



**UnB**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**JOÃO BATISTA DA SILVA JÚNIOR**

**PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA: PANORAMA ATUAL DE RISCOS E  
REGULAÇÃO DOS MEDICAMENTOS À BASE DE GENES E CÉLULAS**

TESE

BRASÍLIA  
2023

JOÃO BATISTA DA SILVA JÚNIOR

**PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA: PANORAMA ATUAL DE RISCOS E  
REGULAÇÃO DOS MEDICAMENTOS À BASE DE GENES E CÉLULAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade de Brasília (UnB), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Yris Maria Fonseca Bazzo

BRASÍLIA

2023

JOÃO BATISTA DA SILVA JÚNIOR

PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA: Panorama atual de Riscos e Regulação dos Medicamentos à base de Genes e Células

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

**Banca Examinadora**

---

Profa. Dra. YRIS MARIA FONSECA BAZZO (Presidente) – Universidade de Brasília (UnB)

---

Dra. ANDREA RENATA CORNELIO GEYER – Organização Mundial de Saúde (OMS)

---

Prof. Dr. FELIPE SALDANHA DE ARAÚJO – Universidade de Brasília (UnB)

---

Prof. Dr. GUILHERME BALDO – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

---

Profa. Dra. CAMILA ALVEZ AREDA – Universidade de Brasília (UnB)

*Aos meus pais, João Batista da Silva (in memorian) e Eva Maria de Souza Silva, pelo incentivo, inspiração e amor incondicional! Aos meus irmãos, Júlio e Deivid, pelo apoio na caminhada.*

*Lembro-me que aos 8 anos, em uma feira de ciências na escola, em que vestido com um jaleco branco, apresentei sobre os efeitos da arruda (*Ruta graveolens*) no combate ao piolho, e vocês, Pai e Mãe, estavam lá vibrando comigo. E assim foram todos os dias da minha vida, independente do caminho que tive a liberdade e o apoio em escolher.*

*Aos pequenos Miguel, Laura e a Pequetinha, que a ciência seja o alicerce no crescimento e evolução de vida.*

*Nossos caminhos não se cruzaram por acaso! Juntos, física e espiritualmente, sempre!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à força Divina que me conduz sempre!

A todos que amo e que compartilham comigo a vida, que habitam em mim e vivem nas minhas memórias e pensamentos, nas atribuições e nas alegrias, nos fracassos e nas vitórias... GRATIDÃO!!!

À minha família, que compreendeu a minha ausência e permaneceu me apoiando, incondicionalmente.

Uma gratidão especial, ao Mário, neste projeto, por não me deixar parado no comodismo das “certezas” me fazendo perseguir com disposição em dissecar o corpo complexo das “incertezas”.

Aos meus amigos e colegas da Anvisa e das vigilâncias sanitárias do Brasil com os quais a vida me deu o privilégio de compartilhar a luta por uma saúde coletiva de qualidade à todos!

A todos os especialistas nacionais e internacionais que tive contato neste Projeto, especialmente a equipe da GSTCO/Anvisa, obrigado pelas reflexões, ideias e discussões.

À orientadora Profa. Dra Yris Fonseca, pela gentileza, atenção, confiança no meu trabalho. Obrigado por me receber na UnB e me conduzir diante do desafio de discutir regulação, ciência e inovação.

Um reconhecimento especial à Maiza Gabriela pela colaboração e dedicação neste trabalho.

Gratidão sempre ao ensino público brasileiro, que por direito, proporcionou minha formação como cidadão.

Um agradecimento muito especial à Miguinha, que literalmente esteve todos os dias do meu lado neste Projeto, sua energia e presença me fortaleceram!

São tantos “Seres” que estiveram e estão comigo, e me fazem acreditar no mundo melhor que construo e desejo, sempre um sentimento enorme de GRATIDÃO.

*“Tente cercar-se de pessoas que sejam mais inteligentes e talentosas do que você”.*  
William Kaelin (Nobel de Medicina 2019)

“É a perspectiva da genética que nos ajuda a apreciar o que significa ser humano: significa ser mortal, ser imperfeito, ser falho. Também significa desejar ser melhor”

(Allen R. Dyer)

“Não importa o início ou o fim, o que vale é a travessia”

(Guimarães Rosa)

## RESUMO

*SILVA JÚNIOR, João Batista. **Produtos de Terapia Gênica: panorama atual de riscos e regulação dos medicamentos à base de genes e células.** Brasília, 2023. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2023.*

Os produtos de terapias avançadas, especialmente os produtos de terapia gênica, têm um enorme potencial terapêutico em respostas a doenças onde há necessidades clínicas não atendidas, com destaque para doenças raras e debilitantes. Fruto da evolução científica no campo da biotecnologia, estes medicamentos especiais e inovadores, a base de genes e células, tem revolucionado os processos de desenvolvimento farmacêutico e conseqüentemente o cuidado ao paciente, da mesma forma tem exigido inovações nas abordagens regulatórias. Esta Tese dedicou-se aos estudos dos produtos de terapia gênica aprovados para uso populacional no Brasil, nos Estados Unidos e na União Europeia, utilizando a abordagem de riscos, na perspectiva de melhor compreensão dos benefícios aos pacientes. Baseado nas práticas regulatórias aplicáveis e utilizando o conceitual de riscos sanitários a Tese explorou o modelo de regulação dos produtos de terapias avançadas no Brasil, discutindo com os modelos regulatórios internacionais e os desafios para a realidade brasileira. As características peculiares dos produtos de terapias avançadas exigem modelos regulatórios adaptados e por vezes inovadores. A capacidade de distinguir entre os produtos a base de sangue, células, tecidos e órgãos, no contexto da terapia convencional de transfusões e transplantes e os medicamentos de terapias avançadas é um desafio para a definição das estratégias regulatórias, considerando os aspectos de controle dos riscos para alcance dos melhores benefícios. Aplicar os requisitos gerais de regulação de medicamentos, em consonância com as principais autoridades sanitárias internacionais, e os elementos básicos da regulação de sangue, tecidos e células, permite avanços no gerenciamento de riscos e regras validadas para o desenvolvimento de produtos eficazes, seguros e de qualidade. No entanto, exigem adaptações inovadoras devido à sua natureza específica e o uso clínico preferencial em situações de grandes incertezas científicas, como em doenças raras e/ou sem alternativas terapêuticas. Os produtos de terapia gênica baseiam-se em diversas estratégias que variam desde a substituição ou a adição direta de genes em células, até a recente tecnologia de edição genômica. O desafio de conceituar e enquadrar estas tecnologias nos modelos regulatórios disponíveis passa pelo aprofundamento e conhecimento dos produtos em avaliação. Destaca-se a utilização de recursos biotecnológicos envolvidos no desenvolvimento farmacêutico na busca por novas terapias com intervenções e mecanismos de ação baseados em entrega de material genético. A inovação tecnológica e a necessidade de alternativas clínicas ampliam substancialmente a necessidade de

discussão de novas regras regulatórias para a efetiva avaliação dos riscos e benefícios. As discussões teóricas e conceituais sobre a terapia gênica se inserem como suporte para a compreensão dos riscos envolvidos e já identificados. Os riscos dos produtos de terapia gênica mapeados foram identificados durante as avaliações regulatórias no processo de aprovação de uso populacional no Brasil, nos Estados Unidos e na União Europeia, até o ano de 2022, categorizados com foco no paciente, tangenciando aos aspectos do desenvolvimento do produto e da tecnologia farmacêutica. O mapa de riscos significativos, sua compreensão e as propostas de mitigação tornam relevantes este estudo com potencial aplicabilidade orientativa aos programas de desenvolvimento e controles regulatórios, contribuindo para a tomada de decisão baseada em evidências. O procedimento de aprovação de produtos de terapia gênica ao uso populacional é complexo e envolve requisitos rigorosos de avaliação prévia e mecanismos de monitoramento de longo prazo posterior ao registro sanitário. O quantitativo de produtos de terapia gênica aprovados mundialmente ainda é pequeno. A perspectiva deste estudo demonstra que quanto maior for o número de novos produtos aprovados, maior será a experiência acumulada das autoridades regulatórias, pesquisadores e fabricantes, bem como profissionais da saúde e pacientes no manejo dos riscos e uso racional. Prospecta-se que um número crescente de produtos de terapia gênica seja desenvolvido e disponibilizado aos pacientes nos próximos anos. Esta Tese contribuiu para a compreensão dos riscos mapeados, de forma abrangente e integrada, como apoio ao desenvolvimento e regulação dos produtos de terapia gênica. A aprovação e o monitoramento regulatório, focados em abordagens de riscos e benefícios, por autoridade sanitária competente, é a primeira etapa para o acesso às novas tecnologias. Contribuir na disseminação dos conhecimentos dos riscos e propor alternativas de mitigações torna o estudo relevante e exitoso na discussão de modelos tecnológicos e regulatórios aplicados, principalmente em países de baixa e média renda, como o Brasil, que ainda carece de incentivos em ciência e tecnologia.

**Palavras-chave:** terapia gênica; terapia celular, riscos e benefícios; regulação, Brasil, produtos biológicos.

# ABSTRACT

*SILVA JÚNIOR, João Batista. **Gene Therapy Products: Current Overview of Risks and Regulation of Gene and Cell-Based Medicines.** Brasília, 2023. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2023.*

Advanced therapies medicinal products, particularly gene therapy products, there exists substantial therapeutic potential for addressing clinical needs that have hitherto remained unmet, with a particular emphasis on rare and debilitating diseases. Stemming from scientific advancements in biotechnology, these innovative and specialized medicines, founded upon genetic and cellular principles, have revolutionized pharmaceutical development processes and, consequently, patient care, much in the same way as regulatory approaches. This Tesis has been dedicated to the examination of approved gene therapy products for population-wide use in Brazil, the United States, and the European Union, employing a risk-based approach, with the aim of enhancing our comprehension of patient benefits.

