

O USO DE TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DA FIBROSE CÍSTICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Beatriz Quelé Azeredo¹
Rosemeire Quelé Azeredo²
Henrique Fonseca Sousa do Nascimento³
Luiz Carlos Santana da Silva⁴

RESUMO: A terapia gênica, que envolve a introdução, alteração ou correção do material genético dentro das células de um indivíduo para tratar uma doença, tem despertado interesse dentro da comunidade científica, principalmente para o tratamento de doenças monogênicas. O presente trabalho tem como objetivo abordar as informações mais relevantes acerca da terapia genética no tratamento da fibrose cística (FC). Este estudo é do tipo revisão sistemática e incluiu pesquisas publicadas entre 2013 e 2023 nas bases SCIELO, LILACS, MEDLINE e PUBMED. Foram destacados 9 artigos para compor essa revisão. As informações mais relevantes evidenciam que a adição, inativação e edição de genes são as técnicas utilizadas na terapia genética, e dentre as nucleases mais utilizadas encontram-se: zinc-finger nucleases, transcription activator-like effector nucleases e clustered regularly interspaced short palindromic repeats associado a nucleases Cas9, sendo esta última a mais promissora. As vantagens e desvantagens dependem principalmente do tipo de vetor utilizado para a veiculação de genes terapêuticos, sendo que os vetores virais se destacam pela eficiência na entrega de material genético, contudo estão mais relacionados com respostas imunitárias. É imprescindível considerar as questões éticas, como consentimento informado, possíveis efeitos adversos e a equidade no acesso à terapia genética. Em suma, a terapia genética apresenta um potencial significativo no tratamento da FC, abrindo caminho para uma cura efetiva. Contudo, o sucesso dessa abordagem depende não apenas de avanços científicos, mas também da abordagem cuidadosa de questões éticas. O progresso nesse campo é promissor, oferecendo esperança para uma nova era no tratamento da FC.

Palavras-chave: Fibrose Cística. Terapia gênica. Tratamento.

ABSTRACT: Gene therapy, which involves the introduction, alteration or correction of genetic material within an individual's cells to treat a disease, has aroused interest within the scientific community, mainly for the treatment of monogenic diseases. The present work aims to address the most relevant information about gene therapy in the treatment of cystic fibrosis (CF). This study is a systematic review and included research published between 2013 and 2023 in the SCIELO, LILACS, MEDLINE and PUBMED databases. 9 articles were highlighted to compose this review. The most relevant information shows that the addition, inactivation and editing of genes are the techniques used in gene therapy, and among the most used nucleases are: zinc-finger nucleases, transcription activator-like effector nucleases and clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated with Cas9 nucleases, the latter being the most promising. The advantages and disadvantages depend mainly on the type of vector used to deliver therapeutic genes, with viral vectors standing out for their efficiency in delivering genetic material, however they are more related to immune responses. It is essential to consider ethical issues, such as informed consent, possible adverse effects and equity in access to gene therapy. In short, gene therapy has significant potential in the treatment of CF, paving the way for an effective cure. However, the success of this approach depends not only on scientific advances, but also on carefully addressing ethical issues. Progress in this field is promising, offering hope for a new era in CF treatment.

Keywords: Cystic Fibrosis. Gene therapy. Treatment.

¹ Graduanda em Biomedicina pela Faculdade Cosmopolita, Belém PA, Brasil.

² Graduanda em Biomedicina pela Faculdade Cosmopolita, Belém PA, Brasil.

³ Mestre em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará (Ufpa), Belém PA, Brasil e professor da faculdade Cosmopolita, Belém PA, Brasil.

⁴ Doutor em Bioquímica, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre RS, Brasil. Professor titular da Universidade Federal do Pará (UFPA) Belém PA, Brasil. Chefe do laboratório de erros inatos do metabolismo (LEIM), Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém PA, Brasil.

INTRODUÇÃO

As técnicas terapia gênica consistem na introdução de genes funcionais em células somáticas de um indivíduo acometido por alguma doença, por meio de um vetor, usando métodos que podem ser *ex vivo* ou *in vivo*. Esse processo é realizado a partir da tecnologia do DNA recombinante, onde é inserida uma sequência específica de DNA ou uma molécula inteira de RNA que codifica uma proteína específica, a fim de substituir um gene por outro, para obter o resultado desejado¹.

Segundo a Agência Europeia de Medicamentos (EMA), medicamentos de terapia gênica são aqueles que possuem uma substância ativa que contém um ácido nucleico recombinante, com finalidade de reparar, substituir ou inserir, ou ainda apenas eliminar uma determinada sequência gênica. A outra exigência é que o efeito terapêutico e/ou de diagnóstico esteja relacionado diretamente à sequência de ácido nucleico recombinante ou ao produto de sua expressão².

