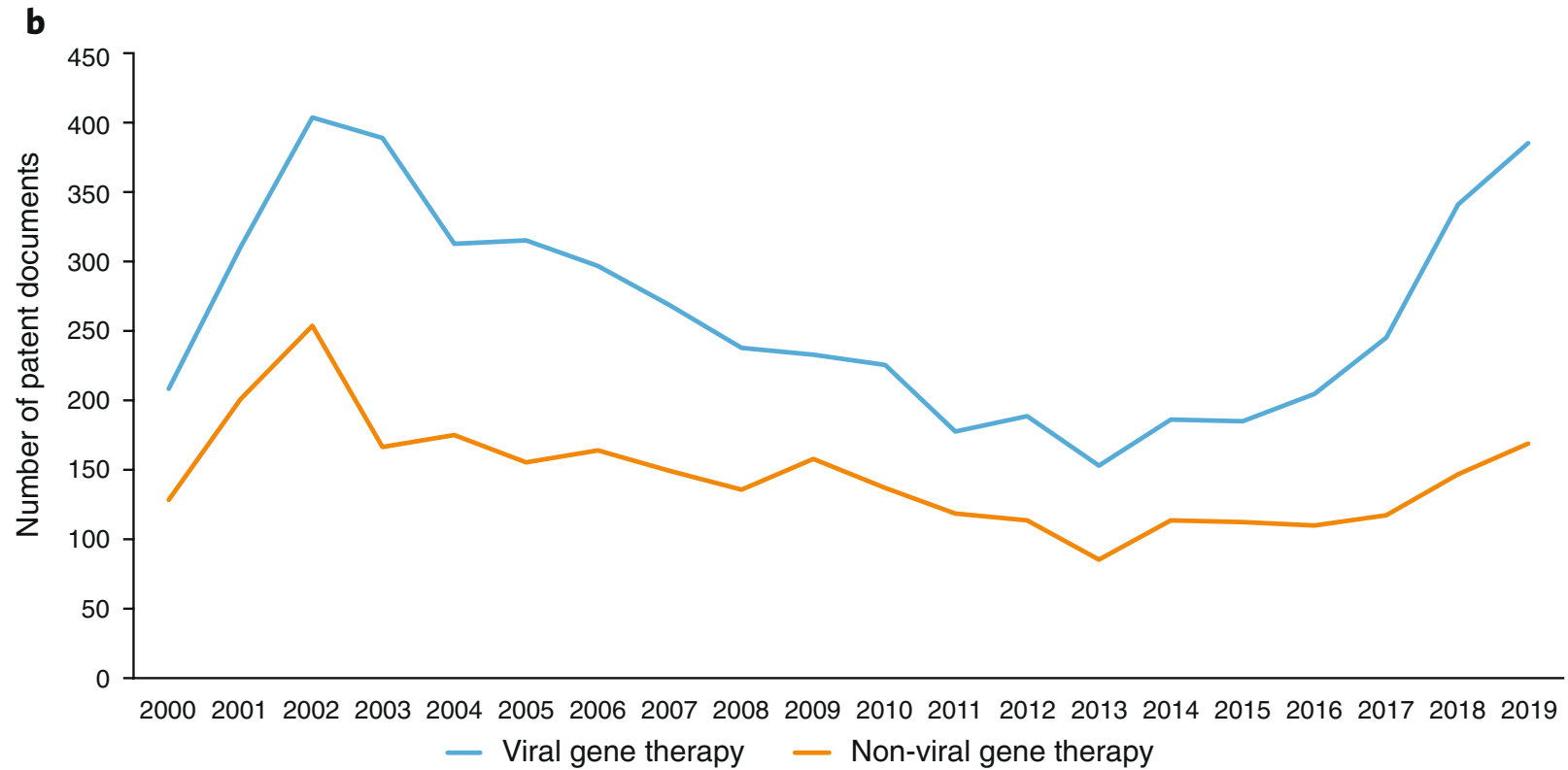
d



Contexto Atual – Terapia Gênica



Contexto Atual – Terapia Gênica



Contexto Atual – Terapia Gênica

e

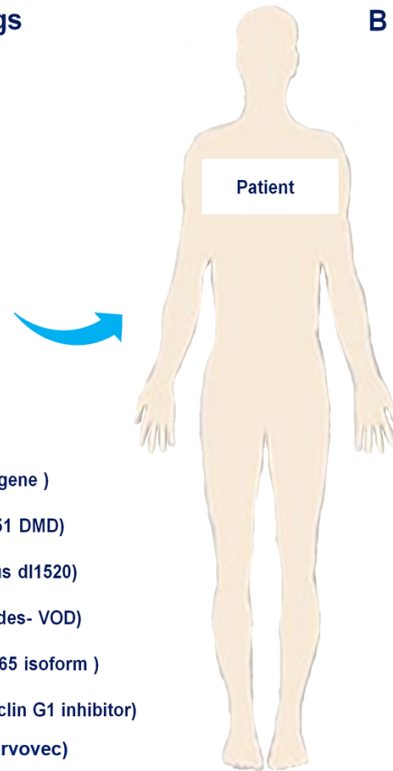
Development status	Number of GT products
Biological testing	1,246
Preclinical	2,984
IND filed	13
Phase I	141
Phase I/II	142
Phase II	68
Phase II/III	9
Launched	16

Table 1 | Gene therapy drugs launched in the market

Product	Vector type	Application	Highest phase	Gene	Organization
Gendicine	Adenovirus	Cancer, head and neck (squamous cell carcinoma)	Launched 2004	p53	SiBiono
Oncorine	Adenovirus	Cancer, rhinopharyngeal	Launched 2006	p53	Shanghai Sunway Biotech
DeltaRex-G	Retroviral	Cancer, solid tumor	Launched 2007	Dominant-negative mutant of cyclin G1	Epeius Biotechnologies
Neovasculogen	DNA plasmid	Peripheral arterial disease	Launched 2012	VEGF	Human Stem Cells Institute
Imlygic	Herpes simplex virus 1	Melanoma, metastatic	Launched 2015	GM-CSF	Amgen
Strimvelis	Retroviral	Adenosine deaminase deficiency	Launched 2016	Adenosine deaminase	Orchard Therapeutics
Invossa	Retroviral	Osteoarthritis, knee	Launched 2017	Transforming growth factor beta1 (TGF-b1)	Kolon Life Science
Zalmoxis	Retroviral	Hematologic, blood cancer	Launched 2017	HSV-TK/Neo fusion suicide gene	MolMed
Kymriah	Lentiviral	Leukemia, acute lymphocytic	Launched 2017	CART-19	Novartis
		Lymphoma, diffuse large B-cell	Launched 2018	CART-19	
		Leukemia, B-cell acute lymphocytic	Launched 2019	CART-19	
Yescarta	Retroviral	Lymphoma, B-cell, diffuse large B-cell, primary mediastinal large B-cell	Launched 2017	CART-19	Kite Pharma
Spinraza	No vector	Spinal muscular atrophy	Launched 2017	SMN2-directed antisense oligonucleotide	Biogen
Glybera	Adeno-associated	Lipoprotein lipase deficiency	Withdrawn 2017	Lipoprotein lipase	Chiesi Farmaceutici
Luxturna	Adeno-associated	Retinal dystrophy	Launched 2018	Retinal pigment epithelium-specific (RPE65)	Spark Therapeutics
Zolgensma	Adeno-associated	Spinal muscular atrophy type 1	Launched 2019	Survival motor neuron 2 (SMN2)	AveXis
Collategene	DNA plasmid	Critical limb ischemia	Registered 2019	Hepatocyte growth factor	AnGes
Lentiglobin	Lentiviral	Thalassemia, beta (major)	Registered 2019	Hemoglobin subunit beta	bluebird bio

A *In vivo* Gene Therapy Drugs

Gendicine (Tp53)
Neovasculgen (VEGF)
Glybera (LPL^{S447X} gene)
Luxturna (hRPE65 gene)
Vitravene (ASO-CMV retinitis)
Spinraza (ASO-SMN2 pre-mRNA)
Onpatro (RNAi-transthyretin gene)
Kynamro (ASO - Apo lipoprotein B-100)
Imlygic (HSV-1oncolytic virus GM-CSF gene)
Eteplirsen (Morpholino Oligomer-Exon51 DMD)
Oncorine (E1B 55kDa mutant adenovirus dl1520)
Defitelio (single-stranded oligonucleotides- VOD)
Macugen (RNA oligonucleotide- VEGF165 isoform)
Rexin-G (Retroviral vector encoding cyclin G1 inhibitor)
Zolgensma (Onasemnogene Apeparovvec)



B *Ex vivo* Gene Therapy Products

Allogenic T cells

Zalmoxis (Suicide HSV-TK-ΔLNGFR gene)

Allogenic Chondrocytes

Invossa (TGF β1gene)

Autologous T cells (CAR T cell therapy)

Yeskarta (Anti CD19-CD28-CD3zetta CAR T gene)

Kymriah (Anti CD19-CD137-CD3zetta CAR T gene)

Autologous Hematopoitic stem cells

Strimvelis (ADA gene)

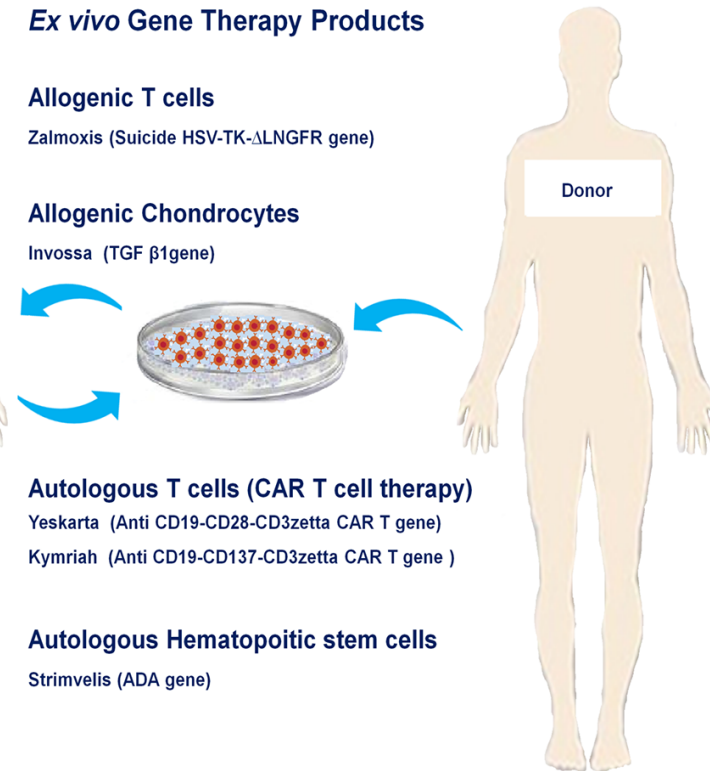
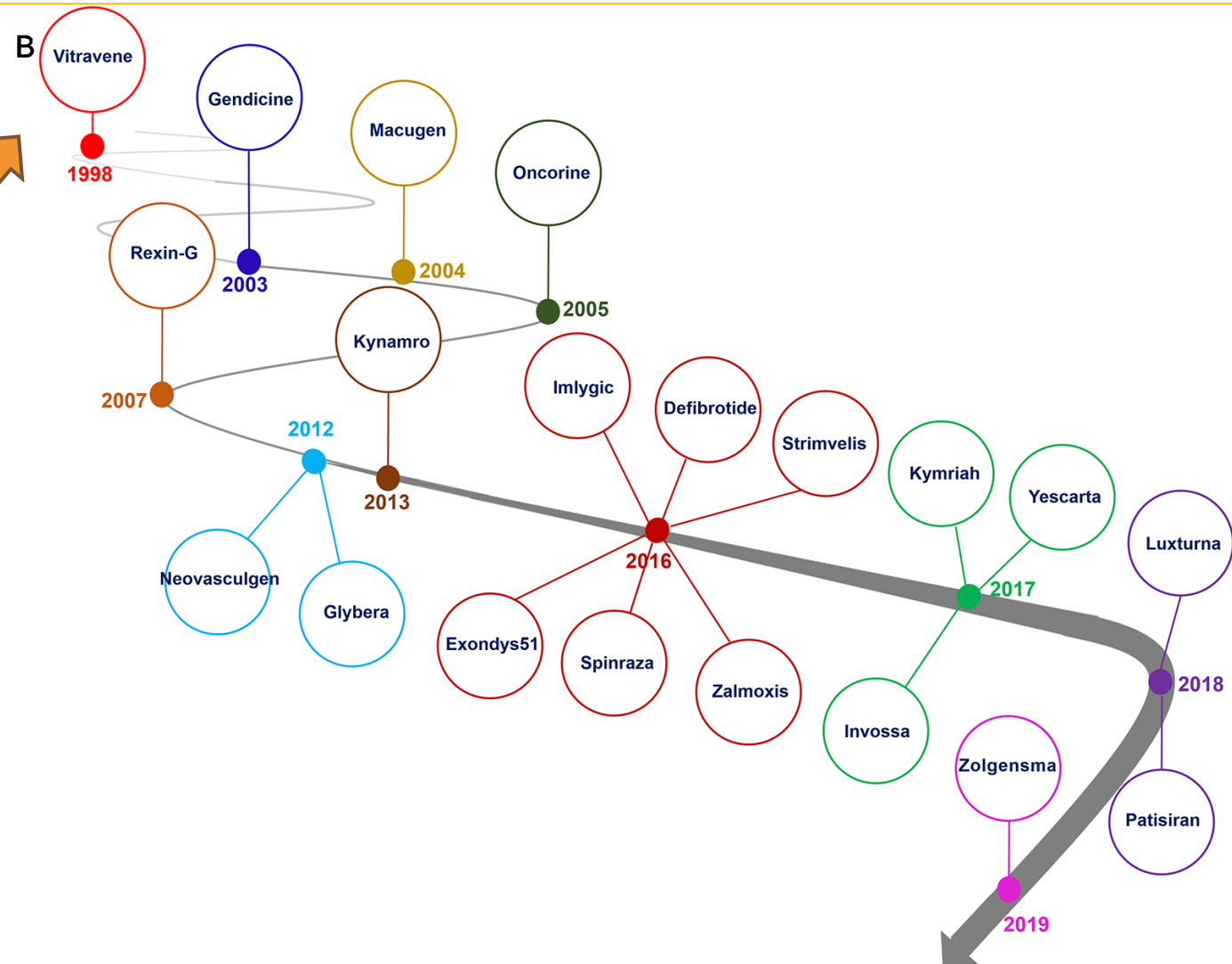