Based on applicable regulatory practices and the utilization of the conceptual framework of health risks, this Tesis has explored the regulatory model for advanced therapy products in Brazil, engaging in a discourse with international regulatory models, and addressing the challenges specific to the Brazilian context. The distinctive characteristics of advanced therapy products necessitate tailored and, at times, innovative regulatory models. The capacity to distinguish between blood-, cell-, tissue-, and organ-based products, within the context of conventional transfusion and transplant therapy, and advanced therapy medicinal products, presents a challenge in defining a regulatory model that considers risk control aspects in order to achieve optimal benefits. Applying general drug regulation requirements, in alignment with major international health authorities, and fundamental elements of blood, tissue, and cell regulation, facilitates progress in risk management and the establishment of safe and validated product development standards. Nevertheless, innovative adaptations are required due to their specific nature and their preferential clinical use in situations characterized by significant scientific uncertainties, such as rare diseases and/or cases with no therapeutic alternatives.

Gene therapy products are rooted in diverse strategies, ranging from the direct replacement or addition of genes in cells to the recent genomic editing technology. The challenge of conceptualizing and framing these technologies within available regulatory models hinges on a deep understanding of the products. Noteworthy is the utilization of biotechnological resources in pharmaceutical development, in the pursuit of new therapies with interventions and mechanisms of action based on genetic material delivery. Technological innovation and the demand for clinical alternatives substantially expand the

need for discussions on new regulatory rules to effectively evaluate risks and benefits.

Theoretical and conceptual discussions on gene therapy products serve as a foundation for understanding the identified and previously recognized risks. Risk mapping of gene therapy products was undertaken during regulatory assessments in the process of population-wide approval in Brazil, the United States, and the European Union, up to the year 2022. Risks were categorized with a focus on patient aspects, tangential to product development and pharmaceutical technology considerations. The mapping of significant risks, their comprehension, and proposed mitigation strategies render this study relevant, with the potential for guiding development programs and regulatory controls, thereby contributing to evidence-based decision-making.

The approval process for gene therapy products for population-wide use is complex and involves stringent prerequisites for pre-market evaluation and long-term post-registration monitoring mechanisms. The number of globally approved gene therapy products remains relatively small. This study's perspective suggests that an increasing number of gene therapy products will be developed and made available to patients in the coming years. This Tesis has contributed to a comprehensive and integrated understanding of the mapped risks, serving as support for the development and regulation of gene therapy products. Regulatory approval and monitoring, focused on risk and benefit approaches, by competent health authorities, constitute the initial step toward accessing new technologies. Contributing to the dissemination of risk knowledge and proposing mitigation alternatives makes this study relevant and successful in the discussion of applied technological and regulatory models, especially in low- and middle-income countries, such as Brazil, which still lacks incentives in science and technology.

**Keywords:** gene therapy; cell therapy, risks and benefits; regulation, Brazil, biological products.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> . . . . .	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> . . . . .	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> . . . . .	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> . . . . .	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> . . . . .	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Introdução aos produtos biológicos</b> . . . . .	<b>4</b>
<b>3.2</b>	<b>Introdução aos Produtos de Terapias Avançadas</b> . . . . .	<b>6</b>
<b>3.3</b>	<b>Aspectos Regulatórios em Terapias Avançadas</b> . . . . .	<b>9</b>
<b>3.4</b>	<b>Abordagem de Riscos Sanitários em Terapias Avançadas</b> . . . . .	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>MÉTODOS</b> . . . . .	<b>15</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> . . . . .	<b>19</b>
<b>6</b>	<b>REGULAÇÃO DOS PRODUTOS DE TERAPIAS AVANÇADAS NO BRASIL</b>	<b>20</b>
<b>6.1</b>	<b>Introdução</b> . . . . .	<b>20</b>
<b>6.2</b>	<b>Objetivo</b> . . . . .	<b>22</b>
<b>6.3</b>	<b>Métodos</b> . . . . .	<b>22</b>
<b>6.4</b>	<b>Resultados</b> . . . . .	<b>23</b>
<b>6.4.1</b>	<b>Produtos de Terapia Convencional</b> . . . . .	<b>23</b>
<b>6.4.2</b>	<b>Regulando Sangue, Tecidos, Células, Órgãos no Brasil</b> . . . . .	<b>25</b>
<b>6.4.3</b>	<b>Produtos de Terapias Avançadas</b> . . . . .	<b>28</b>
<b>6.4.4</b>	<b>Regulando Terapias Avançadas no Brasil</b> . . . . .	<b>32</b>
<b>6.4.4.1</b>	<b>Aspectos dos Ensaio Clínicos</b> . . . . .	<b>34</b>
<b>6.4.4.2</b>	<b>Aspectos do Registro Sanitário</b> . . . . .	<b>40</b>
<b>6.4.4.3</b>	<b>Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF)</b> . . . . .	<b>45</b>
<b>6.4.4.4</b>	<b>Uso de Produto de Terapia Avançada não aprovado, em situação excepcional</b> . . . . .	<b>46</b>
<b>6.4.4.5</b>	<b>Aspectos gerais da Farmacovigilância</b> . . . . .	<b>48</b>
<b>6.5</b>	<b>Conclusão/Perspectivas</b> . . . . .	<b>49</b>
<b>7</b>	<b>TERAPIA GÊNICA: ELEMENTOS CONCEITUAIS E OS DESAFIOS PARA A GESTÃO DO RISCO</b> . . . . .	<b>50</b>
<b>7.1</b>	<b>Introdução</b> . . . . .	<b>50</b>
<b>7.2</b>	<b>Objetivo</b> . . . . .	<b>53</b>
<b>7.3</b>	<b>Métodos</b> . . . . .	<b>53</b>

<b>7.4</b>	<b>Resultados</b>	<b>54</b>
7.4.1	Conceitos Regulatórios em Terapia Gênica	54
7.4.2	Outros produtos à base de ácidos nucleicos	58
7.4.2.1	Vacinas contra agentes infecciosos	58
7.4.2.2	Produtos à base de vírus oncolíticos	59
7.4.2.3	Ácidos Nucleicos produzidos por via sintética	60
7.4.3	Terapia Gênica Germinativa	63
7.4.4	Vetores de transferência de genes	65
7.4.4.1	Vetores Virais	66
7.4.4.2	Vetores não virais	71
7.4.4.2.1	<i>Vetores de DNA</i>	71
7.4.4.2.2	<i>Vetores bacterianos modificados</i>	72
7.4.5	Terapia Gênica por Edição Genômica	74
7.4.5.1	Ferramentas de Edição do Genoma	78
7.4.5.2	Abordagem do Risco	80
7.4.5.3	Questões Éticas	82
7.4.5.4	Exemplos e Perspectivas	83
<b>7.5</b>	<b>Conclusão</b>	<b>85</b>
<b>8</b>	<b>MAPEAMENTO DOS RISCOS SANITÁRIOS DOS PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA</b>	<b>87</b>
8.1	Introdução	87
8.2	Objetivo	89
8.3	Métodos	90
8.4	Resultados e Discussões	93
8.4.1	Caracterização da amostra	93
8.4.2	Riscos Mapeados	99
8.4.2.1	Riscos Mapeados referente à Clínica	100
8.4.2.2	Riscos Mapeados referentes à Fabricação	110
8.4.2.3	Riscos Mapeados referentes ao Produto	122
8.5	Conclusão	146
<b>9</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL</b>	<b>149</b>
9.1	Limitações	155
<b>10</b>	<b>CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS</b>	<b>158</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>161</b>

<b>ANEXOS</b>	<b>197</b>
<b>PRODUÇÃO CIENTÍFICA</b> . . . . .	<b>198</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estratégias metodológicas aplicadas na pesquisa. Brasil, 2023. . . . .	16
Figura 2 – Esquema do processo de desenvolvimento de produtos de terapias avançadas e etapas regulatórias relacionadas. Brasil, 2023. . . . .	34
Figura 3 – Fluxo geral de submissão de dossiê documental para aprovação de ensaios clínicos de produtos de terapias avançadas na Anvisa. Brasil, 2023.	36
Figura 4 – Mapa dos riscos identificados nos produtos de terapia gênica avaliados. Brasil, 2023. . . . .	99

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição dos produtos de terapias avançadas aprovados para uso comercial, por países, até maio de 2023. . . . .	7
---	---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Processos regulatórios aplicados aos produtos de terapias convencionais. Brasil, 2023. . . . .	27
Tabela 2 – Conceitos regulatórios dos Produtos de Terapias Avançadas. Brasil, 2023	29
Tabela 3 – Principais conceitos de programas de acesso a produtos de terapias avançadas investigacionais. Brasil, 2023. . . . .	39
Tabela 4 – Principais documentos do dossiê documental para registro de produto de terapia avançada na Anvisa e exemplos de informações a serem discutidas. Brasil, 2023. . . . .	41
Tabela 5 – Tipos de registro sanitário de produto de terapia avançada na Anvisa. Brasil, 2023. . . . .	43
Tabela 6 – Conceitual de produto de terapia gênica definido pelas autoridades sanitárias competentes do Brasil (Anvisa), Estados Unidos (FDA) e União Europeia (EMA). Brasil, 2023. . . . .	56
Tabela 7 – Comparativo dos produtos terapêuticos a base de RNA, segundo vias regulatórias atuais. Brasil, 2023 . . . . .	63
Tabela 8 – Principais características dos vetores virais usados em produtos de terapia gênica. Brasil, 2023 . . . . .	69
Tabela 9 – Identificação e fonte dos documentos utilizados na pesquisa. Brasil, 2023.	90
Tabela 10 – Caracterização dos produtos de terapia gênica aprovados no Brasil, Estados Unidos e União Europeia até 2022. Brasil, 2023 . . . . .	95
Tabela 11 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados aos aspectos da condição clínica dos pacientes tratados com produtos de terapia gênica. Brasil, 2023 . . . . .	101
Tabela 12 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados ao processo fabril de produtos de terapia gênica. Brasil, 2023. . . . .	111
Tabela 13 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados aos produtos de terapia gênica. Brasil, 2023. . . . .	123