De acordo com a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, medicamentos para terapia gênica constituem produtos que medeiam seus efeitos pela transcrição e/ou tradução de material genético transferido e/ou pela integração no genoma do hospedeiro e que são administrados como ácidos nucleicos nano estruturados artificialmente, ou microrganismos geneticamente modificados, como o vírus. Os produtos podem ser usados para modificar células *in vivo* ou transferidos para células *ex vivo* antes da administração ao receptor³.

617

Existem atualmente várias classes de nucleases específicas de sequência que estão disponíveis para edição de genoma de sequência específica de DNA, incluindo a “clustered regularly interspaced short palindromic repeats” associada as nucleases Cas9 (CRISPR/Cas9), diferentes nucleases, como as “zinc-finger” nucleases (ZFN), “transcription activator-like effector nucleases” (TALEN) e meganucleases⁴

De acordo com Amaral e Rego⁵ a fibrose cística (FC) se trata de uma doença monogênica e multissistêmica, de herança autossômica recessiva, que ocorre no gene CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), localizado no braço longo do cromossomo 7, responsável por codificar a proteína também chamada de CFTR, um canal iônico, presente na membrana apical de glândulas respiratórias, digestivas, reprodutivas e sudoríparas. A FC se caracteriza principalmente pelo aumento da viscosidade do muco nos pulmões e pela dificuldade em eliminá-lo.

Os portadores da FC produzem muco muito mais espesso e pegajoso, 30 a 60 vezes mais espesso que o comum, esse problema leva ao acúmulo de bactérias e germes nas vias respiratórias, podendo causar inchaço, inflamações e infecções como pneumoniae bronquite, levando também a dificuldades no funcionamento gastro-intestinal, insuficiência pancreática até o primeiro ano de vida, doença hepática nos primeiros dez anos de vida, podendo se estender até os dezoito anos de

idade ⁶.

A partir dos trabalhos de Athanazio⁷, a FC, por ser uma doença multissistêmica crônica, exige um modelo de atendimento multidisciplinar, que possibilita tratamentos mais abrangentes e eficazes, resultando em aumento da expectativa de vida dos pacientes. A triagem neonatal para FC no Brasil baseia-se na quantificação dos níveis de tripsinogênio imunorreativo. Duas dosagens positivas, faz-se necessário complementar com o teste do suor para a confirmação ou a exclusão da FC. A dosagem de cloreto (CL) por métodos quantitativos no suor ≥ 60 mmol/l em duas amostras confirma o diagnóstico.

Diante do que foi exposto, o presente artigo busca apresentar ao público interessado as informações mais relevantes e atuais a respeito das terapias gênicas no tratamento da fibrose cística, servindo como atualização para profissionais da área e demais pessoas que buscam se informar a respeito desse tema que ainda é pouco difundido na literatura científica. E ainda mostrar ao público que apesar de resultados promissores, também há um longo processo para que essas técnicas sejam amplamente utilizadas.

METODOLOGIA

Esse estudo é do tipo revisão sistemática, exploratório e descritivo. Utilizou-se como fonte de dados artigos científicos publicados em no formato online na base de dados Eletronic Library Online (SCIELO), base de Dados da Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (MEDLINE) e base de dados de publicações médicas (PUBMED).

Para as buscas aplicamos as seguintes palavras-chave contempladas nos Descritores em Saúde (DECS): fibrose, cística, terapia gênica e tratamento, que foram combinadas em dupla e trio com o operador booleano AND, com o objetivo de encontrar estudos da mesma linha de pesquisa, realizou-se assim busca com três cruzamentos: (1) terapia gênica AND fibrose AND cística; (2) terapia gênica AND fibrose; (3) terapia gênica AND tratamento AND fibrose.

Foram incluídos nesse estudo artigos científicos, dissertações e teses publicados em revistas e jornais, publicado em periódicos nacionais ou internacionais, disponíveis nas bases de dados escolhidas (SCIELO, LILACS, MEDLINE, PUBMED), escritos no idioma português, inglês ou espanhol e publicados entre 2013-2023. Por sua vez, foram excluídas pesquisas repetidas em bases de dados divergentes, relatos de caso, cartas ao editor, resumos, pesquisas que não apresentem conteúdo de interesse para o tema proposto, documentos pagos, indisponíveis na íntegra e revisões de literatura.