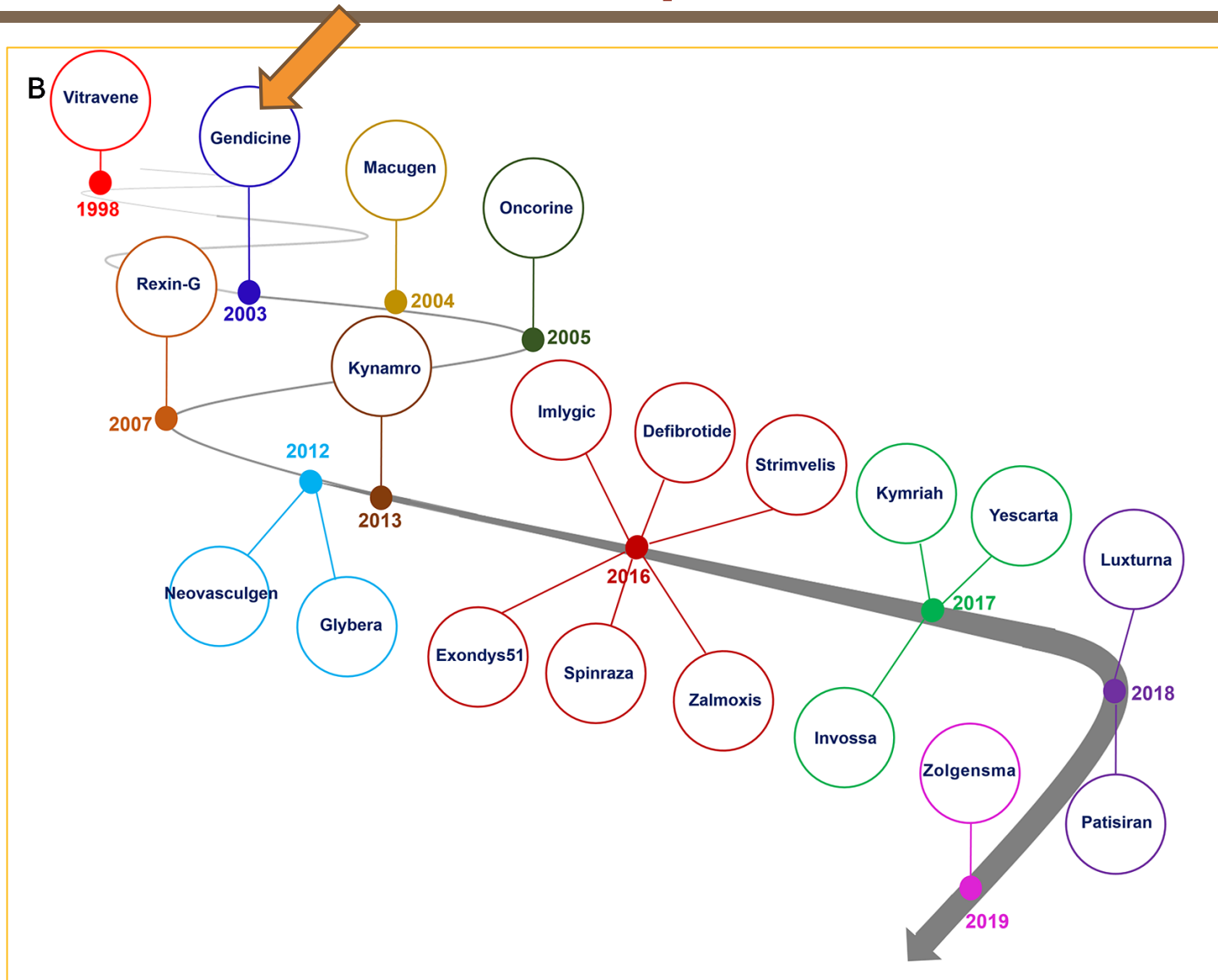
FIGURE 1 | Approved human gene and cell-based gene therapy products. **(A)** *In vivo* approved gene therapy drugs such as Neovasculgen, Glybera, Defitelio, Rexin-G, Onpatro, Eteplirsen, Spinraza, Kynamro, Imlygic, Oncorine, Luxturna, Macugen, Gendicine, Vitravene as well as Zolgensma directly injected into their target tissue or organ. **(B)** *Ex vivo* gene therapy drugs include Zalmoxis as allogenic T cells, Invossa as allogenic chondrocytes, Yeskarta and Kymriah as autologous T cells (CAR T cell therapy), Strimvelis as autologous hematopoitic stem cells.

Contexto Atual – Terapia Gênica

Primeiro produto clínico de terapia gênica antisense para o tratamento de retinite por CMV em pacientes infectados pelo HIV, aprovado pelo FDA dos EUA



Contexto Atual – Terapia Gênica

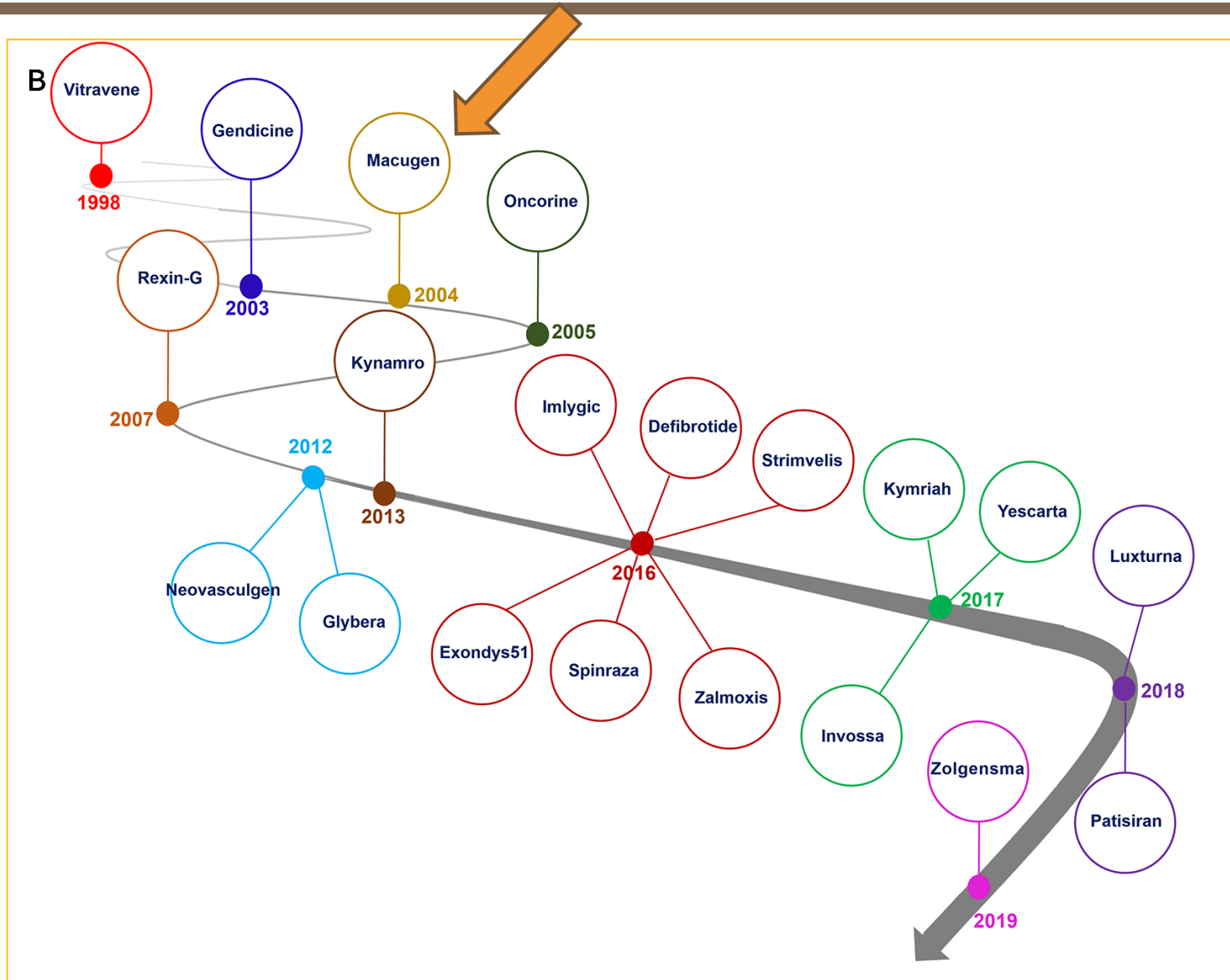


Aprovado em 2003

É um adenovírus humano recombinante que expressa o gene Tp53

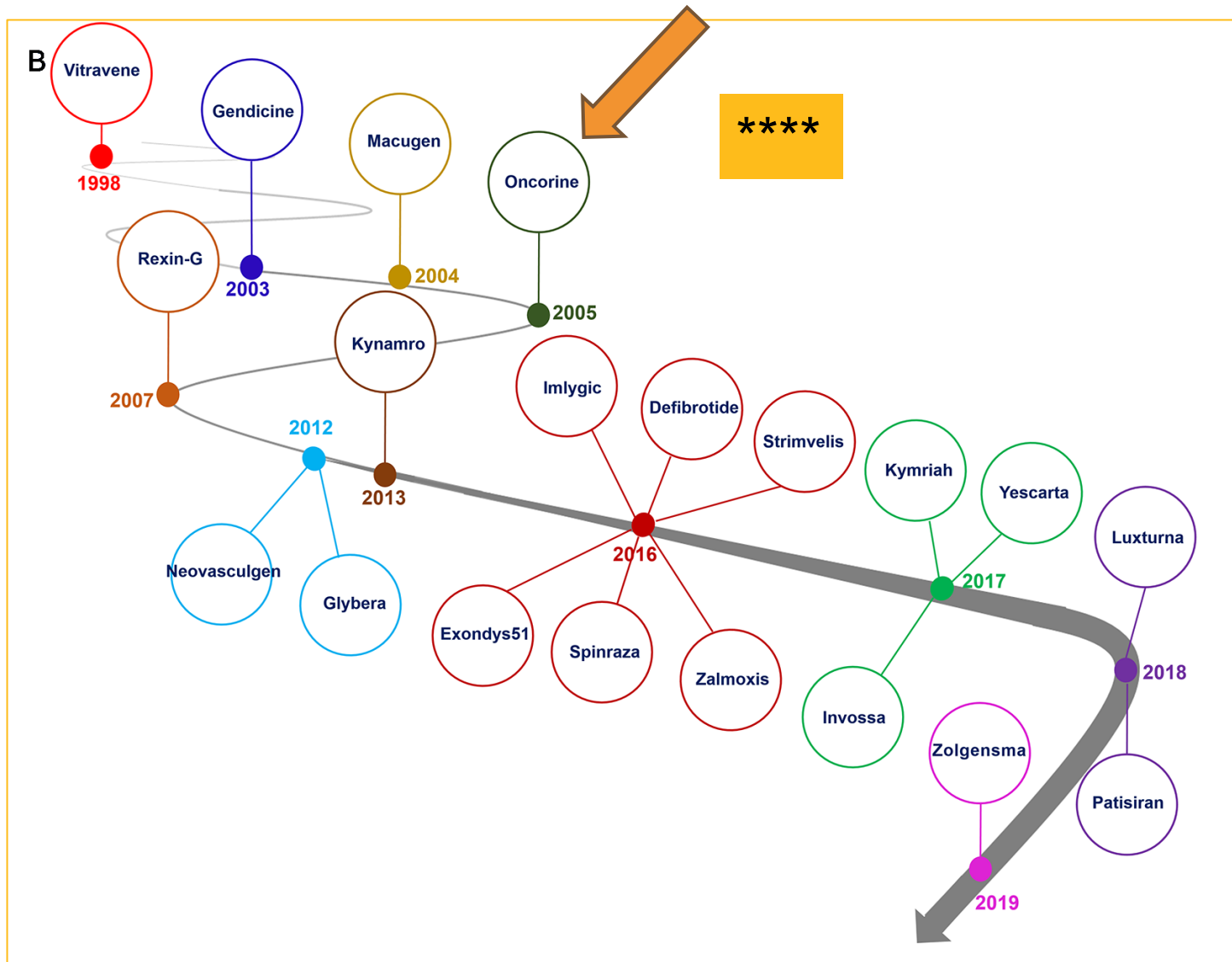
Entrou no mercado chinês em 2004

Contexto Atual – Terapia Gênica



Macugen foi aprovado pelo FDA dos EUA como o primeiro tratamento terapêutico de RNA para degeneração macular relacionada a idade (AMD)