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AADC	Aromatic l-amino acid decarboxylase
AAV	Vírus adeno-associado
ADA	adenosina desaminase
AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
ALT	alanina aminotransferase
AME	Atrofia Muscular Espinhal
ANS	Agência Nacional de Saúde Suplementar
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
ARM	Alliance for Regenerative Medicine
ARSA	arylsulfatase A
ASO	Antisense Oligonucleotide (oligonucleotídeos antisense)
AST	aspartato aminotransferase
ATMP	Advanced Therapy Medicinal Products
ATS	Avaliação de Tecnologia de Saúde
Ad	Vírus adenovírus
BCMA	B-cell Maturation Antigen
BPC	Boas Práticas Clínicas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPL	Boas Práticas Laboratoriais
CAR-T	chimeric antigen receptor – T cells
CAT	Comitê de Terapias Avançadas
CBPF	Certificado do Boas Práticas de Fabricação
CD34	Cluster of Differentiation 34
CD4	cluster of Differentiation 4
CDC	Center for Disease Control

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CHC	Carcinoma hepatocelular (hepatocarcinoma)
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no SUS
COVID-19	Coronavírus
CPH	Célula Progenitora Hematopoética
CQA	Critical quality attributes
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespçadas)
CRS	Cytokine Release Syndrome
CTNBio	Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
CVC	Cateter Venoso Central
DDCTA	Dossiê de Desenvolvimento Clínico de Produtos de Terapias Avançadas Investigacionais
DMD	Distrofia Muscular de Duchenne
DNA	Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
DOR	Duration Of Response
DSB	double-strand break
DSCTA	Dossiê Simplificado para Ensaio Clínico com Produtos de Terapias Avançadas Investigacionais
EBV	Epstein-Barr Vírus
EMA	European Medicines Agency
EPAR	European Public Assessment Report
EU	Europe Union
EUA	United States of America
FDA	Food and Drug Administration
FVIII	Fator VIII da Coagulação

GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GSTCO	Gerência de Sangue, Tecidos, Células, Órgãos e Produtos de Terapias Avançadas
GvHD	Graft-versus-Host Disease
HBV	hepatitis B virus
HCV	hepatitis C virus
HDR	Homology-Directed Repair
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HSV	Herpes simplex vírus
HSV-TK Mut2	Herpes simplex I virus thymidine kinase
HTLV-1e 2	Human T-cell lymphotropic virus type 1 and 2
ICANS	Immune Effector Cell Associated Neurotoxicity
ICDRA	International Conference of Drug Regulatory Authorities
ICH	International Conference of Harmonisation
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
ITR	Inverted terminal repeats
IV	intravenosa
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
LDH	Lactato desidrogenase
LDM	leucodistrofia metacromática
LNGFR	low affinity nerve growth factor receptor
LTFU	Long Term Follow-Up
LTR	Long Terminal Repeat

LV	lentivírus
LoQ	Limit Of Quantification
MCB	Master Cell Bank
MLV	Murine Leukemia Virus
MOI	Multiplicity of Infection
MSCV	Murine Stem Cell Virus
MVGT	Microbial Vectors used for Gene Therapy
MoMLV	Moloney Murine Leukemia Virus
NASA	National Aeronautics and Space Administration
NAT	Nucleic Acid Amplification Test
NHEJ	Non-Homologous End Joining
NHP	Non-Human Primate
NIH	National Institutes of Health
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OECD	Organisation Economic Co-operation Development
OGM	Organismo Geneticamente Modificado
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
OR	Odds Ratio
OS	Overall Survival
OTC	ornitina transcarbamilase
PAHO	Pan American Health Organization
PET	Produto de Engenharia Tecidual
PFS	Progression-Free Survival
PGR	Plano de Gerenciamento de Risco
PIC/s	Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme

PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency
POP	Procedimento Operacional Padrão
PTA	Produto de Terapia Avançada
PTAC	Produto de Terapia Avançada Combinado
PTCA	Produto de Terapia Celular Avançada
PTG	Produto de Terapia Gênica
QRM	Quality Risk Management
RCL	Replication-competent Lentivirus
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENETA	Rede de Especialistas em Terapia Avançada
RMP	Risk Management Plan
RNA	Ribonucleic Acid
RNAi	RNA inibitório
RNAm	RNA mensageiro
S/MAR	Scaffold/Matrix Attachment Region
SB	Sleeping Beauty
SCID	severe combined immunodeficiency
SIN	self inactivation
SLC	Síndrome de Liberação de Citocinas
SLT	Síndrome de Lise Tumoral
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
TAL	Transcription Activator-Like
TALEN	Transcription Activator-Like Effector Nuclease
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEM	Transmission Electron Microscopy

TSE	Transmissible Spongiform Encephalopathy
UE	União Européia
UK	United Kingdom
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
USA	United States of America
USP	United States Pharmacopea
UnB	Universidade de Brasília
VCN	Vector Copy Number
VSV	Vesicular Stomatitis Virus
WCB	Working Cell Bank
WHO	World Health Organization
ZFN	Zinc-Finger Nuclease
cDNA	DNA complementar
gRNA	RNA guia
iPS	Induced Pluripotent Stem Cells
miRNA	microRNA
siRNA	small interfering RNA

# 1 INTRODUÇÃO

Os produtos de terapias avançadas (PTA) são medicamentos revolucionários e disruptivos quanto à pesquisa, ao desenvolvimento, à produção, ao monitoramento e ao uso em necessidades terapêuticas não atendidas. Da mesma maneira que demandam inovação tecnológica e científica, esses produtos requerem modelos regulatórios inovadores para as ações de avaliações de riscos e benefícios ao longo do seu ciclo de vida. O desenvolvimento de produtos terapêuticos constituídos por sequências de genes ou à base de células humanas, com ou sem seu material genético recombinado, bem como organizadas *in vitro* em tecidos ou órgãos para uso em humanos, promete revolucionar a terapêutica e o cuidado à saúde (WHO, 2018).

Internacionalmente, estes produtos denominam-se produtos ou medicamentos de terapias avançadas ou, em inglês, *Advanced Therapy Medicinal Products* (ATMP), e abarcam três categorias: os produtos de terapia celular avançada (PTCA), os produtos de terapia gênica (PTG) e os produtos de engenharia tecidual (PEC), podendo ser combinados com dispositivos médicos ou não (EUROPEAN UNION, 2007).

O surgimento dos PTAs na prática clínica tem trazido consigo benefícios potenciais e também riscos significativos para os pacientes (EUROPEAN UNION, 2007). Além disso, o contexto único de inovação em que esses produtos são desenvolvidos coloca as autoridades sanitárias competentes sob pressão para implementar mudanças regulatórias aplicáveis. As regulamentações convencionais para produtos do sangue, tecidos, células e órgãos em procedimentos de transfusão e transplantes, bem como as de medicamentos clássicos não são totalmente aplicáveis para lidar de forma eficaz com as características específicas dos produtos de terapias avançadas, o que interfere sobremaneira nas orientações e trajetórias de desenvolvimento desses produtos. Essencialmente, os sistemas regulatórios estão em vigor para garantir a prática da clínica baseada em evidências ao longo de todo o ciclo de vida de um produto terapêutico (EMA, 2013).

As discussões atuais sobre como otimizar o sistema regulatório de medicamentos inovadores frequentemente discute a necessidade de aplicar a “abordagem baseada em risco” (EMA, 2013). A abordagem baseada em risco fornece uma estrutura para avaliar e gerenciar os riscos associados a produtos inovadores, por exemplo, os produtos de terapias avançadas, de forma sistemática e eficaz. A regulação sanitária baseada numa abordagem de riscos reconhece que nem todos os riscos são iguais. Ademais visualiza que as estratégias de regulação devem ser direcionadas para as áreas de maior impacto, permitindo uma alocação mais eficiente de recursos e uma abordagem centrada nos pacientes (EMA, 2013).

No entanto, a aplicação prática da abordagem baseada em risco é um desafio para a integração da complexidade das ações de balanço entre os benefícios e os riscos de um

produto terapêutico a ser disponibilizado à saúde coletiva. A interpretação do que constitui um risco aceitável e a determinação das medidas adequadas de mitigação são cruciais para a compreensão do significado e do uso adequado dessa abordagem.

Os riscos sanitários identificados podem sinalizar e direcionar a comunidade científica ao desenvolvimento e aprimoramento das técnicas analíticas para a detecção dos fatores envolvidos preventivamente, bem como promover estratégias de mitigação. Além disso, a experiência adquirida do gerenciamento de riscos, disponível na literatura científica e regulatória, permite o foco nos esforços das pesquisas na busca por terapias mais seguras e eficazes. Neste mesmo cenário, a consolidação da compreensão de riscos sanitários promove mecanismos de controles específicos por parte do regulador baseado em evidências, desmistificando perigos inexistentes e intensificando esforços no gerenciamento de riscos reais.

Neste sentido, o desenvolvimento deste projeto junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Brasília (UnB), foi uma oportunidade estratégica para o aprofundamento no conhecimento sobre o desenvolvimento de medicamentos e a aplicabilidade aos produtos de terapias avançadas. A perspectiva foi compreender os riscos dos inovadores produtos terapêuticos à luz da experiência adquirida nas ciências farmacêuticas com medicamentos sintéticos, produtos naturais e moléculas biológicas. Além disso, a categorização dos produtos de terapias avançadas como produtos farmacêuticos torna-se relevante na indução e no impulsionamento de centros brasileiros de pesquisas científicas para o desenvolvimento nacional destes tipos de produtos, por exemplo, em situações clínicas sem alternativas terapêuticas ou para doenças raras.