Por não ter envolvimento de seres humanos a presente pesquisa não necessitou de aprovação

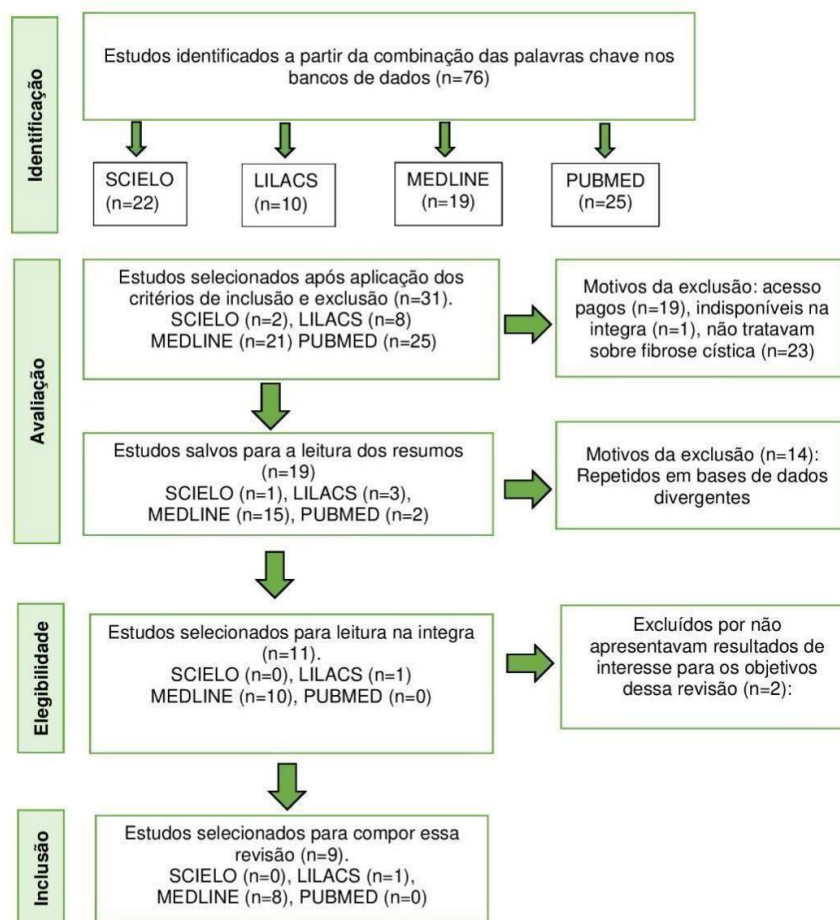
pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

RESULTADOS

A partir da aplicação dos descritores nas bases de dados foram encontrados 66 artigos, dos quais 22 eram da Scielo, 10 da Lilacs, 19 Medline, 15 Pubmed. Após a aplicação dos filtros: texto completo e artigo com acesso gratuito restaram 46, sendo 2 da Scielo, 8 da Lilacs, 21 da Medline, e 15 da Pubmed.

Durante a seleção de artigos para a leitura, observou-se que 27 pesquisas estavam repetidas em bases divergentes, sendo por esse motivo excluídas. Então, 19 artigos tiveram seus resumos lidos, sendo 1 da Scielo, 3 da Lilacs, 15 da Medline, e 0 da Pubmed; restando 11 artigos de interesse para leitura na íntegra, sendo que destes, somente 9 artigos foram considerados aptos para compor essa revisão. Desta forma, o processamento dos dados para o levantamento do quantitativo de dados que compuseram esta revisão está descrito na figura 1.

Figura 1 – Coleta de dados.



Fonte: Autores (2023).

A partir dos dados brutos sobre a quantidade de artigos selecionados, foi feita a tabela 1 onde estão descritas informações como nome dos autores, título da publicação e principais achados dos artigos considerados aptos para compor essa revisão.

Tabela 1 – Autores, título da publicação e principais achados dos artigos aptos a compor a revisão 2013-2023.

Autor/ano	Título do artigo	Principais achados
ney, MccraySinn ⁸	Genetic therapy for cystic fibrosis: looking back,	A adição de genes é uma técnica de terapia gênica para o tratamento de modelo