Contexto Atual – Terapia Gênica



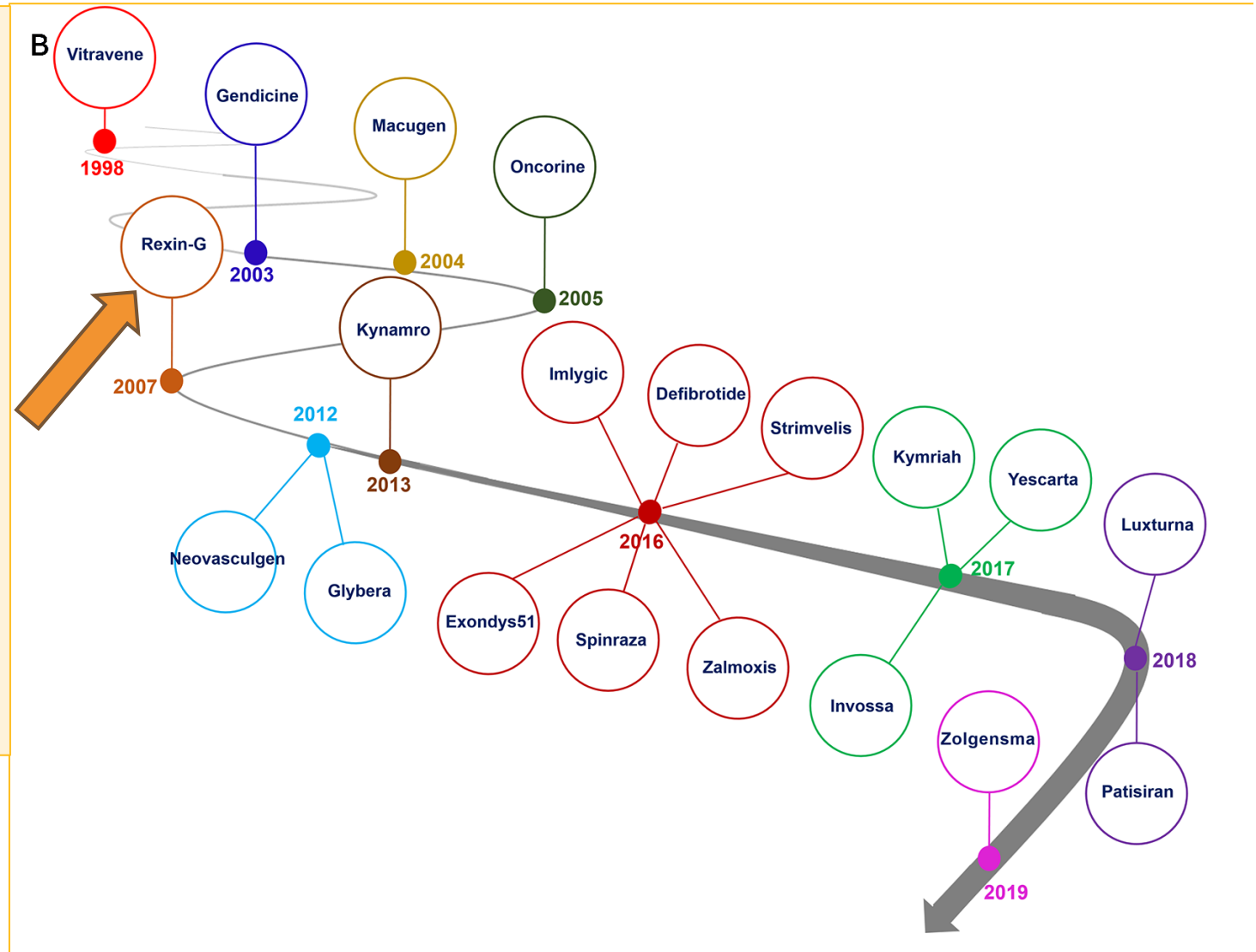
Segundo medicamento de TG aprovado na China