O processo da pesquisa do risco inclui etapas nas quais a definição científica de segurança, eficácia e qualidade em saúde prevalece em detrimento de outros fatores, referentes às preocupações sociais, políticas e econômicas, baseadas em outras dimensões e racionalidades científicas. No caso de produtos de terapias avançadas, devido à inovação tecnológica, cientistas, reguladores e formuladores de políticas públicas, advogam o uso do princípio da precaução, argumentando que as tecnologias de manipulação genética e celular são novidades tecnológicas que podem incorrer em riscos e danos. Como consequência podem surgir propostas e mecanismos regulatórios proibitivos ou demasiadamente restritivos por envolver cenários de desconhecimento científico. Obviamente os estudos de risco precisam estar ligados ou subsidiados por questões de tolerância, em discussões decisórias de avaliações de riscos e benefícios. A dificuldade em lidar com as incertezas do conhecimento existente ou a impossibilidade de sua visualização sistemática impede a sociedade de participar do processo de compreensão e decisão relativos aos produtos e serviços em saúde ofertados (LUCCHESI, 2008).

## **2 OBJETIVOS**

A proposta desta pesquisa científica objetiva compreender sobre os produtos de terapia gênica, com foco nos aspectos dos riscos sanitários, em sua dimensão regulatória.

A integração progressiva da ciência farmacêutica e regulatória, estabelecendo novos padrões para o desenvolvimento de produtos de terapia gênica numa abordagem de riscos, deve garantir a consistência no desenvolvimento clínico e a reprodutibilidade do conhecimento. Este ponto é crucial e necessário não apenas para aumentar a geração de evidências em tema inovador, mas estabelecer e consolidar princípios científicos e regulatórios aplicados.

### **2.1 Objetivo Geral**

Mapear e investigar os riscos sanitários e os elementos de segurança dos produtos de terapia gênica na perspectiva regulatória.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Descrever o modelo regulatório proposto no Brasil para os produtos de terapias avançadas.

Descrever os elementos conceituais aplicados aos produtos de terapia gênica e seus determinantes regulatórios nacionais e internacionais.

Analisar os riscos sanitários e os elementos de segurança dos produtos de terapia gênica na perspectiva do gerenciamento de risco.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Introdução aos produtos biológicos

Há pouco mais de três décadas, os medicamentos biológicos, também chamados de produtos biológicos, eram predominantemente derivados da extração de tecidos de origem humana ou animal. Um exemplo notável foi o uso da insulina extraída de bovinos ou suínos no tratamento de pacientes diabéticos por várias décadas antes da introdução da insulina humana recombinante oriunda do avanço nas técnicas de engenharia genética (VITOLLO et al., 2015).

Os produtos biológicos abrangem uma ampla gama de substâncias usadas em terapêutica, incluindo vacinas, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos (DNA, RNA), células, tecidos e microorganismos. Esses produtos apresentam uma complexidade estrutural, tamanho, mecanismo de ação e sensibilidade a vias de degradação diversas, o que os distingue de seus equivalentes químicos (KATSILA; SISKOS; TAMVAKOPOULOS, 2011). A complexidade estrutural dos produtos biológicos resulta em uma série de desafios na fabricação e controle de qualidade. A variabilidade inerente a esses produtos exige a implementação de estratégias de fabricação cuidadosas, visando obter uma conformação adequada e funcional dos componentes biológicos. Além disso, a sensibilidade desses produtos a várias vias de degradação requer medidas específicas para protegê-los durante o processo de fabricação e armazenamento (THAKUR; BANSODE; RATHORE, 2022).

O uso de produtos biotecnológicos, como proteínas recombinantes, supera os desafios de obter quantidades suficientes de fontes naturais, bem como possíveis intolerâncias às proteínas animais. Além disso, as preocupações com contaminantes, como a encefalopatia espongiforme bovina, conhecida como doença da vaca louca, aumentaram a demanda por produtos recombinantes. Outro exemplo importante de produtos biotecnológicos são os anticorpos monoclonais (VITOLLO et al., 2015).

No contexto dos medicamentos biológicos, a qualidade é definida pelo processo de fabricação (PLAS et al., 2020). Isso se deve ao fato de que estes produtos são produzidos por meio de técnicas avançadas, como a engenharia genética e a cultura de células, que envolvem etapas diversificadas e únicas de produção, purificação e controle de qualidade. Esses processos visam garantir a integridade e a consistência dos produtos biológicos, bem como a segurança e a eficácia no uso terapêutico. Qualquer alteração no processo de fabricação pode afetar a estrutura e a funcionalidade dos produtos biológicos e os seus subprodutos, o que pode comprometer sua eficácia terapêutica e até mesmo causar efeitos adversos nos pacientes (PLAS et al., 2020). Além disso, durante o processo de fabricação

desses medicamentos, são empregados métodos analíticos especiais, com variabilidade intrínseca, para avaliar qualidade, estabilidade, potência e funcionalidade da substância ativa.

Um aspecto relevante é que muitos dos produtos biológicos possuem propriedades imunogênicas (SHANKAR; PENDLEY; STEIN, 2007). O termo “imunogenicidade” descreve a capacidade de uma molécula desencadear uma resposta imune ao entrar em contato com as células do sistema imunológico do paciente em tratamento. Se essa resposta imune for inespecífica, inúmeras citocinas e quimiocinas podem ser secretadas por células ativadas, resultando em reações inflamatórias indesejáveis. Portanto, é essencial minimizar e abordar adequadamente o risco de reações adversas imunogênicas, adotando uma abordagem baseada em avaliação de riscos. Nesse contexto, é necessário desenvolver, validar e padronizar testagens e ensaios apropriados para identificar e avaliar a imunogenicidade do produto (PLAS et al., 2020). Essas abordagens podem incluir testes de ligação de anticorpos, ensaios funcionais, estudos de neutralização e análise de citocinas e marcadores inflamatórios. Além disso, é importante considerar fatores individuais, como a variabilidade genética dos pacientes, que podem influenciar a resposta imune aos produtos biológicos (PLAS et al., 2020).

Outro grupo de produtos biológicos são as células e os tecidos humanos, incluindo sangue e componentes, destinados a procedimentos terapêuticos, por exemplo, transplantes e transfusões. A Organização Mundial de Saúde (OMS) e autoridades reguladoras dos Estados Unidos e Europa apresentam requisitos normativos específicos para estes tipos de produtos biológicos com foco na definição de padrões de qualidade e segurança para coleta, testagem, processamento, armazenamento, distribuição e rastreabilidade de sangue e componentes, células e tecidos humanos para uso terapêutico (EUROPEAN UNION, 2003), (EUROPEAN UNION, 2004), (WHO, 2006), (WHO, 2011), (WHO, 2013), (FDA, 2023), (FDA, 2023b). Essa estratégia de desenvolvimento de normativas específicas visa estabelecer uma modelagem regulatória adaptada aos requisitos de qualidade, segurança e eficácia. No Brasil, a Anvisa, seguindo modelo

internacional, estabeleceu que medicamentos biológicos são passíveis de registro sanitário como qualquer outro tipo de medicamento, por exemplo, os medicamentos hemoderivados, e que os produtos biológicos do sangue, tecidos, células e órgãos, destinados a transplantes e a transfusão, por exemplos os hemocomponentes, não são passíveis de registro sanitário e comercialização no Brasil, devendo seguir normas específicas de Boas Práticas aplicáveis e obter licenciamento sanitário para o exercício de suas atividades de produção e assistência ao paciente (ANVISA, 2014; ANVISA, 2021; ANVISA, 2022).

O uso dos produtos biológicos em medicina trouxe avanços significativos no tratamento de doenças graves e crônicas, proporcionando opções terapêuticas mais eficazes e suprimindo lacunas em necessidades médicas não atendidas. Com o contínuo

progresso da biotecnologia surgem novas e promissoras terapias biológicas. Neste contexto a análise da experiência de gerenciamento dos riscos e benefícios dos produtos biológicos convencionais podem contribuir substancialmente como ponto de partida para a compreensão dos riscos dos novos produtos biotecnológicos em ascensão (ADAMI et al., 2019).

## 3.2 Introdução aos Produtos de Terapias Avançadas

Os avanços recentes em ciência e tecnologia levaram ao surgimento de produtos terapêuticos compostos por genes ou células, manipulados substancialmente em laboratório ou com incremento inovador em suas funções biológicas (SCHNEIDER et al., 2010). Embora esses produtos também possam ser incluídos na categoria de “medicamentos ou produtos biológicos”, eles possuem características distintas e únicas que justificam sua classificação como um tipo especial de medicamento. Esses produtos especializados são denominados produtos de terapias avançadas (do inglês, *advanced therapy medicinal products*) (SILVA JUNIOR et al., 2021).