	looking forward.	experimentais com FC, e graças à inovação contínua, ainda pode se tornar uma realidade a ser utilizada no campo clínico, contudo muitas pesquisas e estudos clínicos e experimentais precisam ser realizados.
Rees, Liu ⁹	Basic editing: precision chemistry in the genome and transcriptome of living cells.	A edição básica é o método mais eficiente para modificar um único nucleotídeo e apresenta bons resultados em modelos experimentais para controlar doenças de alterações de nucleotídeo único como a FC.
Anzalone et al. ¹⁰	Genome search and replace editing without double-strand breaks or donor DNA.	A edição Prime utiliza spCas9 e permite a modificação de mais de um nucleotídeo. Essa técnica expande o escopo e as capacidades da edição do genoma e, em princípio, pode corrigir até 89% das variantes genéticas conhecidas associadas a doenças humanas.
Sander, Joung ¹¹	CRISPR-Cas systems for genome editing, regulation, and targeting.	O progresso no desenvolvimento de tecnologias baseadas em Cas9 nos últimos meses tem sido impressionante de se observar, mas muitas questões e aplicações interessantes ainda precisam ser abordadas e exploradas para definição de tratamentos padrões em pessoas.
Miyaoka et al. ¹²	Systematic quantification of HDR and NHEJ reveals locus, nuclease, and cell type effects on genome editing.	O reparo HDR é um mecanismo de reparo preciso e melhor quando comparado NHEJ e MMEJ. O HDR realizado no contexto do sistema CRISPR/Cas9 apresenta boas perspectivas para o tratamento de doenças como a FC, contudo muitos ensaios clínicos e experimentais são ainda necessários para definir terapêuticas.

Kabadi et al. ¹³	iting the CFTR locus epigenome for the	A modulação da maquinaria reguladora da transcrição do CFTR a partir da terapia gênica é

	treatment of cystic fibrosis.	um mecanismo viável. Existem múltiplas regiões genômicas responsáveis por induzir e reprimir a expressão de CFTR, logo há um extenso percurso a ser percorrido no campo da pesquisa para definição de terapêuticas relacionadas a terapia genica para FC.
nelley et al. ¹⁴	Repeated or single-dose administration of lentiviral vector in mouse lungs? It's all a matter of time.	Os achados desse estudo sugerem que doses múltiplas consecutivas de vetores virais são mais eficazes na melhoria da expressão genética nos pulmões, do que intervalos de dosagem repetidos mais longos.
e-Beitia et al. ¹⁵	Delivery of genes to the lungs: pulmonary gene therapy for cystic fibrosis.	Os vetores não virais são uma alternativa de fácil produção e a menor custo, contudo não são tão eficientes no transporte quanto os vetores virais. Os vetores virais tem capacidade inata de transferência de material genético para as células do hospedeiro, garantindo o sucesso da transferência de genes terapêuticos em órgãos alvo.
Alton et al. ¹⁶	A phase I/IIa safety and efficacy study of nebulized liposome-mediated gene therapy for CF: a multidose trial.	Apesar da melhor transferência de material genético para as células do hospedeiro, nenhum agente de transferência de genes virais retém eficácia após administração repetida, ademais os vetores virais podem propiciar a ocorrência de resposta imunológica após administrações consecutivas além de outras intercorrências.

DISCUSSÃO

Tipos de técnicas de terapia gênica

A adição, inativação e edição de genes são as técnicas utilizadas na terapia genética. A adição foi a pioneira e consiste em adicionar uma cópia saudável do gene nas células afetadas para compensar os fenótipos da doença. A inativação visa inativar um gene que funciona incorretamente via RNA de interferência (iRNA), enquanto a técnica de edição permite realizar a correção do gene mutado via edição de genoma⁸.

A técnica de edição genética é a mais discutida para o tratamento da FC devido à sua gama de possibilidades. Consiste no reparo direto do CFTR endógeno a partir da edição genômica⁹. Na edição genética, diferentes nucleases, como ZFN, TALEN e CRISPR/Cas9, introduzem quebras na fita dupla próximas ao local da mutação a ser corrigida. Essas regiões recebem, então, doações de sequência de reparo para reconstituir o funcionamento do gene-alvo¹⁰.

O sistema CRISPR/Cas9 foi descoberto em 2012, sendo o mais estudado no ramo da terapia genética para FC^{11,12,13,14}. Nesse sistema, a nuclease Cas9 é direcionada à sequência específica do genoma por um RNA guia e induz a quebra de DNA de fita dupla nesse locus específico¹¹. Quando o complexo está fixado na sequência de DNA, o Cas9 reconhece o protoespaçador (PAM), que consiste em uma sequência específica de DNA presente no alvo para que o Cas9 possa se ligar e cortar¹².

Após o corte, a célula repara o DNA por união de extremidades não homólogas (NHEJ), união de extremidades mediada por microhomologia (MMEJ) ou reparo dirigido por homologia (HDR). Este último é um mecanismo de reparo preciso que utiliza DNA do doador homólogo para reparar danos ao DNA, enquanto NHEJ e MMEJ são mecanismos propensos a erros nos quais pontas quebradas de DNA são unidas, muitas vezes resultando em um conjunto heterogêneo de inserções e deleções¹².