Usado para tratamento de câncer

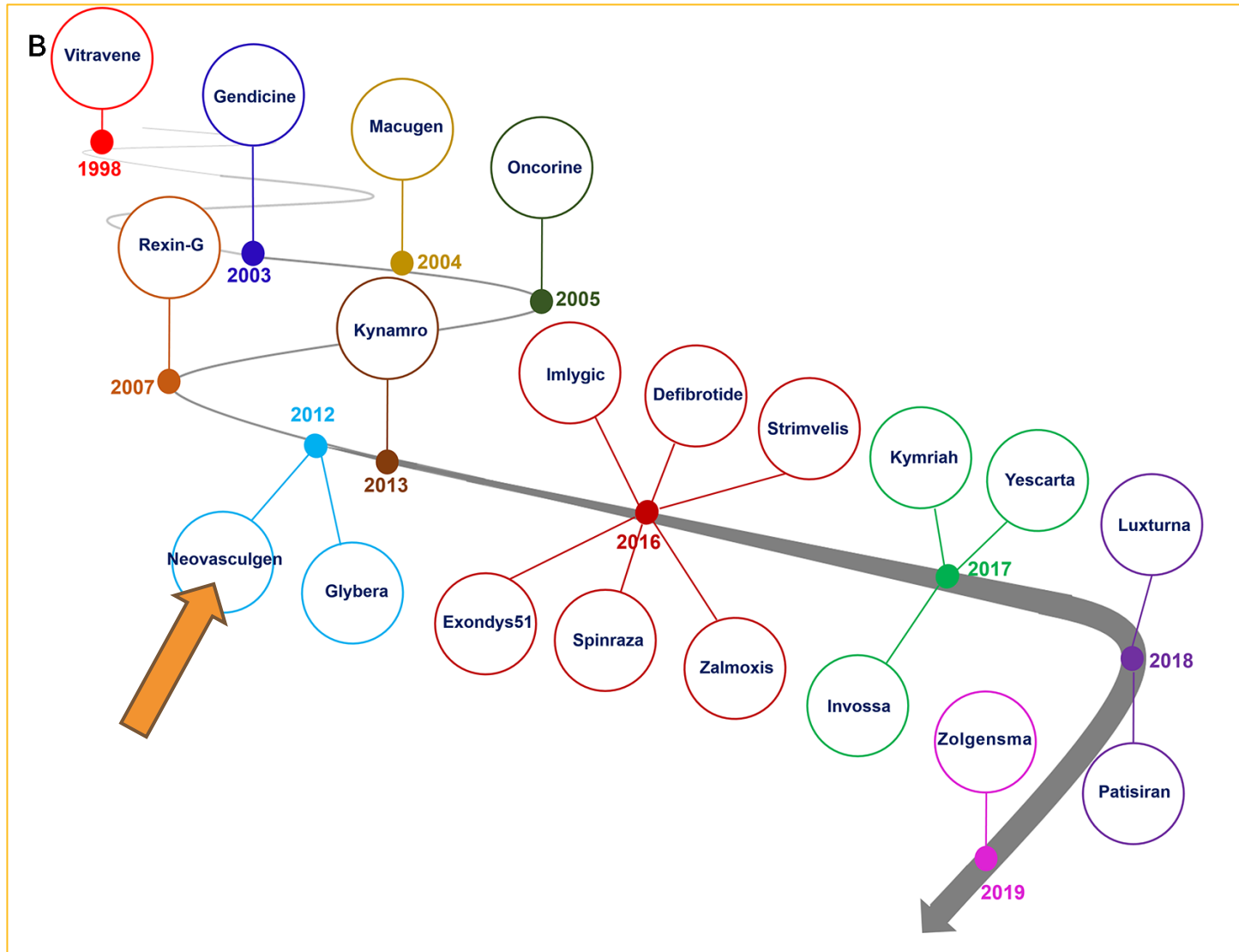
Contexto Atual – Terapia Gênica

Próximo medicamento de TG direcionado ao câncer de pâncreas

Aprovado pelo FDA dos EUA em 2007

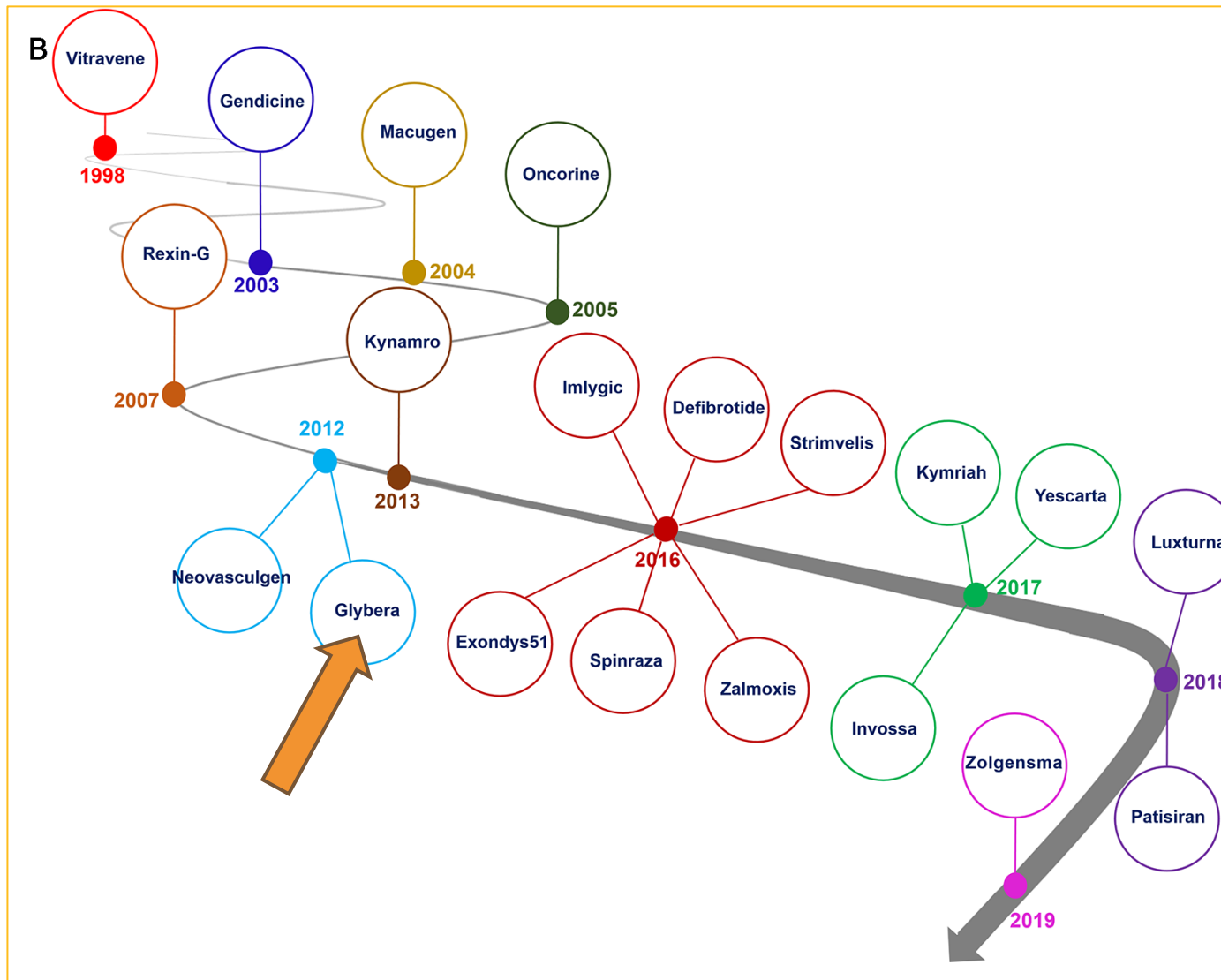


Contexto Atual – Terapia Gênica



Neovasculgen desenvolvido e aprovado apenas para o mercado russo

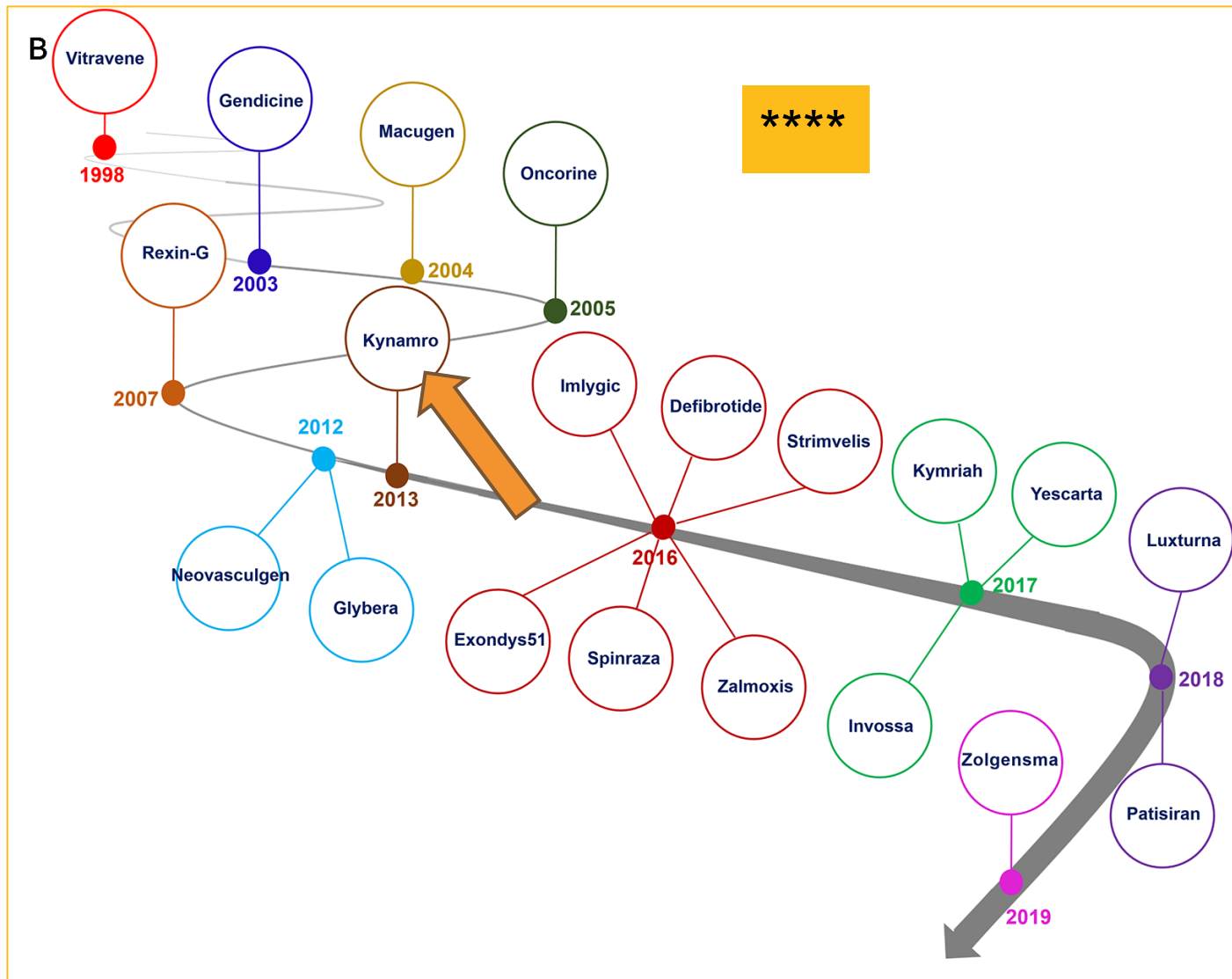
Contexto Atual – Terapia Gênica



Europa aprovou seu primeiro medicamento para TG para tratar deficiência de lipase lipoprotéica (LPLD)

Atualmente, a Glybera não está mais listada no pipeline de produtos da sua empresa desenvolvedora

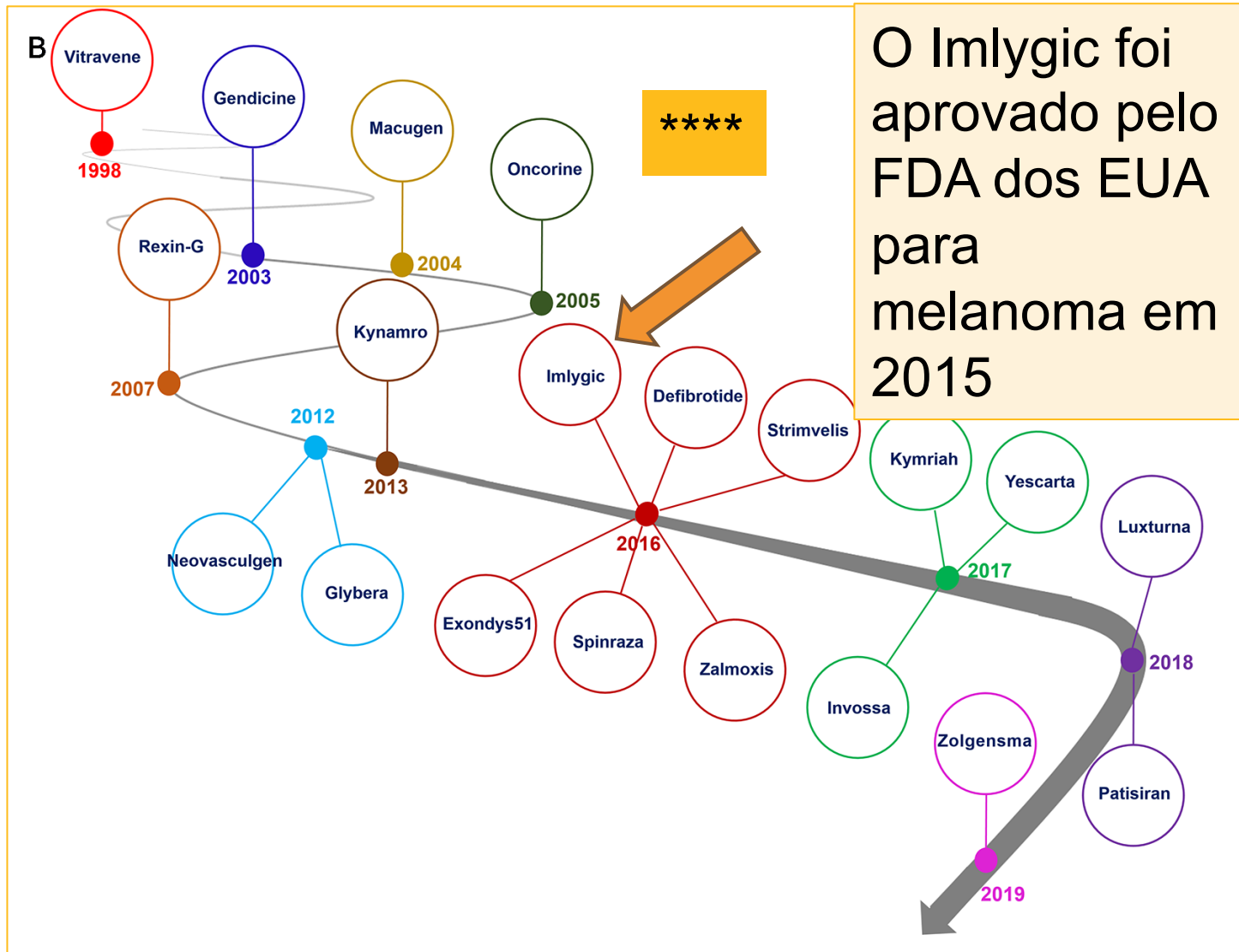
Contexto Atual – Terapia Gênica



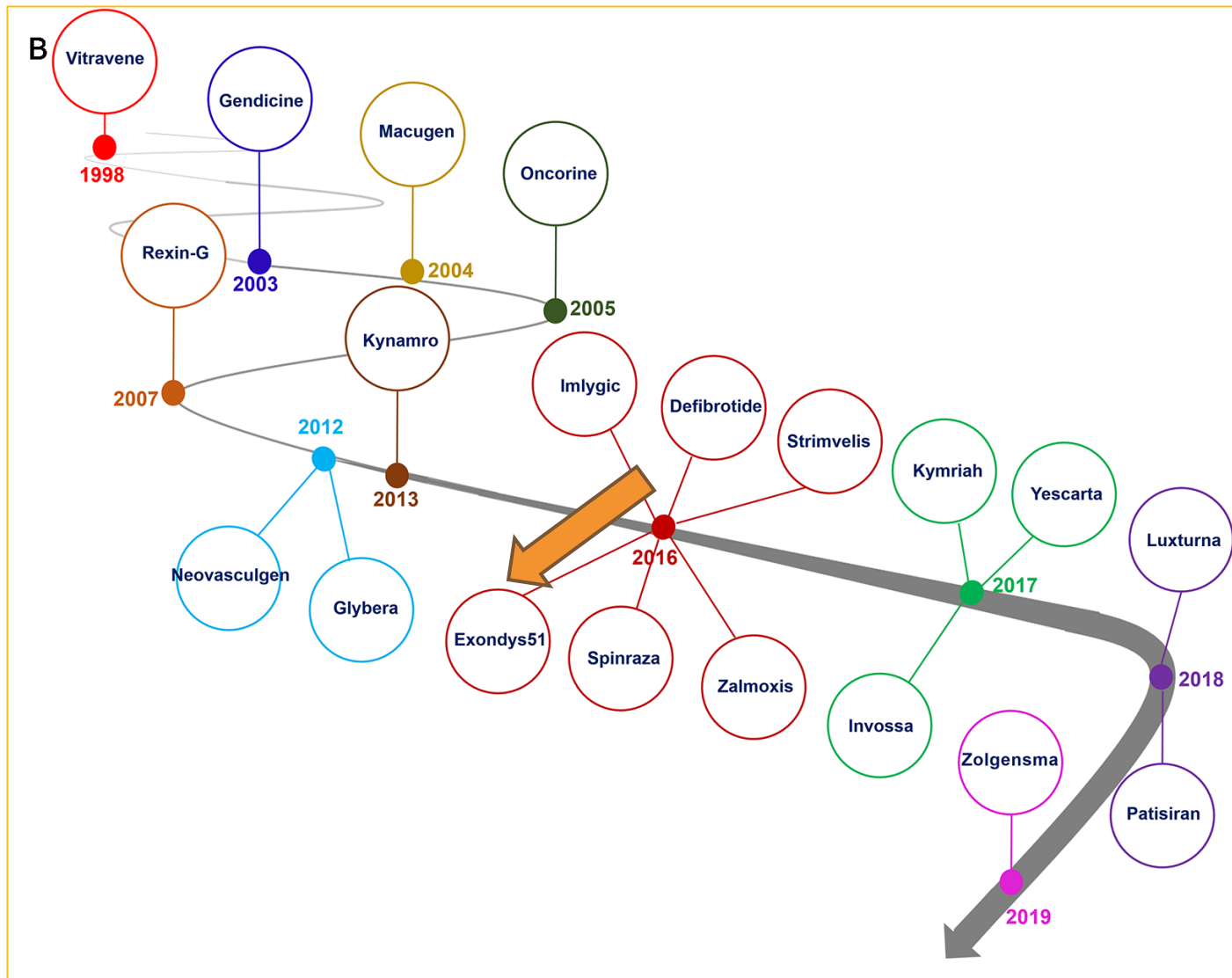
Kynamro é outro medicamento antisense que inibe a apolipoproteína B (apoB) em pacientes com hipercolesterolemia familiar homozigótica (HoFH)

Aprovado pelo FDA dos EUA em 2013

Contexto Atual – Terapia Gênica



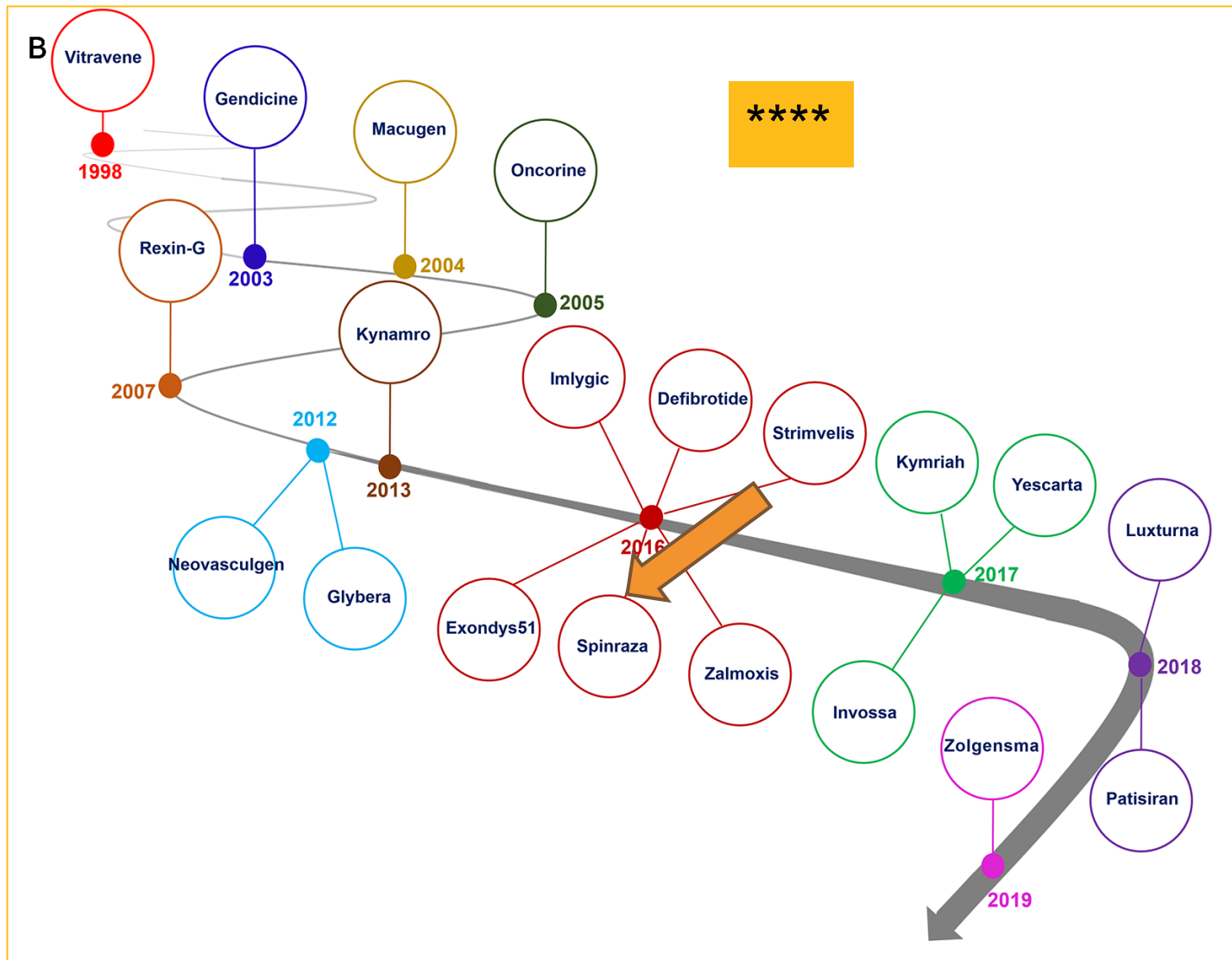
Contexto Atual – Terapia Gênica



Décimo produto clínico de TG

Exondys51 foi aprovado pelo FDA dos EUA em 2016 para o tratamento de pacientes com distrofia muscular de Duchenne (DMD)