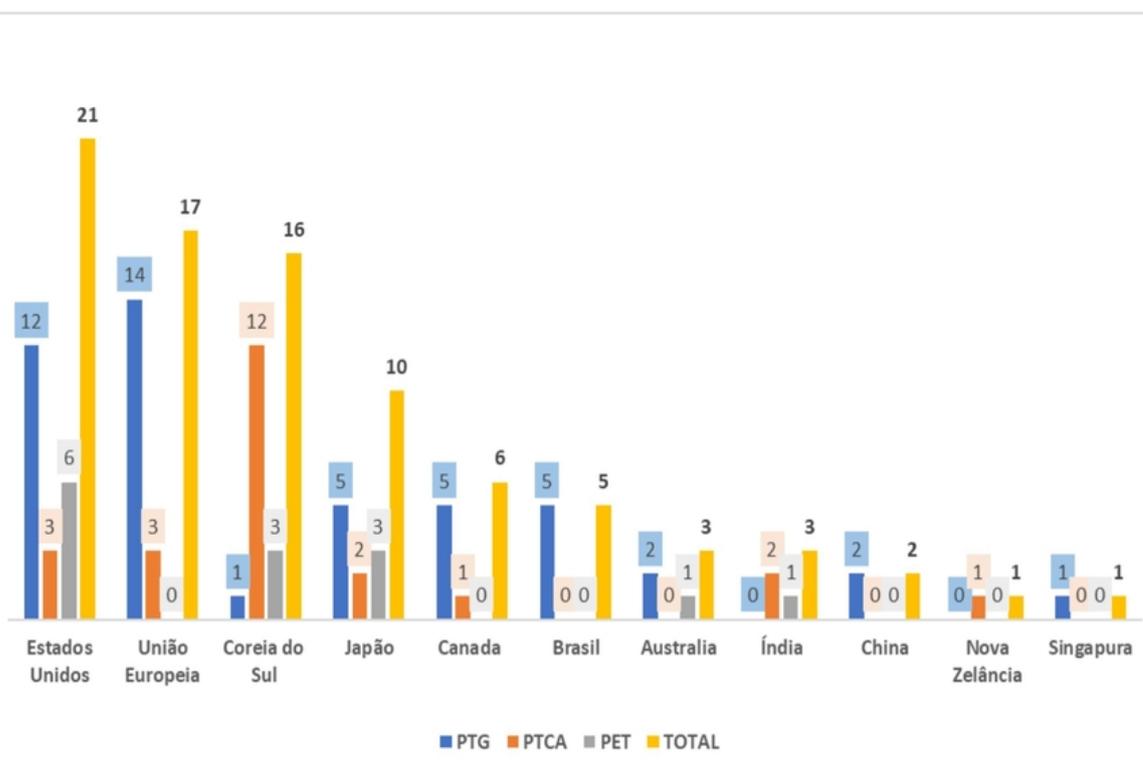
Essa nova classe de produtos farmacêuticos originados de células e sequências de ácidos nucleicos vem sendo considerada, em âmbito mundial, como o novo arsenal terapêutico para diversas condições patológicas ou clínicas antes sem alternativas. Os referidos produtos inovadores constituem-se de matrizes biológicas e processos de desenvolvimento e produção altamente complexos exigindo requisitos técnicos e regulatórios específicos e harmonizados internacionalmente (ANCANS, 2012). Esta classe terapêutica promete revolucionar a medicina e o mercado farmacêutico mundial perfazendo um novo cenário tecnológico, que depende, dentre outros, de desenvolvimento de inteligência regulatória capaz de dispor de capacidades, ferramentas e conhecimentos científicos aplicados (EUROPEAN UNION, 2007).

Segundo a *Alliance for Regenerative Medicine* (ARM) foram aprovados 55 PTAs em todo o mundo, de acordo com pesquisa realizada em portal eletrônico da entidade, em maio de 2023 (ARM, 2023a). A ARM é um grupo organizado de empresas, instituições acadêmicas, investidores e outros interessados no campo da medicina regenerativa. O site da ARM (<https://alliancerm.org/>) serve como uma plataforma de informações atualizadas sobre as mais recentes pesquisas, avanços e iniciativas em medicina regenerativa. Em que pese os vieses de informação devido às diferenças de classificações entre os PTAs descritos e a falta de atualização oportuna dos dados de todos os países, o referido relatório descreve aprovações de PTAs que incluem terapias celulares avançadas, autólogas e alogênicas; terapias gênicas com base em células modificadas geneticamente *ex vivo*, terapias gênicas *in vivo* utilizando vírus adeno-associados (AAV), vetores lentivirais, vírus oncolíticos e produtos de engenharia de tecidos. Grande parte dos produtos foram aprovados para o

tratamento de doenças raras ou doenças sem alternativas de tratamento, principalmente referentes aos produtos de terapia gênica.

No **Gráfico 1** demonstra-se a distribuição dos PTAs aprovados pelas autoridades sanitárias competentes em diversos países. Ressalta-se que os mesmos produtos podem ser registrados em vários países.

Gráfico 1 – Distribuição dos produtos de terapias avançadas aprovados para uso comercial, por países, até maio de 2023.



ARM (2023)

Relatórios internacionais oficiais apontam alta atividade mundial no desenvolvimento dos PTAs que contrasta com um número limitado de produtos terapêuticos atualmente disponível no mercado. Segundo Pearce et al. (PEARCE et al., 2013) a literatura disponível sobre os PTAs e seus desafios de desenvolvimento descrevem principalmente problemas específicos em contextos acadêmicos, hospitalares e de pequenas indústrias (MACIULAITIS et al., 2012), (HANNA et al., 2016). As dificuldades descritas envolvem processos de fabricação complexos, dificuldades na implantação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), especificamente para produtos à base de células e com genes recombinados (VIGANÒ; GIORDANO; LAZZARI, 2017; WILDE et al., 2016a), projetos

complexos de ensaios pré-clínicos e clínicos (WILDE et al., 2016a; GALLI, 2016) e procedimentos produtivos desarmonizados (PIGNATTI et al., 2003), além de problemas na lucratividade (WILDE et al., 2016b).

Segundo informações do último relatório trimestral da ARM (ARM, 2023b), publicado em abril de 2023, observa-se um desenvolvimento clínico de PTA bem significativo, com mais de 2000 ensaios clínicos regulados em todo o mundo, com mais da metade dos ensaios com produtos de terapia gênica. Há uma participação significativa de desenvolvedores não industriais, ou seja, patrocinadores acadêmicos e governamentais, bem como de hospitais, centros médicos e outras instalações financiadas por organizações sem fins lucrativos, fundações e outros. Dos estudos com produtos de terapia gênica, 48% refere-se ao uso de vetores lentivirais, 26% com vetores adenoassociados, 14% outros vetores retrovirais, 5% de vetores não virais, 4% com vetores adenovirais e 3% de outros tipos de vetores de transferência de genes (ARM, 2023b).

A legislação europeia (EUROPEAN UNION, 2007) criou o Comitê de Terapias Avançadas (CAT), no âmbito da Agência Europeia de Medicamentos (EMA), para avaliar a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos de terapia avançada, sendo uma das funções do Comitê a colaboração aos desenvolvedores na classificação dos produtos quanto ao caminho regulatório a serem seguidos. Analisando os resultados do processo de classificação de produtos submetidos à CAT da EMA (EMA, 2023), de 2019 a 2022, observa-se que 221 solicitações de enquadramento de produto foram designadas como PTAs. Destes 113 foram designados como Produtos de Terapia Celular Avançada, 69 como Produtos de Terapia Gênica e 39 como Produtos de Engenharia Tecidual, com alguns também classificados como “Produtos de PTA Combinados” (PTA + dispositivos médicos). Esses dados sugerem que 61% dos PTA que estão em desenvolvimento na Europa são produtos de terapia gênica. No Brasil foram autorizados, deste 2018, cerca de 35 ensaios clínicos com PTAs. Destes 63% (22) são produtos de terapia gênica, sendo 5 do tipo *ex vivo* e 17 *in vivo* (ANVISA, 2023a).

A fabricação complexa e a dificuldade na aplicação dos elementos de controle de qualidade típicos da produção farmacêutica aos PTAs são frequentemente mencionadas na literatura (WILLIAMS et al., 2012; AU et al., 2012; CODINACH et al., 2016). Devido aos riscos potenciais envolvidos no desenvolvimento, na obtenção e na produção dos PTAs, há necessidade de comprovação de que a manipulação substancial do material biológico não interfere na viabilidade celular e não gera sítios de instabilidade cromossômica (AU et al., 2012). Alguns dos desafios da qualidade dos PTAs residem na variabilidade e na complexidade inerentes aos componentes utilizados para gerar o produto final, tais como a fonte variável de células, o potencial de contaminação por agentes infecciosos provenientes do doador e da fabricação/manipulação/processamento, a produção com o uso de soluções, meios e suplementos, eventual processamento em ambientes não adequados, a incapacidade em esterilizar o produto final, dentre outros. Controles de processos de

produção inadequados podem resultar na introdução de agentes contaminantes, em alterações desconhecidas nas propriedades biológicas ou em instabilidade do produto que pode ser indetectável nos ensaios de aprovação final (BIEBACK et al., 2009).

A Organização Mundial de Saúde afirma que a implantação de Boas Práticas de Fabricação se destina a diminuir os riscos potenciais inerentes à produção farmacêutica, segundo padrões previamente estabelecidos, minimizando a ocorrência de contaminação exógena do produto e garantindo a qualidade e a segurança (WHO, 2014). Ao identificar as medidas de controle mais apropriadas em cada caso, o desenvolvedor deveria considerar todos os riscos potenciais relacionados ao produto, ao processo de fabricação e ao uso clínico, com base nas informações disponíveis (SILVA JUNIOR; TAKAO; PARCA, 2018).

Pesquisadores, fabricantes e reguladores despendem esforços, colaborativamente, para estabelecer regras e instrumentos de controle aplicados aos produtos de terapias avançadas, enquanto a comunidade científica empenha-se em desenvolver ferramentas para estudos em modelos *in vitro* e *in vivo* a fim de promover a superação das barreiras de desenvolvimento e subsidiar a instrumentalização de inteligência regulatória para tomada de decisões baseadas em avaliações de risco (HANNA et al., 2016), (SILVA JUNIOR; TAKAO; PARCA, 2018).