A edição do genoma pode ser básica ou principal. A primeira apresenta-se como o método mais eficiente para modificar um único nucleotídeo e utiliza um *Streptococcus pyogenes* (SpCas9) cataliticamente inativo que se liga ao DNA-alvo e causa o deslocamento de um pequeno segmento de ssDNA em uma estrutura de loop R sem criação de quebra de fita, criando assim alterações de nucleotídeo único⁹. A edição principal também utiliza spCas9, porém permite criação de quebra de fita, criando assim alterações de nucleotídeo único⁹. A edição principal também utiliza spCas9, porém permite a modificação de mais de um

nucleotídeo, e o spCas9 modificado cria uma quebra de fita simples. O DNA cortado atua como um iniciador para a transcrição reversa do modelo de pegRNA para o DNA, resultando na alteração genética desejada¹⁰.

A edição de genes pode ser realizada por dois métodos: (1) inserção de cassetes de expressão de DNA ou mRNA que codifica os componentes necessários e (2) entrega de proteína e DNA ou RNA para o genoma alvo de modificações. O veículo de entrega dessas cargas inclui vetores virais e não virais^{8,9,10}.

A escolha dos vetores (virais ou não virais) e a frequência de exposição aos vetores para a transferência de material genético para as células do hospedeiro dependem do tipo de doença tratada. Na FC, alguns achados evidenciam que vetores virais e aplicação repetida são mais eficientes^{13,14}.

Donnelly et al.¹⁴ realizaram um estudo para avaliar a terapia genética em camundongos portadores de FC, utilizando como veículos de entrega lentivirais pseudotipados. Na pesquisa, foram realizados seis esquemas de dosagem diferentes de curto prazo (≤ 1 semana) e longo prazo (> 1 semana). Com resultados principais, verificou-se que o grupo que recebeu duas doses com intervalo de 1 semana foi significativamente maior do que o grupo de dose única e os dois grupos que receberam doses durante um período superior a 1 semana. Esses resultados sugerem que doses múltiplas consecutivas precoces são mais eficazes na melhoria da expressão genética nos pulmões de ratos aos 12 meses do que intervalos de dosagem repetidos mais longos.

Reiterando a eficácia dos vetores virais na terapia genética de doenças pulmonares, Kabadi et al.¹³ realizaram edição no epigenoma de células epiteliais brônquicas humanas (HBE) utilizando a ferramenta CRISPR/dCas9 e vetores virais, lentivírus, a fim de aumentar a expressão de CFTR. Os autores obtiveram como principais achados a regulação positiva de CFTR mutante com consequente melhora dos efeitos do tratamento com Lumacaftor. Assim, a pesquisa mostrou que a modulação da maquinaria reguladora da transcrição do CFTR a partir da terapia gênica é um mecanismo viável para aumentar os níveis de CFTR para o tratamento da FC¹³.

Vantagens e desvantagens no tratamento da fibrose cística

As vantagens e desvantagens dos métodos de terapia genética para FC dependem principalmente dos tipos de vetores utilizados para a veiculação de genes terapêuticos. Os

Vetores não virais são uma alternativa de fácil produção e menor custo, podendo ser produzidos em larga escala com alta reprodutibilidade, além de permanecerem estáveis após o armazenamento. Contudo, esses vetores não são tão eficientes no transporte quanto os vetores virais. Logo, apesar da eficiência *in vitro*, apresentam baixos sucesso *in vivo* no que diz respeito à eficácia¹⁷.

Os vetores virais têm como principal vantagem sua capacidade inata de transferência de material genético para as células do hospedeiro, garantindo o sucesso da transferência de genes terapêuticos em órgãos-alvo¹⁵. Entretanto, nenhum agente de transferência de genes virais retém eficácia após administração repetida no homem devido a respostas imunitárias. Logo, com o decorrer das aplicações, há perda na eficácia da transferência de genes. Além disso, os vetores virais podem propiciar a ocorrência de resposta imunológica após administrações consecutivas, problemas não observados com vetores não virais¹⁶.

Alton et al.¹⁶ em seu ensaio clínico, apresentaram em seus resultados vantagens e desvantagens da terapia genética como tratamento da FC. Ao administrarem em pacientes adultos com FC uma dose única nebulizada nasal de pGM169/GL67A em diferentes quantidades (5 ml, 10 ml, 20 ml), demonstraram melhoria no índice de depuração pulmonar após apenas uma administração, mesmo em doses mais baixas. Cinco mililitros foram determinados como dose ideal segura para tratamento, visto que doses superiores cursaram com efeitos adversos. Doses de 20 ml foram consideradas proibitivas para utilização em um ensaio de administração repetida.