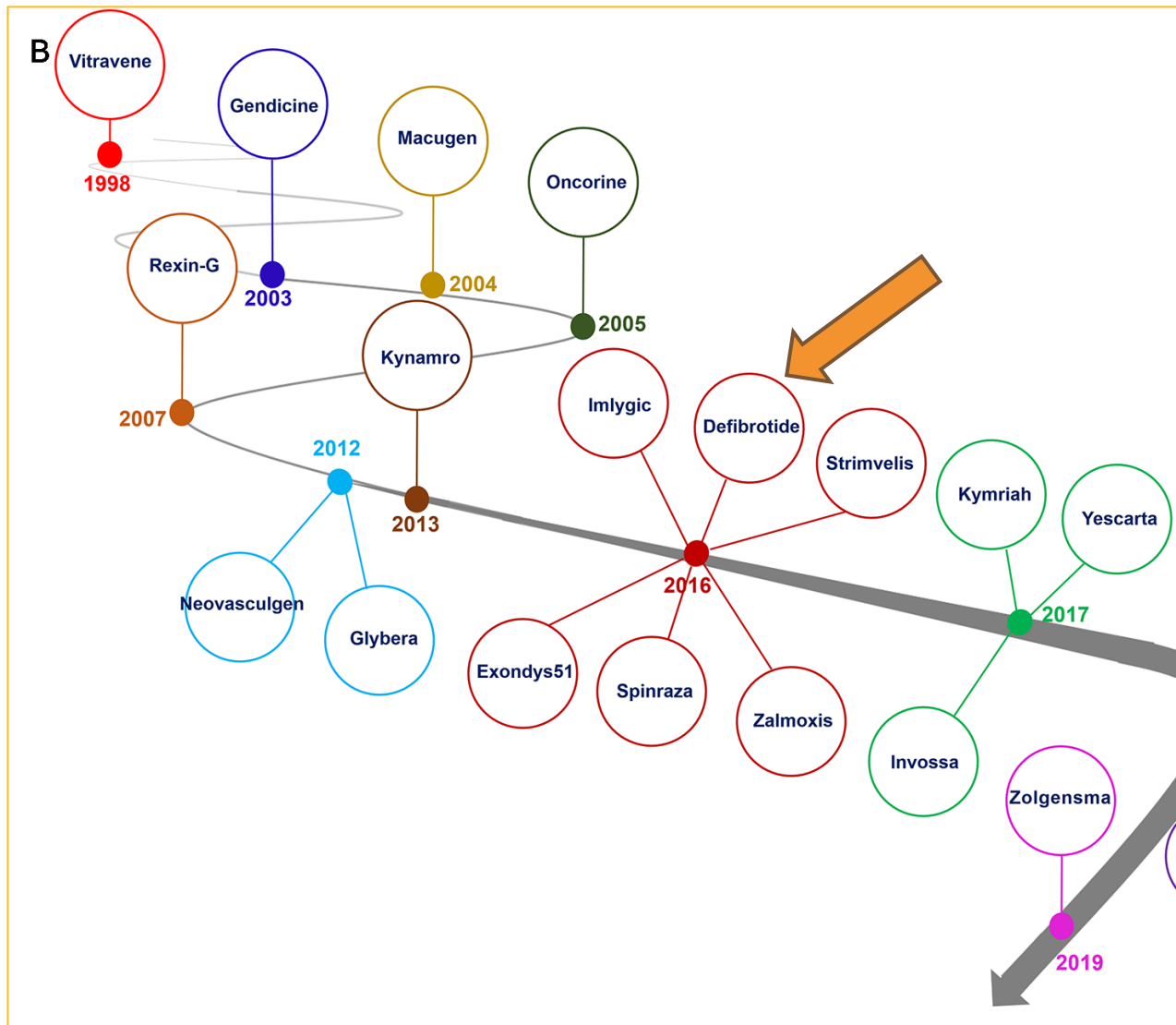
Contexto Atual – Terapia Gênica



Primeira TG para tratar pacientes com atrofia muscular espinhal (SMA)

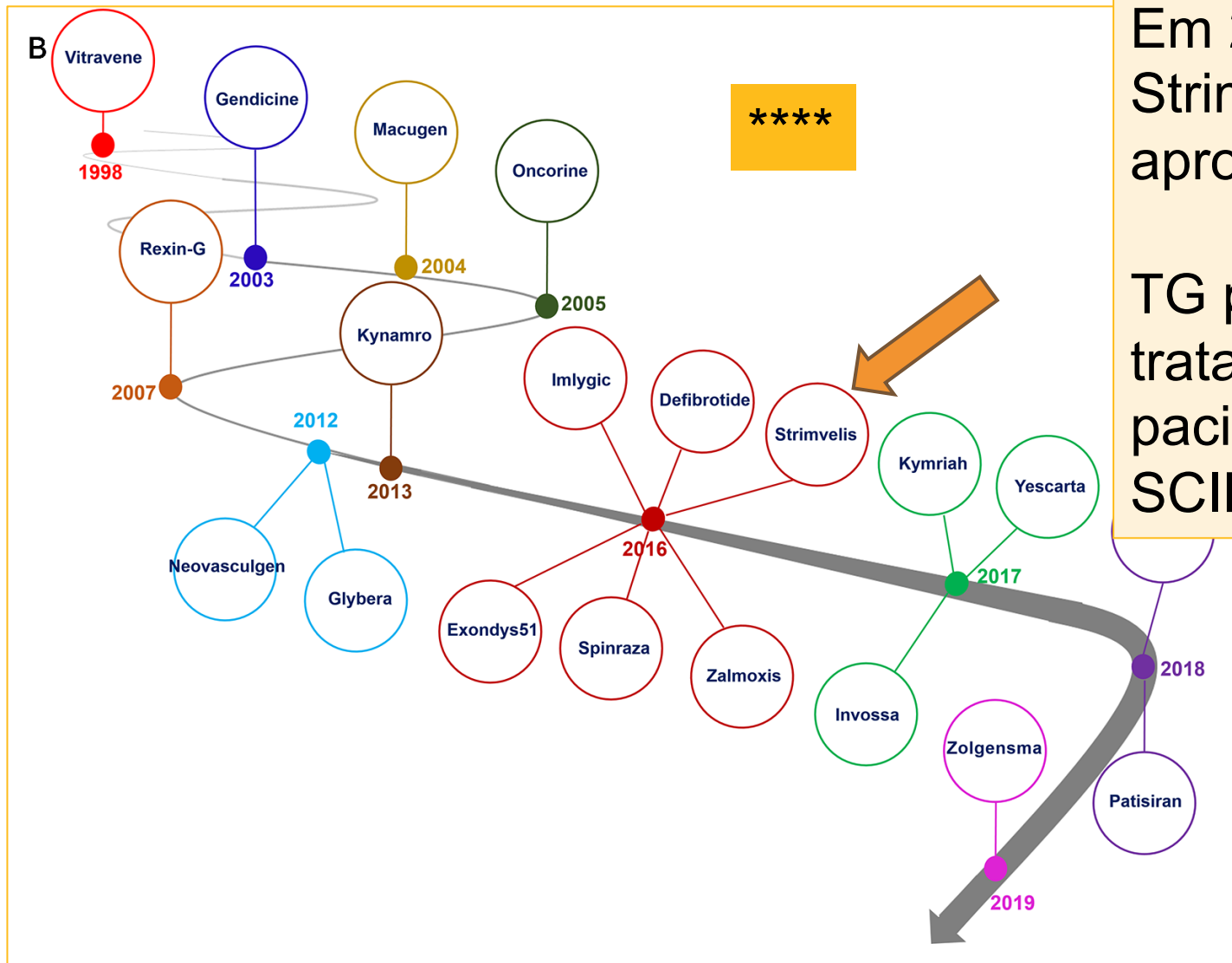
Aprovado pelo FDA dos EUA em 2016 e pela EMA em 2017

Contexto Atual – Terapia Gênica



Desenvolvido para tratar pacientes com síndrome da obstrução sinusoidal hepática / doença veno-oclusiva (SOS / VOD) com disfunção renal ou pulmonar após o tratamento citorrredutor antes do transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH)
Aprovado pelo FDA dos EUA em março de 2016