### 3.3 Aspectos Regulatórios em Terapias Avançadas

Novas tecnologias emergentes estão evoluindo rapidamente e representam uma grande oportunidade para o desenvolvimento de medicamentos e outras alternativas terapêuticas. A crescente globalização do desenvolvimento dos produtos de terapias avançadas tem alterado consideravelmente as fontes e as naturezas dos riscos para a saúde pública em cenários de pesquisas promissoras, principalmente fora do eixo dos países centrais de desenvolvimento farmacêutico (BELOV et al., 2021).

A possibilidade de fabricação descentralizada e de desenvolvimento em empresas de menor porte, com relativa capacidade para fornecer acesso a produtos inovadores, exige fortalecimento das redes regulatórias nacionais e internacionais, devido ao potencial de riscos em escalas globais. Somados a isto, cada vez mais pacientes buscam acesso à qualidade de vida por meio de produtos terapêuticos emergentes, muitas vezes ainda em fase de investigação, demandando informações confiáveis e compreensíveis dos desenvolvedores e das autoridades sanitárias competentes (HARRISON et al., 2017).

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2010), em publicação sobre riscos e política regulatória, apresenta a estratégia da abordagem baseada em risco como o instrumental para o desenvolvimento de estruturas de tomada de decisão, priorização de ações regulatórias e alocação de recursos, principalmente relacionados à

inspeção e a avaliação de aprovação de produtos.

Stirling (STIRLING, 2010) discute que a ausência das evidências de dano não é o mesmo que evidências de ausência de dano. Este trecho ressalta a importância de reconhecer que a falta de evidências de danos causados por determinados fenômenos não significa necessariamente que não existam riscos associados a eles. É fundamental compreender que a falta de evidências não é uma garantia de ausência de risco ou dano potencial. No campo científico, é crucial adotar uma abordagem cautelosa e buscar evidências sólidas para avaliar os possíveis efeitos adversos ou impactos negativos de determinadas situações, produtos ou intervenções em saúde.

As estratégias de pesquisa e desenvolvimento com a identificação de novas substâncias ou a modificação de moléculas com potencial terapêutico é a base para o desenvolvimento de medicamentos tradicionais. Seguindo uma ordem linear, por exemplo, o desenvolvimento de novos medicamentos inicia-se com a obtenção de provas de conceito em pesquisas pré-clínicas, seguido pelos testes em humanos em ensaios clínicos randomizados e outros estudos intervencionais sob um processo com requisitos rigorosos e fortemente regulados (KIRIIRI; NJOGU; MWANGI, 2020). Destacam-se os requisitos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) que visam um produto consistente e com qualidade assegurada e as Boas Práticas Clínicas (BPC) que objetivam à coleta de dados clínicos de alta confiabilidade. Todos os elementos obtidos suportam a comprovação, ou deveriam suportar, da eficácia, da segurança e da qualidade numa tomada de decisões com base no equilíbrio entre benefícios e riscos, considerando por vezes, o acompanhamento limitado durante a fase pós-comercialização (KIRIIRI; NJOGU; MWANGI, 2020).

O dilema regulatório que se instala no caso de produtos inovadores desenvolvidos para atender doenças raras ou para condições graves sem alternativas terapêuticas é utilizar os processos padronizados para aprovação de medicamentos com caminhos longos, porém já experimentados historicamente ou elaborar caminhos regulatórios alternativos que garantam eficácia, segurança e qualidade, e ainda dar suporte técnico e regulatório para a inovação. A complexidade do dilema é ainda maior ao se considerar as características personalizadas dos produtos de terapias avançadas, que na sua maioria, vem sendo desenvolvidos em pequenas populações de pacientes (KEMPF; GOLDSMITH; TEMPLE, 2017).

Observa-se que a maioria dos países tem-se aplicado aos PTAs os mesmos requisitos regulatórios de medicamentos com elaboração de novas regulamentações e diretrizes técnicas específicas, aglutinando também elementos da regulação de sangue, tecidos e células para fins terapêuticos e determinados critérios de produtos para saúde, considerando, neste último caso, os produtos de terapias avançadas combinados e a engenharia de tecidos e órgãos que se utilizam de matrizes e polímeros biocompatíveis, bem como equipamentos dedicados (DRAGO et al., 2021) (GOMES et al., 2022).

Nesta arena é importante colocar a pressão exercida pelos desenvolvedores e

pacientes por acesso antecipado ao produto, com situações ainda em incertezas científicas e, conseqüente, ampliação dos riscos, que pode interferir negativamente na segurança do paciente e no sucesso do desenvolvimento do produto. A questão é ponderar o equilíbrio entre a missão do regulador que visa aplicar medidas de controle para proteger a saúde pública e garantir a segurança dos pacientes por meio de dados confirmatórios de benefício/risco e os interesses por tratamentos inovadores oportunamente, bem como os interesses dos pesquisadores, desenvolvedores e indústrias na implementação de inovação em processos regulados (CARVALHO; SEPODES; MARTINS, 2021).

As principais autoridades regulatórias ao redor do mundo tem implementado vias regulatórias otimizadas e aceleradas, incluindo procedimentos regulatórios abreviados para submissão e aprovação do registro sanitário, procedimentos para maior interação entre reguladores, pesquisadores e empresas desenvolvedoras; utilização de vias adaptativas, como a avaliação de desfechos substitutos no desenho de ensaios clínicos e registros condicionados em evidências que necessitam ser confirmadas a longo prazo durante a fase pós-comercialização (DETELA; LODGE, 2019; DASGUPTA et al., 2021; GOMES et al., 2022).

A saúde dos cidadãos depende do acesso a produtos e serviços que cumpram critérios de qualidade, segurança, eficácia. Uma das recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) no *18th International Conference of Drug Regulatory Authorities* (ICDRA), em setembro de 2018, foi a necessidade de harmonização mundial de conceitos e padrões de segurança e qualidade para os PTA (WHO, 2018). O desafio para os reguladores, neste caso, é desenvolver marcos regulatórios que promovam a confiança pública, aumente a transparência e a previsibilidade dos requisitos regulatórios, reduzam encargos e custos desnecessários e se utilizem de ferramentas avaliativas que permitam o controle e o desenvolvimento da inovação, garantindo essencialmente o acesso a produtos eficazes, seguros e de qualidade (NASEM, 2017).

Avanços tecnológicos impõem vigilância crescente na proporcionalidade de suas complexidades e riscos. O processo regulatório de produtos e serviços apresenta as incertezas em relação à avaliação de riscos, que se configura de maneira complexa no âmbito da percepção relacionados à informação, à incerteza ou à falta de conhecimento (LUCCHESI, 2008).

Neste sentido, torna-se fundamental o avanço das ciências farmacêuticas no campo regulatório para desenvolver requisitos de qualidade modernos e adaptáveis aos novos produtos biotecnológicos. A problemática se instala à medida da escassez de estudos e modelos teóricos que discutem alternativas regulatórias para a avaliação do ciclo de vida de tecnologias em saúde das mais diversas naturezas. As medidas de solução seriam desenvolver estratégias baseadas em abordagens de riscos inseridos na missão primordial da vigilância sanitária brasileira: a proteção da saúde (LUCCHESI, 2008).

### 3.4 Abordagem de Riscos Sanitários em Terapias Avançadas

Em nossa opinião, a implementação de um sistema regulatório para produtos de terapias avançadas, particularmente produtos de terapia gênica, deve basear-se na compreensão dos riscos reais e potenciais num espaço de avaliações sistemáticas dos benefícios ao paciente. É natural que haja preocupação e interesses em estudos dos riscos relacionados aos produtos de terapia gênica visto que se trata de tecnologias inovadoras com externalidades negativas potencialmente relevantes e assimetrias de informação. Parte-se do pressuposto que para os produtos de terapias avançadas são esperados um potencial de risco mais elevado do que para outros produtos terapêuticos.

Há desafios significativos no processo de desenvolvimento de produtos de terapias avançadas e principalmente de produtos de terapia gênica. Neste sentido ressaltam-se as incertezas de segurança clínica que compromete o controle dos processos de comprovação dos benefícios frente aos riscos inerentes, passando pela fabricação em larga escala que atendam aos requisitos de qualidade e por fim, os importantes desafios nos cuidados aos pacientes, que envolvem mecanismos de monitoramento e tratamento de inúmeros dados de vida real. Ademais, a biotecnologia aplicada vem avançando sobremaneira com tecnologias completamente revolucionárias e repletas de incertezas (VITOLLO et al., 2015).

Utilizando os estudos de Ortwin Renn (RENN, 2004; RENN et al., 2020), compreende-se que a visão geral das perspectivas de risco é um conceito que se refere às diferentes maneiras pelas quais os indivíduos e as organizações percebem e gerenciam os riscos. Reconhece-se que o risco é um fenômeno complexo e multifacetado observável a partir de diferentes ângulos, dependendo do contexto, dos valores e das crenças dos envolvidos (BECK, 2011). Dentre as perspectivas de risco comumente utilizadas, o autor aponta (RENN, 2004): a) perspectiva técnica, que se concentra nos aspectos científicos e técnicos do risco, como a probabilidade de ocorrência de um evento e a magnitude de suas consequências, frequentemente utilizada em campos como engenharia, segurança e saúde; b) perspectiva econômica, que considera os custos financeiros e os benefícios de diferentes estratégias, utilizada na tomada de decisões empresariais, de investimentos econômicos e de governos; c) perspectiva social que considera os fatores sociais e culturais que influenciam a percepção e o gerenciamento de riscos. Reconhece-se que diferentes grupos podem ter valores e crenças diferentes em relação ao risco, e que isso pode afetar como os riscos são percebidos e gerenciados. Renn também discute sobre a d) Perspectiva política do risco, que considera o papel do governo e de outros envolvidos no gerenciamento de riscos. Reconhece-se que as decisões de gerenciamento de riscos são frequentemente influenciadas por fatores políticos e institucionais, como regulamentações, leis e opinião pública. E por fim, elenca a e) perspectiva psicológica que se concentra nos fatores cognitivos e emocionais influenciada pela percepção de risco e a tomada de

decisões. Os indivíduos podem ter vieses e heurísticas que afetam como eles percebem e respondem aos riscos (RENN, 2004; RENN et al., 2020).