626

Possíveis questões éticas envolvidas

Por ser um avanço médico recente, a terapia genética na FC apresenta diversas questões éticas, sendo os possíveis efeitos colaterais e respostas indesejadas os principais a serem considerados. No estudo de Alton et al.¹⁶ identificou-se que 94,3% dos indivíduos apresentaram pelo menos um evento adverso, a maioria com gravidade leve a moderada e resolvidos espontaneamente ou com antipiréticos padrão. Houve dois eventos adversos graves: um ocorreu após a broncoscopia pré-dosagem (inchaço da úvula relacionado à intubação), e o outro foi um episódio de pancreatite que ocorreu por volta do dia 10 após a administração (coorte de 10 ml nebulizados). Evidentemente, números maiores e acompanhamento mais longo são necessários para confirmar ou refutar a eficácia da terapia genética na FC.

O Consentimento Informado torna-se, então, outro aspecto ético a ser considerado, pois é necessário garantir que os pacientes e suas famílias tenham informações completas e compreensíveis sobre os riscos, benefícios e possíveis efeitos colaterais da terapia genética. Isso é essencial¹⁶.

Outro aspecto ético inclui o acesso e equidade à terapia genética, que é robusta e onerosa. Assim, mesmo após definidas diretrizes clínicas terapêuticas, será necessário discutir sobre a possibilidade de aplicação em algumas localidades e se pessoas de diferentes perfis socioeconômicos terão acesso a essa terapêutica¹⁵.

A FC consiste em uma doença multiorgânica, autossômica recessiva causada por defeitos em um canal aniônico conhecido como regulador de condutância transmembrana que resulta em acúmulo de muco espesso nas vias respiratórias¹⁷.

A terapêutica convencional prevê a drenagem das secreções brônquicas, realizando-se cinesioterapia respiratória associada a agentes mucolíticos, para diminuir a viscosidade das secreções e facilitar o processo de drenagem, além da terapêutica broncodilatadora (salbutamol, salmeterol, aminofilina e teofilina), que também é realizada como profilaxia ou tratamento de broncospasmos. As infecções do trato respiratório e insuficiência pancreática fazem parte do quadro clínico desses pacientes, tornando-se necessário o uso de antibióticos e oxigenoterapia. A terapêutica convencional visa apenas retardar a progressão dos problemas pulmonares, prevenindo e controlando a função e infecção respiratória¹⁸.

Em meados de 2019, houve um avanço marcante na terapêutica da FC com o surgimento da terapia moduladora, tornando-se possível para a maioria dos pacientes com FC. Essa terapêutica consiste em corrigir os defeitos básicos no canal mutante e melhorar a função da proteína cistina-transmembrana reguladora (CFTR)¹⁹.

Entretanto, esta abordagem não foi uma terapia revolucionária para todos, pois alguns pacientes apresentam mutações CFTR que produzem pouca ou nenhuma proteína, sendo os moduladores ineficazes (CHOI; ENGELHARDT, 2021). Logo, evidenciou-se a necessidade de desenvolver novas abordagens terapêuticas que funcionassem em todos os pacientes, abrindo espaço para discussões relacionadas à terapia genética²⁰.

Como explicitado nos estudos de Cooney, Mccray e Sinn⁸, Rees e Liu⁹ e Anzalone¹⁰ terapia genética consiste na intervenção direta no genoma do indivíduo e prevê a resolução permanente da doença, a partir da inserção de um ou mais genes manipulados em laboratório no material genético das células do indivíduo, portanto, essa é uma grande promessa para o

tratamento e aumento da sobrevida de pacientes com FC²⁰.

Contudo, como todo novo procedimento terapêutico, a terapia genética deve transpor as barreiras da fase experimental (estudos pré-clínicos) antes de obter consentimento para ser aplicada como uma técnica clínica, a fim de definir critérios como segurança e efeitos adversos. Além disso, é imprescindível discutir os aspectos éticos envolvidos. Diversos ensaios clínicos de intervenção gênica que estão sendo realizados atualmente encontram-se em diversas etapas, com resultados promissores, porém inconclusivos para delimitar diretrizes terapêuticas¹⁶.

Os principais estudos concentram-se nos veículos de entrega, pois todos possuem vantagens e desvantagens, e a aplicabilidade da terapia genética depende principalmente do sucesso da entrega dos componentes utilizados para fazer as edições genéticas²¹. Os vetores podem ser virais e não virais; os adenovírus, vírus adeno- associados, retrovírus, lentivírus e vírus herpes-simplex tipo 1 são os grupos de vetores virais mais comuns, enquanto os vetores não virais são compostos de partículas biológicas sinteticamente produzidas, que podem ser organizados em três tipos: vetores lipoplexo, poliplexo ou vetor inorgânico e lipopoliplexos²¹.