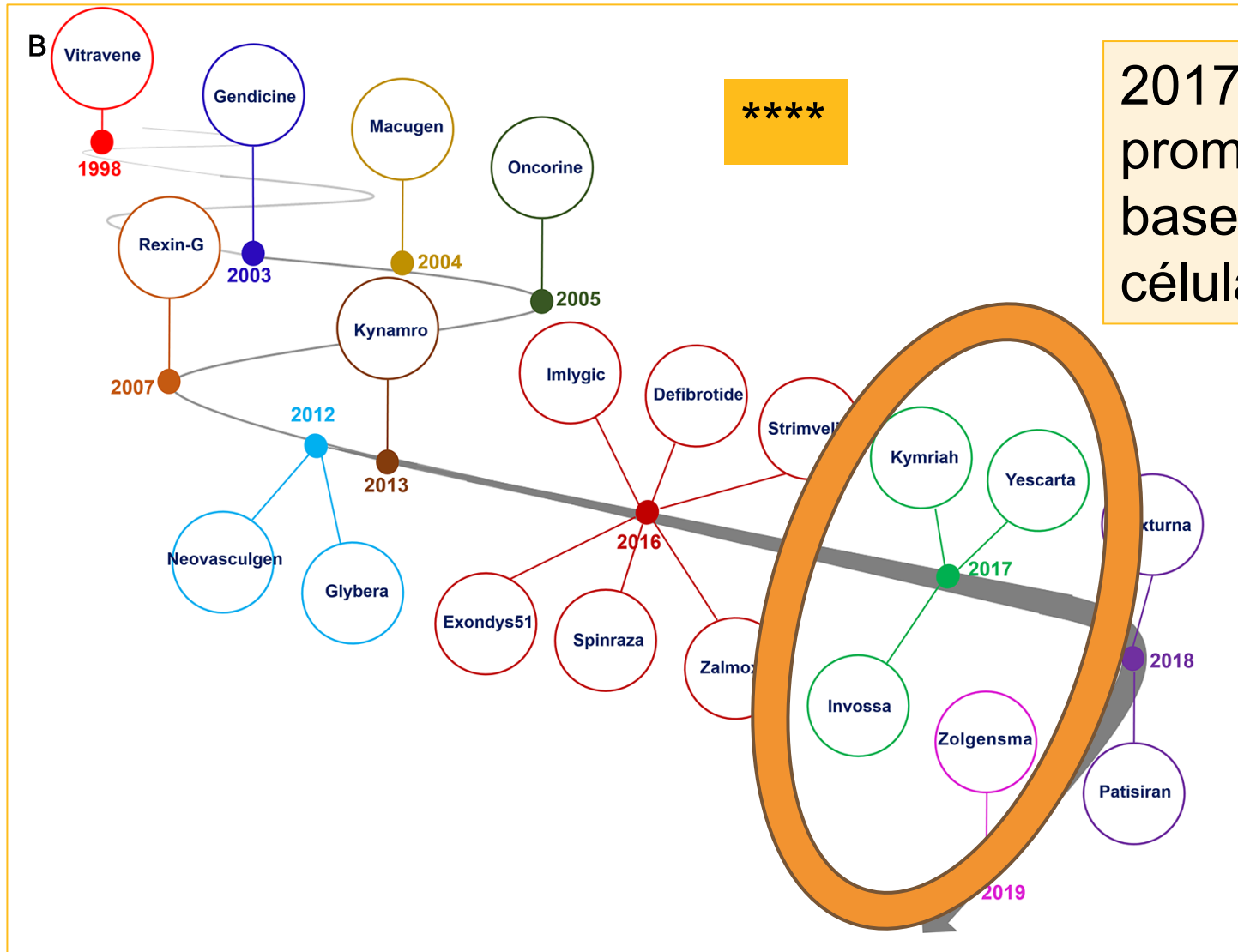
Contexto Atual – Terapia Gênica



Em 2016, Strimvelis, foi aprovado na Europa

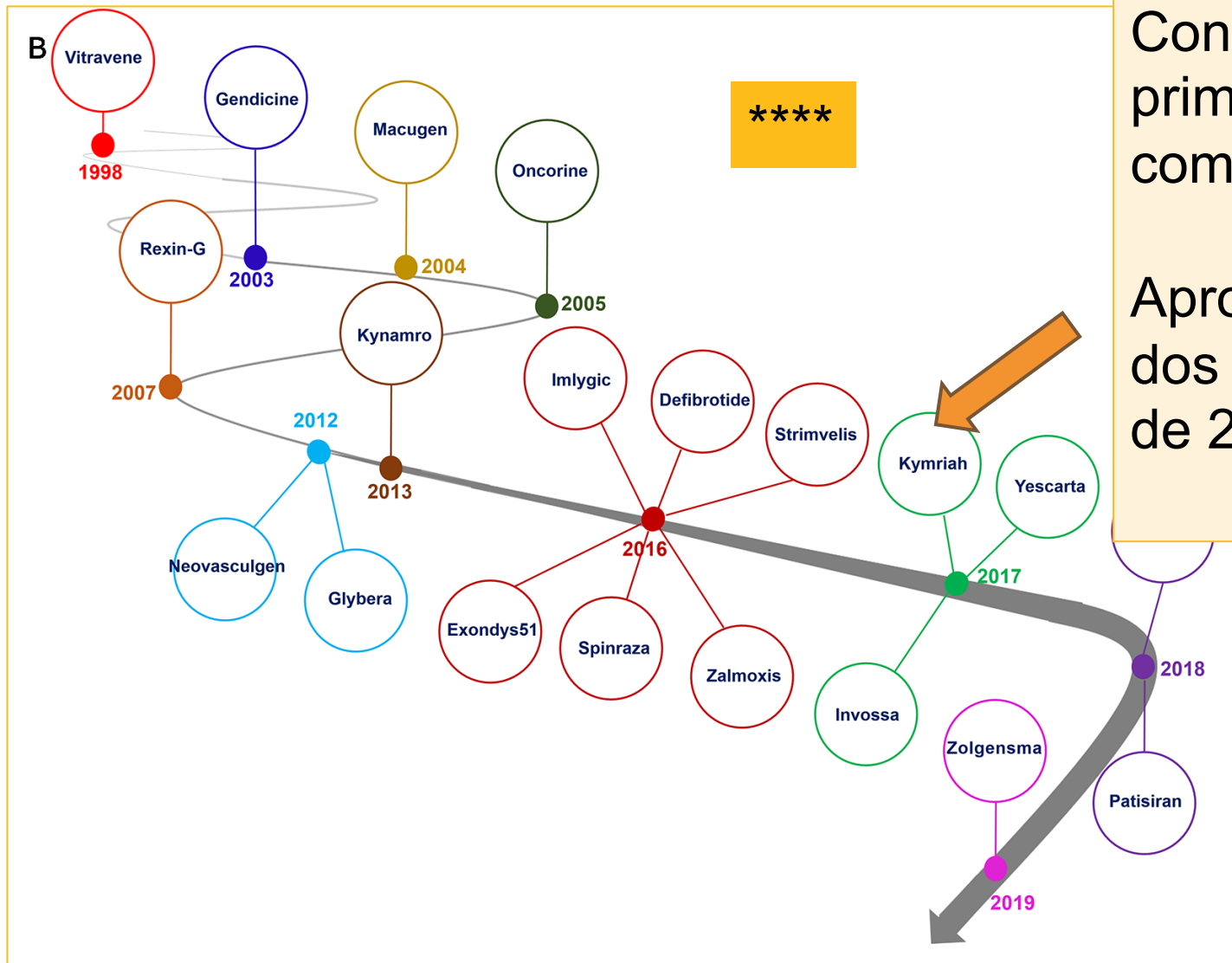
TG para o tratamento de pacientes com ADA-SCID

Contexto Atual – Terapia Gênica



2017 foi um ano promissor para TG baseada em células-tronco

Contexto Atual – Terapia Gênica



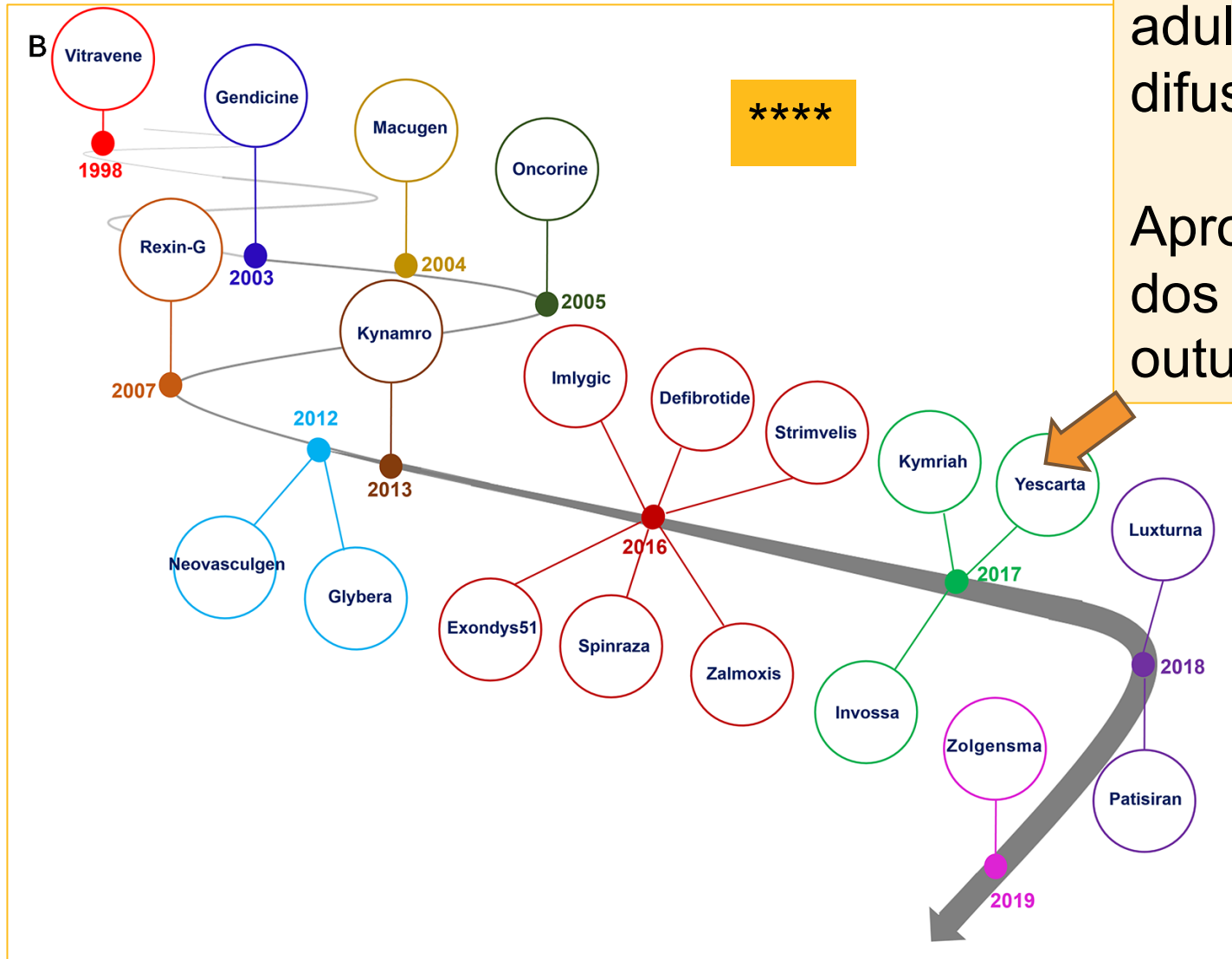
Considerado o primeiro tratamento com CAR-T