Importante destacar que o processo de percepção e a avaliação dos riscos relaciona-se à informação disponível, ao grau de incerteza e ao conhecimento sobre determinadas variáveis e fatores que compõe as análises e os julgamentos de riscos, de caráter essencialmente científico, que se utiliza de metodologias diversas no processo de identificação, análise, caracterização e mensuração (AVEN, 2017).

As ações da regulação sanitária centram-se essencial e estruturalmente em torno do gerenciamento de riscos de produtos e serviços relacionados à saúde. A Lei 8080, de 19 de setembro de 1990 (BRASIL, 1990), define vigilância sanitária como um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde. Neste sentido, utilizando uma abordagem proativa no campo da prevenção, o risco é um conceito central e determinante na área de regulação e vigilância sanitária que têm por finalidade a proteção da saúde. O próprio conceito jurídico e os modos de ação e práticas da vigilância sanitária referem-se à gestão do risco.

É fundamental adotar uma abordagem holística do risco (BENNEKOU, 2019), baseada em evidências científicas, considerando os princípios da precaução, proporcionalidade e transparência, para a tomada de decisões regulatórias. No atual ambiente de mudanças, pesquisadores e indústrias biotecnológicas tem pela frente grandes desafios para desenvolver produtos de terapia gênica inovadores seguros e eficazes num cenário que exige contínuo monitoramento do mercado através de uma abordagem proativa de gestão dos riscos (HAMPSON et al., 2017). Da mesma forma, para promover um ambiente regulatório salutar, com base jurídica e técnica robusta, é imprescindível a abordagem do risco que permita instrumentalizar os atores envolvidos com mecanismos de controle transparentes e harmonizados (DEIDDA et al., 2018).

O conhecimento prévio dos riscos já mapeados e experimentados, com os produtos de terapia gênica aprovados para uso populacional, permite compreender as alternativas para mitigação, manejo e gerenciamento de outros produtos ou tecnologias por similaridades, principalmente em processos inovadores, prevendo ações que promovam o controle de riscos potenciais. A disseminação do conhecimento científico, a transparência na divulgação dos resultados de decisões regulatórias e a troca de saberes entre cientistas, reguladores e desenvolvedores tem sido utilizado como elementos importantes no cenário inovador envolvido nos produtos de terapias avançadas (DRAGO et al., 2021).

O mapa situacional do gerenciamento de riscos de tecnologias avançadas, como as envolvidas nos produtos de terapia gênica, é ainda mais crítico e frágil em países em desenvolvimento, principalmente no cenário precário de utilização do conhecimento e ações baseadas em evidências (ASGCT, 2022). Neste contexto, as pesquisas nacionais não conseguem produzir conhecimento aplicado que possam beneficiar a população devido

à falta de compreensão dos desenvolvedores sobre os modelos regulatórios e, automaticamente, assim, perdem incentivos sociais e financeiros. Já as empresas e as indústrias nacionais não promovem a inovação e ficam sucateadas no subdesenvolvimento tecnológico dependente. Por consequência, as autoridades reguladoras perdem sua importância social no estabelecimento de mecanismos de proteção à saúde da população tornando-se agentes cartoriais dependentes da decisão de outros países para a aprovação de produtos inovadores (JALALI et al., 2022).

O desenvolvimento de produtos de terapias avançadas, principalmente terapia gênica, em países periféricos parece distante da realidade frente a escassez de avanço tecnológico científico e industrial local, à frágil capacidade regulatória e à falta ou ineficácia de políticas públicas de incentivo à pesquisa. O referido cenário permite a experimentação descontrolada de novos produtos sem cumprir requisitos mínimos de qualidade e de boas práticas clínicas, colocando em risco a saúde pública e impedindo o acesso a produtos seguros e eficazes (WORLD ECONOMIC FORUM, 2022). Neste mesmo contexto, é possível que tecnologias aprovadas em países mais desenvolvidos, como os Estados Unidos e a Europa, sejam introduzidas sem o devido conhecimento nacional dos riscos associados a esses produtos. Isso comprometeria o monitoramento do produto e consequentemente a proteção da saúde da população. Ademais, isso pode significar a perda de um potencial papel regulatório estratégico no desenvolvimento do país (LUCCHESI, 2008).

## 4 MÉTODOS

Esta pesquisa foi idealizada para explorar e analisar os riscos sanitários envolvidos nos produtos de terapia gênica a partir do conhecimento científico e regulatório. Não foi abordado outros tipos de riscos envolvidos nessa área específica. A tese concentrou-se em investigar e analisar os aspectos técnicos e regulatórios relacionados aos produtos de terapia gênica, que compõe os produtos de terapias avançadas, considerados medicamentos especiais. Os riscos técnicos identificados em terapia gênica representam desafios e incertezas que permitem subsidiar o desenvolvimento, a prática clínica e principalmente aprimorar os requisitos regulatórios de segurança, eficácia e qualidade.

É importante ressaltar que a terapia gênica envolve outros tipos de riscos além dos riscos técnicos. Esses riscos podem abranger aspectos relevantes como riscos econômicos, riscos sociais relacionados à percepção pública, incluído a ética, riscos ao meio ambiente, riscos de bioterrorismo, dentre outros. É fundamental que haja mais pesquisas específicas e contínuas que investiguem todos os aspectos relacionados à terapia gênica. Essa abordagem multidisciplinar ajudará a promover uma compreensão mais completa dos benefícios, desafios e implicações associados à estes produtos biotecnológicos avançados, em desenvolvimento no Brasil e já introduzidos no arsenal terapêutico da população brasileira.

Questões importantes e atuais sobre os produtos de terapias avançadas surgiram da reflexão e experiências prévias no campo regulatório que abarcaram relações com pesquisadores, acadêmicos, representantes de indústrias farmacêuticas e biotecnológicas e outros atores regulatórios nacionais e internacionais. Considerando os produtos de terapias avançadas, passíveis de vigilância sanitária devido as evidentes assimetrias de informações e externalidades negativas envolvidas, que podem ser entendidas nesta Tese como riscos sanitários, surgiram as principais questões de pesquisa desenvolvidas ao longo deste estudo, a citar:

a) Qual o conceitual dos produtos de terapias avançadas, particularmente os produtos de terapia gênica, e seu enquadramento regulatório no Brasil e no mundo?

b) Quais os riscos sanitários já conhecidos sobre os produtos de terapia gênica que poderiam nortear as pesquisas, o desenvolvimento e as ações regulatórias para promover processos avaliativos de benefícios e riscos de produtos inovadores?

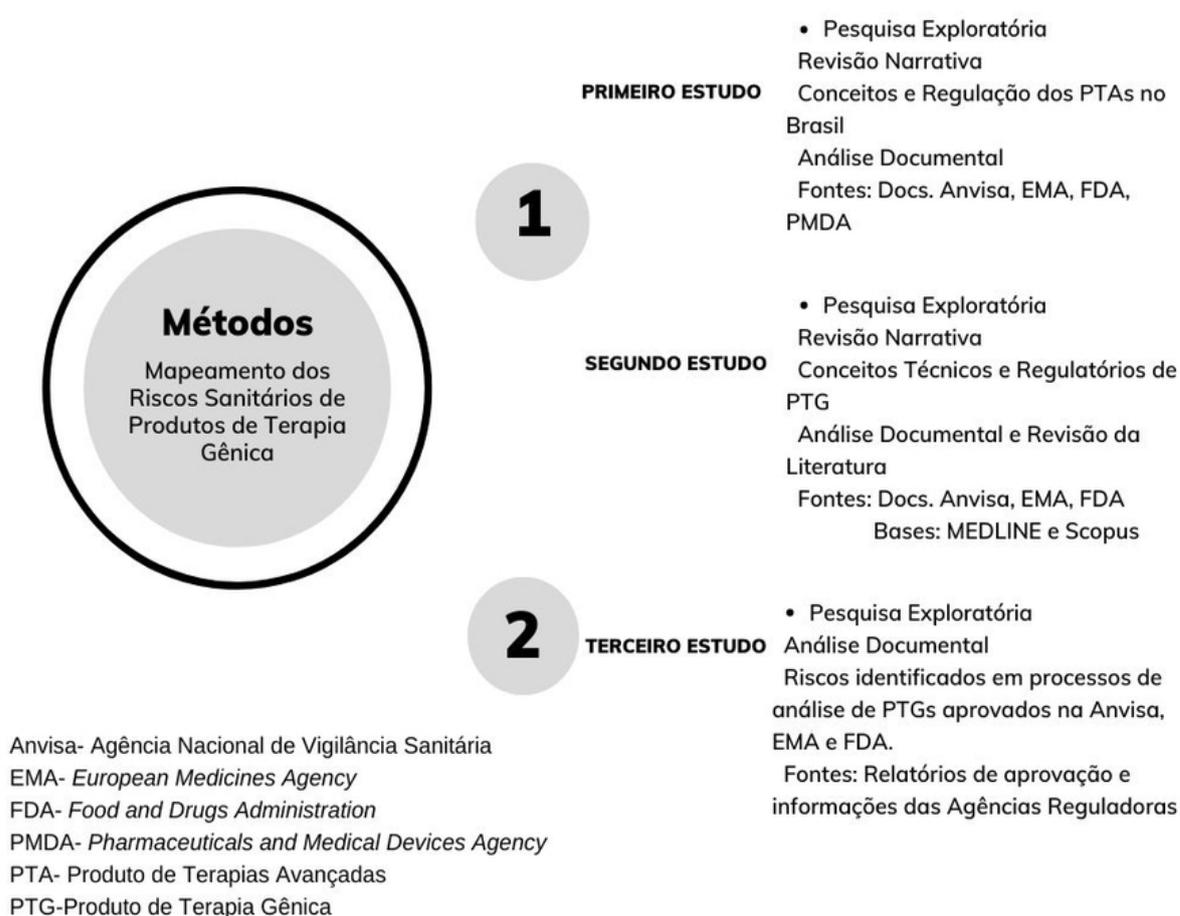
Derivadas destas questões, no contexto de produtos e terapias inovadoras, indagações complementares emergiram ao longo da investigação. Sumariza-se o processo de pesquisa científica na busca por compreender as características peculiares dos produtos de terapia gênica e as suas relações com os riscos já mapeados.