Os vetores virais são os mais eficazes no transporte, sendo, portanto, os mais utilizados em ensaios clínicos e experimentais. No entanto, esses vetores estão mais relacionados a efeitos adversos e respostas imunitárias, como relatado no estudo de Arton et al¹⁶, no qual a maioria dos pacientes apresentaram algum tipo de efeito diverso após a terapia genica utilizando vetores virais.

Além disso, nenhum agente de transferência de genes virais retém eficácia após administração repetida no homem devido a respostas imunitárias. Isso é um problema, principalmente no uso da terapia genética para FC, visto que as células epiteliais respiratórias têm apenas uma vida útil limitada. Portanto, qualquer terapia genética com chance de sucesso clínico exigirá aplicação repetida^{20,21}.

Diante dessa perspectiva, os estudos mais recentes sobre terapia genética buscam identificar os melhores agentes de transferência de genes, principalmente os não virais, devido às limitações dos vetores virais citadas anteriormente²².

Além dos aspectos clínicos, é importante considerar todos os potenciais aspectos éticos relacionados à terapia genética na FC, como a garantia do acesso independente de questões socioeconômicas, o consentimento livre e esclarecido na aplicação terapêutica, visto a possibilidade de efeitos adversos^{23,24}. Logo, como referido no estudo de Villate- Beitia et al.¹⁵ apesar da terapia genica ser um tratamento promissor deve-se considerar também o tempo que

se seguirá até serem discutidos todos os aspectos éticos envolvidos com esse tratamento, visando a equidade e justiça de forma que nenhum paciente seja excluído dessa possibilidade de tratamento com base nas suas características econômicas e sociais.

Em suma, a terapia genética possui um enorme potencial no tratamento da FC. Ao contrário dos medicamentos tradicionais, que tratam apenas os sintomas, esta tem o potencial de curar a doença. No entanto, diversos aspectos, incluindo clínicos e éticos, devem ainda ser estudados para o estabelecimento de diretrizes clínicas^{25,26}.

CONCLUSÃO

A terapia genética surge como uma promissora abordagem no tratamento da FC, os métodos utilizados incluem adição, inativação e edição de genes, cada um com suas vantagens e desvantagens. A técnica de edição genética, notavelmente usando o sistema CRISPR/Cas9, destaca-se devido à sua versatilidade para corrigir mutações no gene CFTR.

Os vetores virais destacam-se pela eficiência na entrega de material genético, especialmente quando administrados em doses múltiplas consecutivas. No entanto, as possíveis respostas imunitárias surgem como desafios importantes.

A terapia genética oferece a perspectiva de uma abordagem mais abrangente, buscando uma correção permanente no nível genético, contudo é necessário considerar as questões éticas, como consentimento informado, considerações sobre possíveis efeitos adversos e a equidade no acesso à terapia genética. Assim, embora haja promessa, é essencial continuar pesquisando sobre os métodos de terapia gênica e abordar questões éticas para garantir a segurança e a eficácia desse tratamento.

A terapia genética apresenta um potencial significativo no tratamento da FC, abrindo caminho para uma cura efetiva. No entanto, o sucesso dessa abordagem depende não apenas de avanços científicos, mas também da abordagem cuidadosa de questões éticas e clínicas. O progresso nesse campo é promissor, oferecendo esperança para uma nova era no tratamento da FC.

REFERÊNCIAS

1. Chiroto-Filho LR, Machado BF. Manipulação genética: aplicações das técnicas de terapia gênica. FOCO: caderno de estudos e pesquisas. 2019;1(14): 61-76.
2. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S. History of gene therapy. Gene. 2013;525(2):162-169.
3. Linden R. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. Estudos avançados.

2020;24(1):31-69.

4. King NE, Suzuki S, Barillà C, Hawkins FJ, Randell SH, Reynolds SD, et al. Correction of airway stem cells: genome editing approaches for the treatment of cystic fibrosis. *Human Gene Therapy*. 2020; 31(17): 956- 972.

<https://doi.org/10.1089/hum.2020.160>.

5. Amaral MB, Rego S. Doenças raras na agenda da inovação em saúde: avanços e desafios na fibrose cística. *Cadernos de Saúde Pública*. 2020;1(36):e00115720. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00115720>

6. De Miranda CV, Santi EC. Fibrose cística- diagnósticos e perspectivas de tratamentos. *Visão Acadêmica*. 2022;23(2):270-286.