Aprovado pelo FDA dos EUA em agosto de 2017

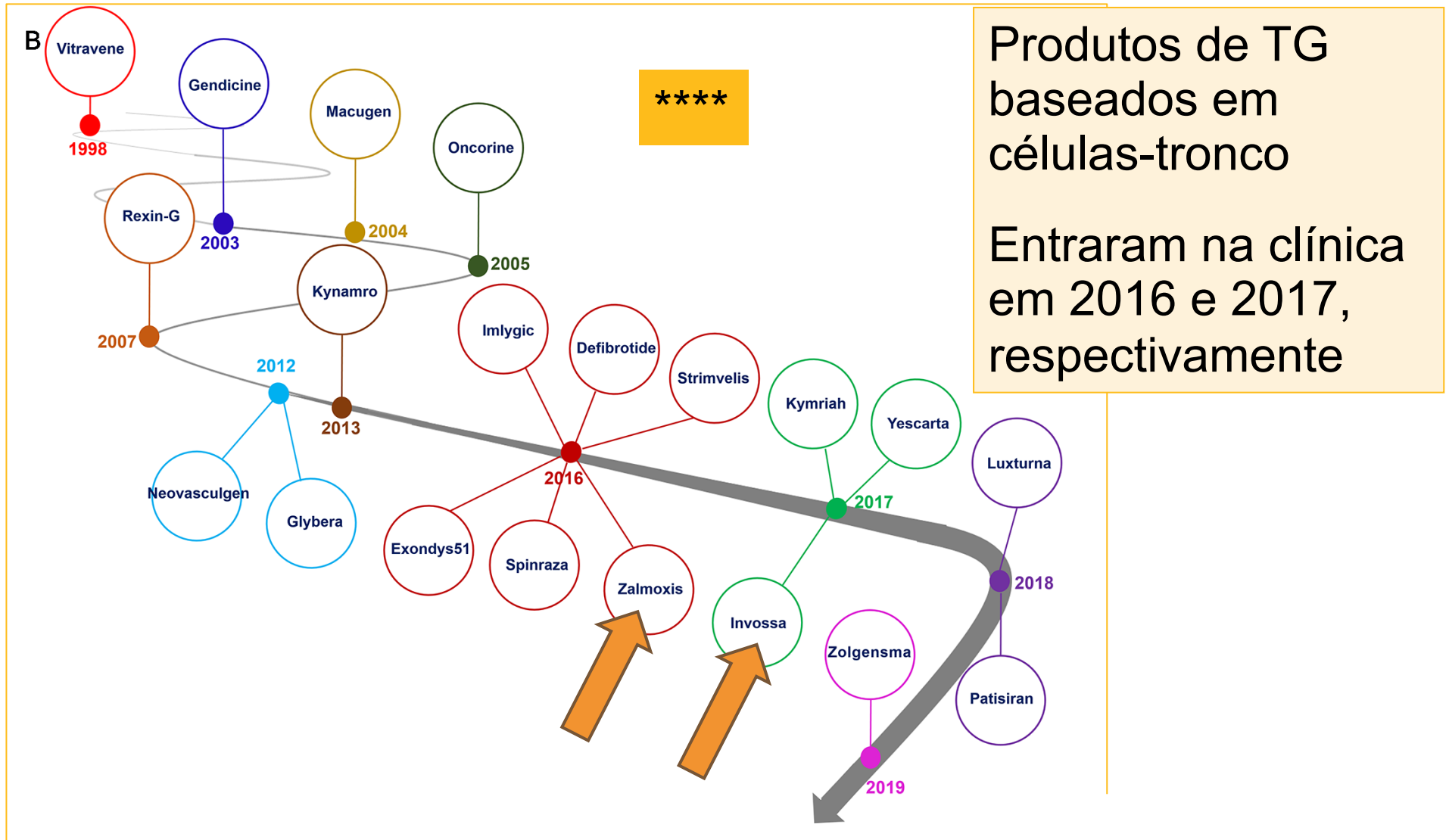
Contexto Atual – Terapia Gênica

Trata pacientes adultos com linfoma difuso de células B

Aprovado pelo FDA dos EUA em outubro de 2017



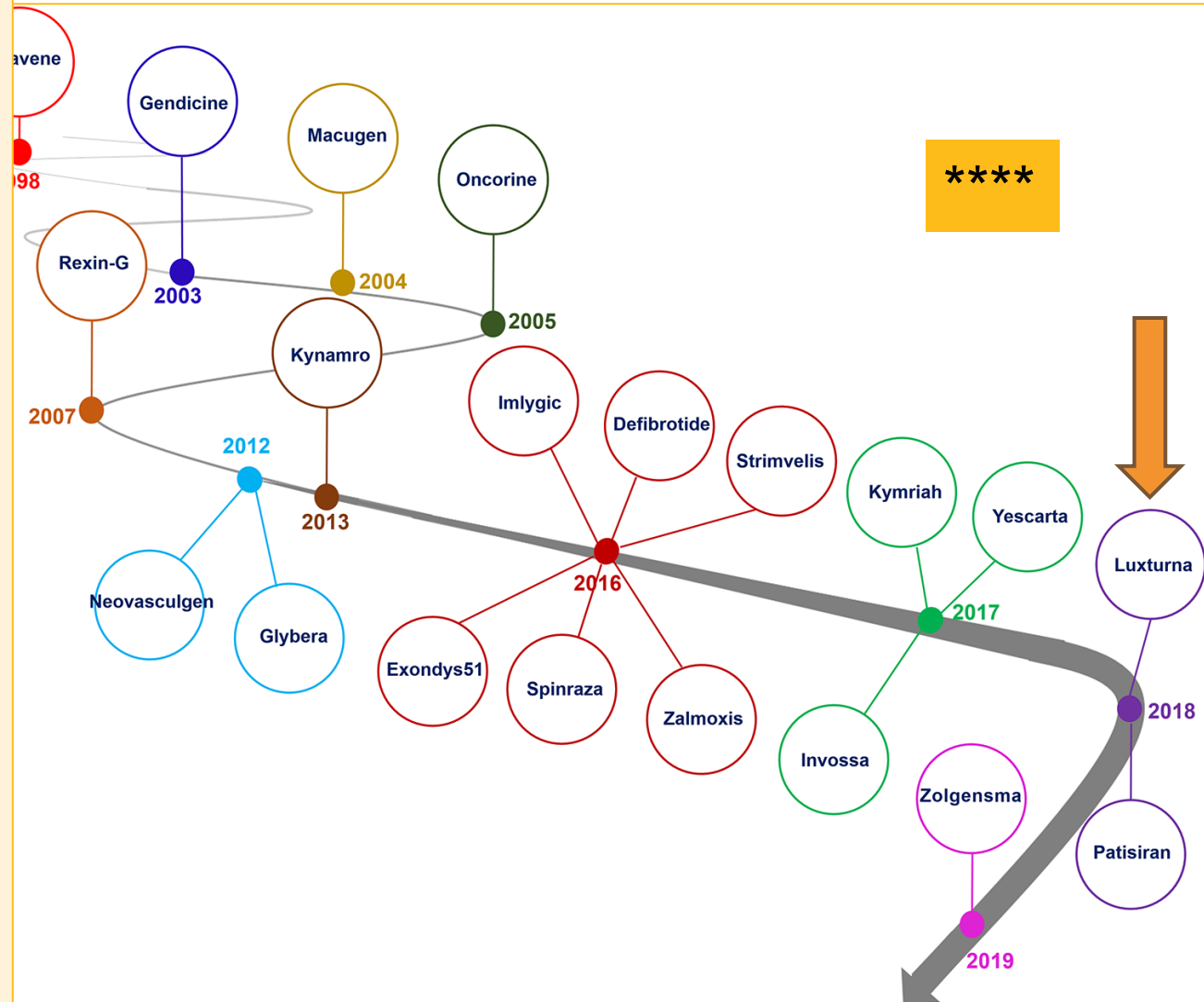
Contexto Atual – Terapia Gênica



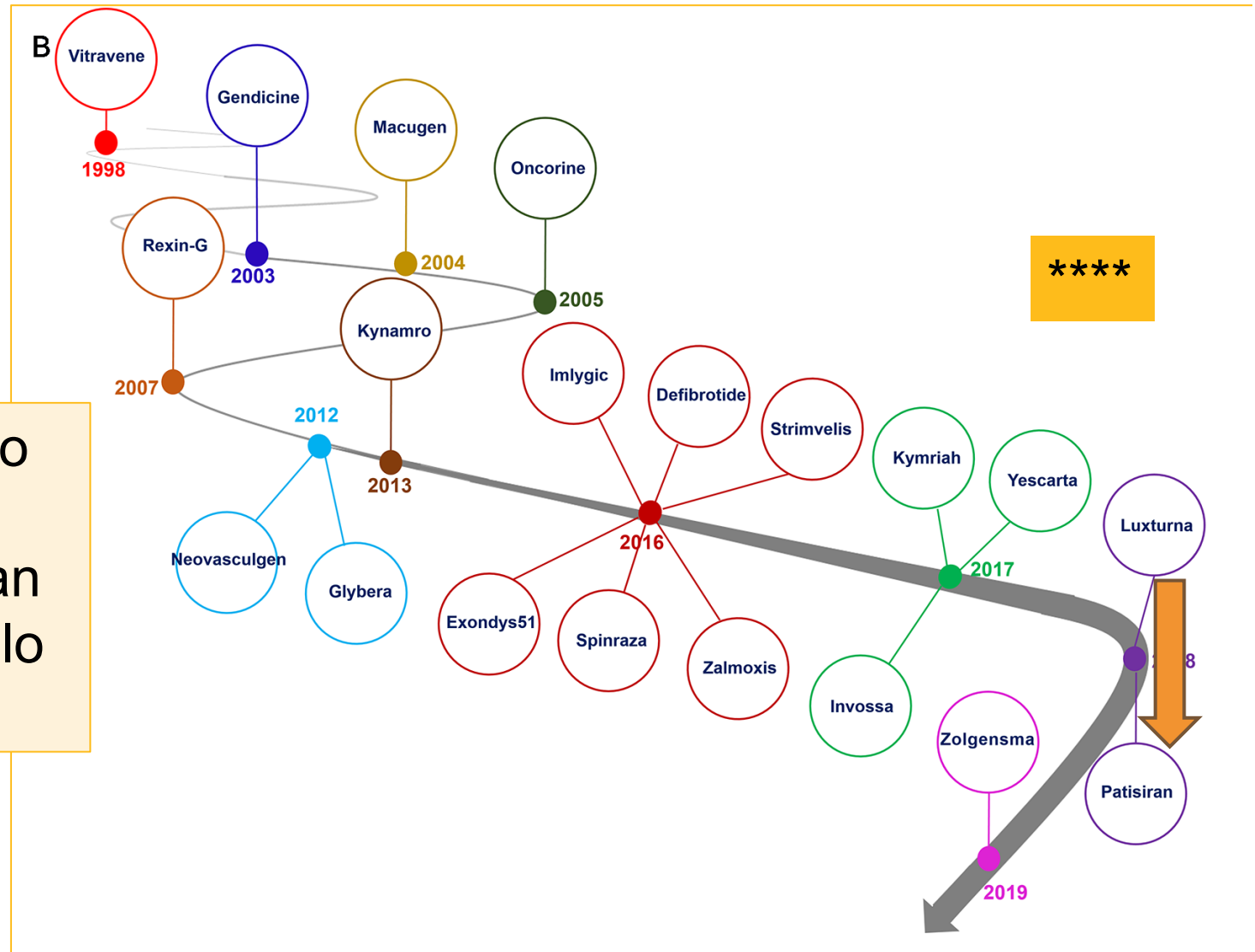
Contexto Atual – Terapia Gênica

Spark
Therapeutics
aprovação da
FDA para seu
Luxturna

Sistema AAV para
fornecer o gene
RPE65 no olho do
paciente que sofre
de distrofia
retiniana causada
por mutações no
EPR



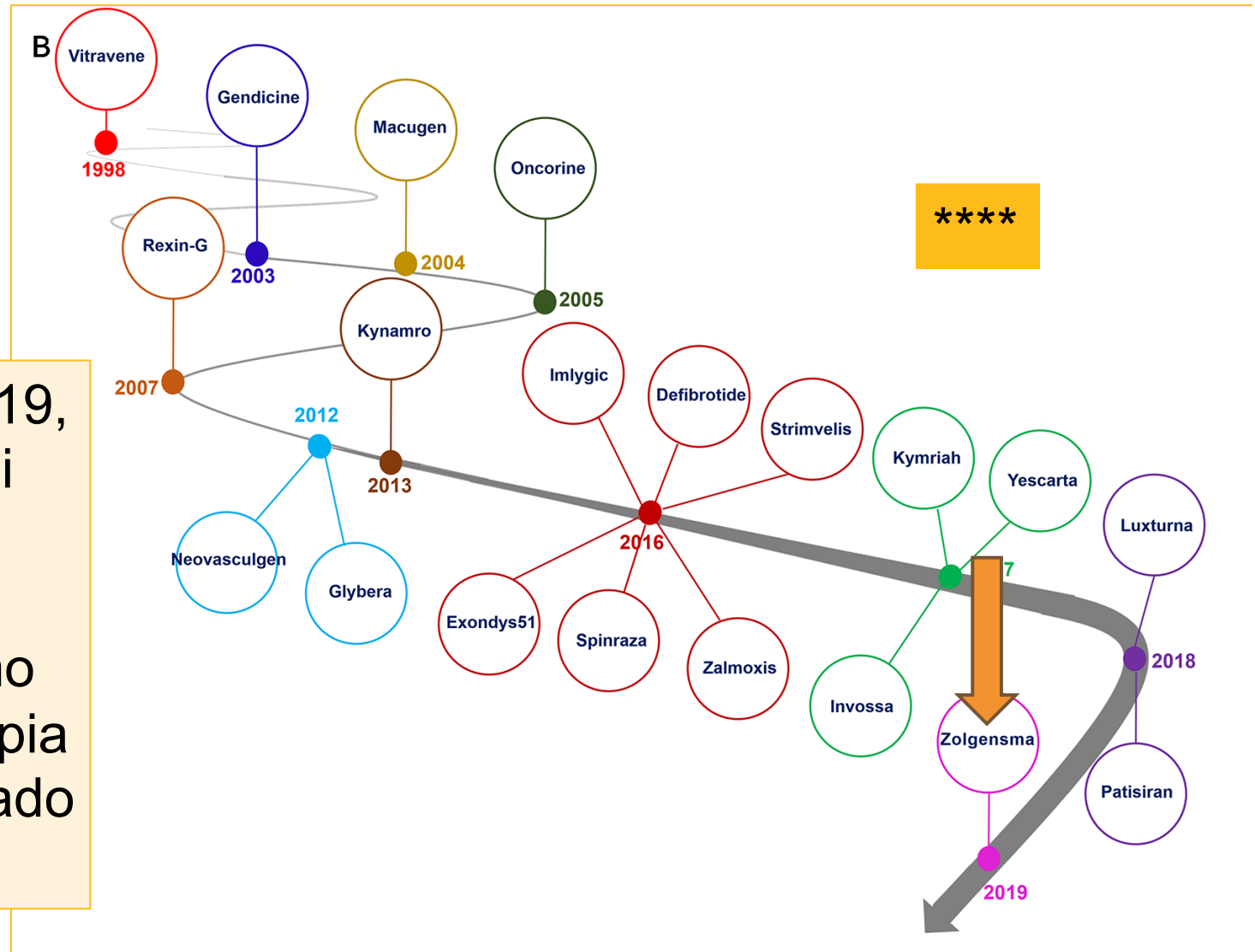
Contexto Atual – Terapia Gênica



Como o primeiro medicamento RNAi, o Patisiran foi aprovado pelo FDA em 2018

Contexto Atual – Terapia Gênica

Em maio de 2019, o Zolgensma foi aprovado pelo FDA dos EUA como o vigésimo produto de terapia genética aprovado até agora



Anvisa aprova regras para terapias com alteração do DNA no Brasil

Medida estabelece critérios para registro de terapias de alta tecnologia baseadas em células e genes humanos

18.fev.2020 às 16h34

 EDIÇÃO IMPRESSA (<https://www1.folha.uol.com.br/fsp/fac-simile/2020/02/19/>)

BRASÍLIA A Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) aprovou nesta terça-feira (18) um marco regulatório para a oferta de terapia gênica, que inclui técnicas de modificação do DNA com fins medicinais, e celular no Brasil.

Até então, as regras existentes visavam apenas o aval ao desenvolvimento de estudos clínicos. Agora, a agência cria uma nova categoria para registro desses tratamentos no país.

Atualmente, a Anvisa monitora oito estudos clínicos com terapias gênicas (<https://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2018/07/novas-estrategias-contr-hemofilia-incluem-terapia-genica-e-prevencao-mensal.shtml>) e celulares avançadas. Outros três estão em fase inicial de análise para autorização da agência.

TABLE 2 | Highlighted ongoing gene therapy products.

Product name	Developer/ sponsor	Structure and mechanism of action	Therapeutic indication and target tissue	Clinical trials ID
Zynteglo (Lentiglobin BB305)	Bluebird Bio	Ex vivo transplantation of hematopoietic stem cells manipulated by a lentiviral vehicle transferring HBB	Beta thalassemia (conditional approved by EMA)	NCT01745120 NCT02151526 NCT03207009 NCT02140554 NCT02906202 NCT03207009
BMN-270 (Valoctocogene roxaparvovec)	BioMarin Pharmaceutical	An AAV vector transferring factor VIII in hemophilia A individuals with Residual FVIII Levels ≤ 1 IU/dl	Hemophilia A	NCT03392974 NCT03370913 NCT02576795 NCT03520712 NCT02926066 NCT02852213 NCT02399761 NCT02926066 NCT01395641
AAV2-hAADC	PTC Therapeutics	AAV serotype 2 expressing human AADC (hAADC)	Aromatic L-amino Acid Decarboxylase (AADC9 deficiency)	NCT02926066 NCT01395641
Lenti-D	Bluebird Bio	Ex vivo Transplantation of CD34+ stem cells manipulated by lentiviral vector to contain a functional ABCD1 gene	Cerebral adrenoleukodystrophy (CALD), ABCD1 gene	NCT03852498 NCT01896102 NCT02698579
NSR-REP1 (AAV2-hCHM)	Spark Therapeutics Nightstar Therapeutics	An AAV2 vector transferring REP1 gene into the eye. The drug is delivered surgically by injection into the sub-retinal space	Retinal Gene Therapy for choroideremia	NCT02553135 NCT02077361 NCT03507686 NCT03496012 NCT01461213 NCT03584165 NCT02168686 NCT03804021
ADVM-043 (AAVrh.10hA1AT)	Adverum	An AAV expressing Alpha-1 Antitrypsin (A1AT) gene to patients with A1AT deficiency	A1AT Deficiency	NCT03612869 NCT02746341
LYS-SAF302	Lysogene, Regenxbio, Sarepta Therapeutics	AAVrh10 virus expressing N-sulfoglucosamine sulfohydrolase (SGSH)	Sanfilippo type A syndrome	NCT03569891 NCT03489291 NCT03587116 NCT03307980
AMT-061	uniQure	An AAV5 viral vector expressing the Padua variant of Factor IX (FIX-Padua)	Hemophilia B	NCT01515462 NCT03837483
Fidanacogene elapanovvec (SPK-9001)	Pfizer	An AAV with engineered capsid that expresses human coagulation factor IX gene	Hemophilia B	
OTL-103 (GSK2696275)	Orchard Therapeutics	Ex vivo autologous transplantation of hematopoietic stem cells manipulated by a lentiviral vehicle expressing WAS gene	Wiskott Aldrich syndrome	
OTL-200 (GSK2696274)	Orchard Therapeutics	Ex vivo autologous transplantation of CD34+ stem cells manipulated by lentiviral vector expressing human arylsulfatase A (ARSA) gene	Metachromatic Leukodystrophy (MLD)	NCT03392987
Instiladrin (rAd-IFN/Syn3)	FKD Therapies, Ferring Pharmaceuticals	Nonreplicating recombinant adenovirus type 5 expressing interferon alpha-2b (IFNα2b) gene, fused with the excipient Syn3 (rAD-IFN/Syn3)	Bacillus Calmette-Guérin (BCG)-unresponsive nonmuscle invasive bladder cancer (NMIBC)	NCT02773849
OTL-101	Orchard Therapeutics	Lentiviral transduced CD34+ cells to express ADA gene	Adenosine deaminase severe combined immune deficiency (ADA-SCID)	NCT03765632
RT-100 (Ad5.hAC6)	Renova Therapeutics	AAV5 vehicle expressing human adenylyl cyclase type 6 which it is directly injected throughout cardiac catheterization into the arteries feeding the heart	Heart failure and reduced ejection fraction	NCT03360448 NCT00787059
ADXS11-001 (Axalimogene filolisbac)	Achvaxis	Targeted immunotherapy /attenuated Listeria monocytogenes manipulated for secretion of antigen/ adjuvant fusion proteins	Metastatic cervical cancer	NCT02853604 NCT02002182 NCT02164461

TABLE 2 | Continued

Product name	Developer/ sponsor	Structure and mechanism of action	Therapeutic indication and target tissue	Clinical trials ID
OXB-301 (MVA-5T4)	Oxford BioMedica	An attenuated engineered vaccinia virus Ankara that delivers the 5T4 oncofetal antigen gene to stimulate the immune cells against cancer cells	Ovarian cancer, colorectal cancer	NCT01556841 NCT01569919
Pexa-Vec (JX-594)	SilaGen, Transgene	Wyeth strain vaccinia virus engineered to directly lyse tumor cells and stimulate anti-tumor immunity	Hepatocellular carcinoma	NCT02862785 NCT03071094
SPK-8011	Spark Therapeutics	Manipulated AAV vehicle (to specifically transfer the human factor VIII (hFVIII) gene into liver	Hemophilia A	NCT03003533 NCT03432520 NCT03876301
Toca 511 and Toca FC (vocimagene amiretrorevec)	Tocagen, ApolloBio	Toca 511 is a retroviral vector expressing cytosine deaminase. Toca FC is prodrug 5-fluorocytosine which is converted into 5-fluorouracil by CD	Glioblastoma Multiforme And Anaplastic Astrocytoma	NCT02414165 NCT02576665 NCT02598011
VB-111 (ofranergene obadenovec)	Vascular Biogenics	Targeted anticancer gene-based biologic administered as an IV infusion once every 2 months. VB-111 was developed through VBL's Vascular Targeting System (VTS™). VBL says the mechanism combines blockade of tumor vasculature with an anti-tumor immune response	Solid tumors, including recurrent platinum-resistant ovarian cancer	NCT03398655
VGX-3100	Inovio Pharmaceuticals	A synthetic DNA vehicle targeting the E6 and E7 proteins of HPV types 16 and 18, also is considered as a DNA vaccine	Cervical high-grade squamous intraepithelial lesion infected by HPV subtypes of 16 and 18	NCT03185013 NCT03721978 NCT03603808 NCT03499795 NCT03180684
VM202	ViroMed	DNA vehicle expressing two isoforms of hepatocyte growth factor, HGF728 and HGF723	Painful diabetic peripheral neuropathy, Chronic nonhealing ischemic foot ulcer in diabetes, Critical limb ischemia, Amyotrophic lateral sclerosis, Acute myocardial infarction	NCT02563522 NCT02427464 NCT03363165 NCT03404024
QTA020V	Astellas	A rAAV transfects retinal ganglion cell to express BDNF and one of its receptors (TrkB) resulting reduction in cell death	Glaucoma	-
EB-101	Abeona Therapeutics	This drug was designed to transfer a healthy copy of COL7A1 gene using the patients' own skin cells	RDEB (skin disease)	NCT01263379
AT132	Audentes Therapeutics	An AAV8 vector containing a functional copy of the MTM1 gene	X-Linked Myotubular Myopathy (ASPIRO)	NCT03199469
NSR-RPGR	Biogen/Nightstar	An AAV8 encoding retinitis pigmentosa GTPase Regulator (RPGR)	X-linked retinitis pigmentosa (XLRP)	NCT03116113
Generx (Ad5FGF-4)	Angionetics, Huapont Life Sciences	A human serotype 5 adenovirus that express fibroblast growth factor-4 (FGF-4) gene	Angina, Stable	NCT02928094 NCT01550614 NCT00346437
GS010	GenSight Biologics	AAV2 vector that expresses the human wild-type ND4 protein	Leber Hereditary Optic Neuropathy (LHON) caused by mutation of the ND4 gene	NCT02652780 NCT02652767 NCT03293524 NCT03406104

Abordagens de TG como CRISPR / Cas revolucionaram o campo da terapia gênica

TABLE 3 | Recruited clinical trials based on genome editing technologies (e.g. CRISPR/Cas, ZFN and TALEN).

Product name	Developer/ sponsor	Structure and mechanism of action	Therapeutic indication and target tissue	Clinical trials ID
AGN-151587 (EDIT-101)	Allergan	An AAV5 vector employed in EDIT-101 contains two gRNAs and Cas9 to correct IVS26 mutation in CEP290 gene	Leber Congenital Amaurosis 10 (LCA10)	NCT03872479
Cyclophosphamide (PD-1 Knockout T Cells)	Sichuan University	<i>Ex vivo</i> gene manipulation of T cells with CRISPR/Cas system to target non-small cell lung cancer	Metastatic NSCLC	NCT02793856
PD-1 Knockout T Cells	Yang Yang	<i>Ex vivo</i> gene manipulation of Peripheral blood lymphocytes with CRISPR/Cas system to knockout PD1 gene. Then EBV-CTL will be produced (PD-1 Knockout EBV-CTL)	Advanced-stage EBV-associated malignancies	NCT03044743
PD-1 Knockout T Cells	Hangzhou Cancer Hospital	<i>Ex vivo</i> gene manipulation of T cells with CRISPR/Cas system to target esophageal cancer	Esophageal Cancer	NCT03081715
CTX001	Vertex Pharmaceuticals Incorporated	Autologous CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells (hSPCs) manipulated with CRISPR/Cas9 system at the enhancer position of the BCL11A gene leads to increase in fetal hemoglobin	Hematologic diseases (Hemoglobinopathies)	NCT03655678 NCT03745287
SB-FIX	Sangamo Therapeutics	An AAV2/6 virus with ZFN inserting Factor 9 gene under the control of albumin promoter for liver expression	Hemophilia B	NCT02695160
ST-400	Sangamo Therapeutics	Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplant/ST-400 is composed of the patient's own blood stem cells which are genetically modified with ZFN technology to disrupt a precise and specific sequence of the enhancer of the BCL11A gene	Transfusion Dependent Beta-thalassemia	NCT03432364
CCR5 gene modification	Affiliated Hospital to Academy of Military Medical Sciences	CD34+ hematopoietic stem/progenitor cells from donor are manipulated with CRISPR/Cas9 aiming CCR5 gene deletion from cell surface	HIV-1-infection	NCT03164135
SB-318	Sangamo	An AAV2/6 viral vehicle combined with ZFN to incorporate IDUA under the control of albumin promoter for liver expression	MPS I (Hurler syndrome)	NCT02702115
SB-913	Sangamo	An AAV2/6 viral vehicle linked with ZFN tool to incorporate IDS gene under the control of albumin promoter in liver cells	MPS II (Hunter's syndrome)	NCT03041324
UCART123	Cellectis S.A.	Allogeneic engineered T-cells with TALEN system expressing anti-CD123 chimeric antigen receptor	AML	NCT03190278
UCART019	Chinese PLA General Hospital	CRISPR/Cas9 mediated CAR-T Cells Targeting CD19 in individuals with relapsed or refractory CD19+ leukemia and lymphoma	leukemia and lymphoma	NCT03166878
Anti-Mesothelin CAR-T cells	Chinese PLA General Hospital	Knocking out of PD-1 and TCR genes using CRISPR/Cas in CAR T Cells	Solid Tumor, Adult	NCT03545815
NY-ESO-1 redirected autologous T cells with CRISPR edited endogenous TCR and PD-1	University of Pennsylvania	Autologous T cells manipulated with a lentiviral vector for expressing NY-ESO-1 and transfected with CRISPR guide RNA to for knocking out of endogenous TCR α , TCR β and PD-1 (NYCE T Cells)	Multiple Myeloma	NCT03399448
Universal Dual Specificity CD19 and CD20 or CD22 CAR-T Cells	Chinese PLA General Hospital	Using CRISPR/Cas9 to target CD19 and CD20 or CD22 in CAR-T Cells for treatment of Relapsed or Refractory Leukemia and Lymphoma	Leukemia Lymphoma	NCT03398967

Conclusão



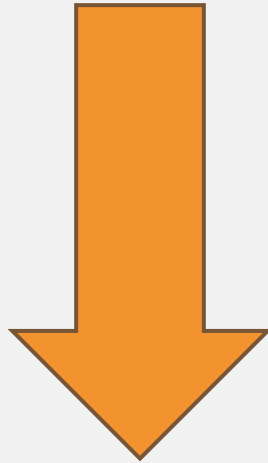
Desenvolvimento
tecnológico

Testes pré-
clínicos e clínicos

Conhecimento
detalhado do
genoma
humano

Conclusão

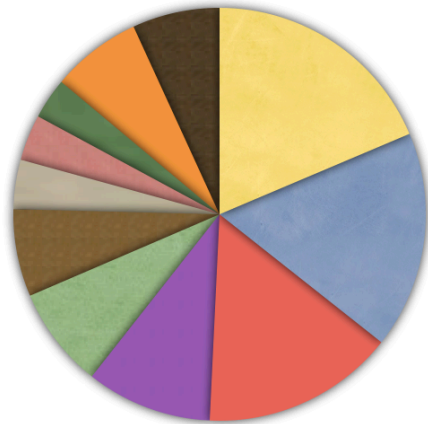
- ❑ Roots Analysis no 'Gene Therapy Market (2nd Edition), 2018-2030':



- ❑ Quase 300 candidatos a produtos estão atualmente em vários estágios de desenvolvimento para uma ampla gama de aplicações

Conclusão

Vectors Used in Gene Therapy Clinical Trials



- Adenovirus 18.6% (n=574)
- Retrovirus 17.0% (n=524)
- Naked/Plasmid DNA 15.1% (n=466)
- Lentivirus 9.9% (n=304)
- Adeno-associated virus 7.9% (n=244)
- Vaccinia virus 6.8% (n=211)
- Lipofection 3.9% (n=119)
- Poxvirus 3.6% (n=111)
- Herpes simplex virus 3.2% (n=99)
- Other vectors 7.1% (n=218)
- Unknown 6.8% (n=211)

The Journal of Gene Medicine, © 2019 John Wiley and Sons

VETORES NÃO VIRAIS

redução da toxicidade de vetores integradores

melhorar a transferência de genes

atingir níveis ideais de expressão e

evitar respostas imunes às seqüências de vetores virais

Conclusão

Apenas alguns dos 20 produtos aprovados estão na clínica

- Interações desconhecidas com hospedeiro
- Alto custo

Conclusão