7. Athanazio RA, Filho LVRFS, Vergara AA, Ribeiro AF, Riedi CA, Procianoy EFA, et al. Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística. *Jornal brasileiro de pneumologia*. (2017);43(1):219- 245.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37562017000000065>.

8. Cooney AL, McCray PB Jr., Sinn PL. Terapia genética para fibrose cística: olhando para trás, olhando para frente. *Genes (Basileia)*. 2018;13(9):538.

9. Rees HA, Liu DR. Edição de base: química de precisão no genoma e transcriptoma de células vivas. *Nat Rev Genet*. 2018;21(19):770-788.

10. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*. 2019;12(7785):149-157.

<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4>

11. Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol*. 2014;32(4):347-55.

<https://doi.org/10.1038/nbt.2842>

12. Miyaoka Y, Berman JR, Cooper SB, Mayerl SJ, Chan AH, Zhang B, et al. Systematic quantification of HDR and NHEJ reveals effects of locus, nuclease, and cell type on genome editing. *Sci Rep*. 2016;31(6):23549.

<https://doi.org/10.1038/srep23549>

13. Kabadi AM, Machlin L, Dalal N, Lee RE, McDowell I, Shah NN, et al. Epigenome editing of the CFTR-locus for treatment of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2022;21(1):164- 171.

<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.04.008>

14. Donnelley M, Cmielewski P, Knight E, Carpentieri C, McCarron A, Rout-Pitt N, et al. Repeat or single-dose lentiviral vector administration to mouse lungs? It's all about the timing. *Gene Ther*. 2023;30(9):698-705.

<https://doi.org/10.1038/s41434-023-00403-3>

15. Villate-Beitia I, Zarate J, Puras G, Pedraz JL. Gene delivery to the lungs: pulmonary gene therapy for cystic fibrosis. *Drug Dev Ind Pharm.* 2017;43(7):1071-1081. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017>

16. Alton EW, Boyd AC, Porteous DJ, Davies G, Davies JC, Griesenbach U, et al. Cystic Fibrosis Gene Therapy Consortium. A Phase I/IIa Safety and Efficacy Study of Nebulized Liposome-mediated Gene Therapy for Cystic Fibrosis Supports a Multidose Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;56(11):1389-92.

<https://doi.org/10.1164/rccm.201506-1193LE>

17. Choi SH, Engelhardt JF. Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Lessons Learned and Paths Forward. *Mol Ther.* 2021;29(2):428-430.

<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.01.010>

18. Deweerdt S. Developing gene therapy to treat cystic fibrosis: challenges and successes. *The Pharmaceutical Journal.* 2016;41(1):1-12.

<https://doi.org/10.1211/PJ.2016.20201275>.

19. Middleton PG, Mall MA, Drevinek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, et al. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor para fibrose cística com um único Phe508del Alelo. *N Engl J Med.* 2019;12(3):1809-1819.

20. Christopher Boyd A, Guo S, Huang L, Kerem B, Oren YS, Walker AJ, et al. Novas abordagens para terapias genéticas para fibrose cística. *J Cyst Fibros.* 2020;19(1):S54- S59.

631

21. Oliveira BA, França ES, Souza VG, Vallinoto ACR, Silva ANMR. Vetores virais para uso em terapia gênica. *Revista Pan-Amazônica de Saúde.* 2018;9(2):10-15.

<https://doi.org/10.5123/S2176-62232018000200008>

22. Nascimento BP, Carneiro JJDC, Domingos PRC. Vetores de adenovírus na terapia gênica: Uma revisão sobre sua aplicabilidade e perspectivas Adenovirus vectors in gene therapy: A review of its applicability and perspectives. *Brazilian Journal of Development.* 2021;7(12):114428-114428.

23. Catalan M. Fragmentação do direito e terapia gênica em embriões humanos: uma problemática civil do biodireito. *Revista Justiça do Direito.* 2022;36(2):30-68.

<https://doi.org/10.5335/rjd.v36i2.13398>

24. Salas SP. Edición genética humana: análisis de algunos desafíos éticos. *Revista Médica Clínica Las Condes.* 2022;33(2):140-147.

<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2022.03.004>

25. Bomtempo TV. Terapia Gênica e Doping Genético: Diálogos Bioéticos e Biojurídicos. *Revista Latinoamericana de Bioética.* 2019;19(36):77-92. <https://doi.org/10.18359/rlbi.3583>

26. Debczynski M, Mojsak D, Minarowski L, Maciejewska M, Lisowski P, Mróz, RM. Tecnologias de engenharia genômica para modelagem e tratamento da fibrose cística. *Adv Med Sci.* 2023;68(1):111-120.