Utilizou-se uma abordagem multimétodo, como opção metodológica, norteador pelas questões centrais da pesquisa, aplicando a flexibilidade metodológica na análise de

fenômenos complexos (BECKER, 1993) para elaborar um mapa representativo do conhecimento da realidade estudada (MILLS; BONNER; FRANCIS, 2006), (LAVILLE; DIONNE, 2008), (BUTLER-KISBER; POLDMA, 2011).

Dessa forma, para o desenvolvimento da Tese, o estudo compreendeu duas fases (fase 1 e fase 2), com metodologias específicas, como esquematizado na **Figura 1**. Primeiramente contextualizaram-se os aspectos regulatórios dos inovadores produtos de terapias avançadas, que incluiu os produtos de terapia gênica. Por conseguinte, exploram-se as características do objeto da Tese, os produtos de terapia gênica, numa abordagem de mapeamento dos seus conceitos característicos e seus riscos sanitários descritos na literatura científica e regulatória.

**Figura 1 – Estratégias metodológicas aplicadas na pesquisa. Brasil, 2023.**



A **Fase 1** dos estudos se concentrou no processo de conceituação e descrição dos modelos regulatórios de produtos de terapias avançadas no Brasil, em consonância com outros países. Na mesma direção esta fase abordou os conceitos e as características específicas de interesse regulatório dos produtos de terapia gênica.

Os dois estudos que compuseram a Fase 1 foram realizados para permitir a descrição do modelo regulatório proposto no Brasil para os produtos de terapias avançadas

e compreensão básica sobre os produtos de terapia gênica, utilizando elementos conceituais e práticos. Ambos os estudos se ocuparam da busca de elementos para a apresentação dos conhecimentos regulatórios e do ambiente teórico de contexto. Para a contextualização conceitual sob a ótica regulatória, se utilizou uma abordagem exploratória e descritiva aplicando-se o método de revisão narrativa, seguindo orientações metodológicas de Levy & Ellis (2006) (LEVY; ELLIS, 2006), por permitir estabelecer relações com documentos regulatórios atuais e o estado da arte na literatura científica, apontando os elementos relevantes do conhecimento e inferindo novas perspectivas no mapeamento conceitual focado na abordagem do risco sanitário. O processo da revisão ou síntese narrativa foi dividido em partes que definiram a questão proposta e os objetivos claros da revisão, o processamento sistemático das informações encontradas e a apresentação transparente dos resultados (LEVY; ELLIS, 2006). A condução da revisão narrativa seguiu três fases principais: entrada, processamento e saída. Na fase “entrada” foram processadas as informações preliminares, por exemplo, a definição e a busca nas bases de dados pesquisadas conforme o objetivo e as características de cada estudo. A fase de “processamento” definiu a compreensão do documento e sua revisão à luz dos propósitos definidos, análises e sínteses dos resultados encontrados. O modelo proposto pelos autores reforça a necessidade de realizar a revisão em ciclos e à medida que o conhecimento sobre o assunto aumenta, os ciclos são realizados de modo mais eficientes e podem ser repetidos quantas vezes forem necessárias até que os objetivos da pesquisa sejam alcançados (LEVY; ELLIS, 2006).

No primeiro estudo, as principais questões científicas que nortearam os trabalhos referiu-se a natureza técnica dos produtos de terapias avançadas e como se classificam do ponto de vista regulatório. Esta pesquisa exploratória teve como objetivo levantar informações de conceitos e caracterizações dos PTAs utilizados pela Anvisa no Brasil, discutindo com os conceituais adotados por Agências Reguladoras internacionais.

No segundo estudo as questões científicas focaram na compreensão técnica dos produtos de terapia gênica. A perspectiva integrativa e complementar com o primeiro estudo se deu na ideia de “funil”, visto que os referidos produtos de terapia gênica estão contidos na classe de produtos de terapias avançadas. Assim questões específicas foram exploradas no segundo estudo, tais como aspectos históricos, conceitos regulatórios e características técnicas do produto de terapia gênica no horizonte da compreensão dos riscos. Além disso, ambos os estudos da Fase 1 podem ser considerados preliminares e estruturantes para a compreensão dos riscos e da segurança no uso terapêutico de produtos de terapia gênica, abordado na Fase 2.

A **Fase 2** desta pesquisa concentrou-se em buscar elementos informacionais para compor o mapeamento dos riscos de produtos de terapia gênica, oriundos da experiência regulatória adquirida em processos de acompanhamento e aprovação, utilizando relatórios e decisões oficiais relacionados aos produtos aprovados para uso terapêutico no Brasil,

nos Estados Unidos e na União Europeia. Foi realizado um terceiro estudo, que se utilizou da pesquisa documental, em fontes primárias escritas, em bases de dados dos sítios eletrônicos oficiais das seguintes agências reguladoras: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), *Food and Drug Administration* (FDA), *European Medicines Agency* (EMA), respectivamente.

A literatura não científica, como relatórios e documentos governamentais, é uma fonte potencial de dados empíricos para estudos de tópicos definidos (MILLS; BONNER; FRANCIS, 2006). Além disso, os documentos podem ajudar o pesquisador a descobrir significados, desenvolver entendimentos e percepções relevantes para as questões de pesquisa (MILLS; BONNER; FRANCIS, 2006). O trabalho analítico iniciou-se com a coleta dos materiais em que o pesquisador elaborou a percepção do fenômeno e guiou-se pelas especificidades do material selecionado (CDC, 2018). A análise dos resultados encontrados se deu em termos e significados que permitiram identificar riscos por meio de elementos documentais, tais como alertas, sinalizações, exigências, recomendações e outras descrições que demonstraram riscos reais ou potenciais identificados no processo de avaliação publicados pelas Agências Reguladoras.

A construção do percurso metodológico visa a compreensão do mapa de riscos sanitários dos produtos de terapia gênica. A identificação de riscos é parte de um processo sistêmico de gerenciamento de riscos, sendo o elemento fundamental desta Tese na perspectiva de estruturar o conhecimento disponível sobre os riscos, reais e potenciais, bem como os seus danos e consequências potenciais relacionados aos produtos de terapia gênica.

As informações deste mapeamento passaram dados históricos, análises teóricas, opiniões informadas e as preocupações no universo da terapia gênica disponíveis em literatura científica e documentos regulatórios. Foi possível compreender os pontos críticos do processo de desenvolvimento, fabricação e uso clínico destes produtos considerando uma abordagem de risco sanitário para melhor compreender e manejar os benefícios terapêuticos.

## 5 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em três partes conforme os estudos realizados:

### **Fase 1**

Estudo 1 - Regulação de Produtos de Terapias Avançadas no Brasil

Estudo 2 - Terapia Gênica: elementos conceituais e os desafios para a gestão do risco

### **Fase 2**

Estudo 3 - Mapeamento de Riscos Sanitários dos Produtos de Terapias Gênicas

# 6 REGULAÇÃO DOS PRODUTOS DE TERAPIAS AVANÇADAS NO BRASIL

## 6.1 Introdução

Sangue, tecidos, células e órgãos humanos se constituem em alternativas terapêuticas, reguladas no Brasil como produtos de alta vigilância, convergindo para o modelo regulatório internacional prevalente (WHO, 2006), (WHO, 2010), (BURNOUF, 2019), (WHO, 2021b). Não sendo passíveis de registro sanitário na Anvisa, produzidos ou manipulados em estabelecimentos de saúde diferenciados, o controle sanitário da qualidade e segurança destes produtos são derivados de ações de fiscalização de Boas Práticas aplicadas à cadeia produtiva, de distribuição e de uso terapêutico (CHABANNON et al., 2018), (CONITEC, 2023), (ANVISA, 2023b). Já os produtos tecnicamente obtidos ou elaborados com finalidade profilática, curativa, paliativa, denominados medicamentos, são registrados no Brasil e no mundo, por meio de exaustiva comprovação de sua segurança, eficácia e qualidade, frente a uma autoridade sanitária competente (BRASIL, 1973), (MHPRA, 2021).

Por outro lado, em que pese a similaridade das funções terapêuticas dos medicamentos e dos produtos à base de sangue, tecidos, células e órgãos, os modelos regulatórios de ambos são diferenciados com base no potencial de risco acrescido pelo desenvolvimento tecnológico e uso clínico. Os avanços na biotecnologia conduziram a uma nova perspectiva de produtos inovadores que se utilizam do potencial celular e genético, por meio de técnicas de cultivo celular, ciências dos materiais e tecnologia do DNA recombinante (MASON; DUNNILL, 2007), (VITOLLO et al., 2015).

Neste contexto, uma classe de produtos à base de células, tecidos e genes humanos tem sido desenvolvida e aprovada como novo arsenal terapêutico (ANCANS, 2012). São denominados Produtos de Terapias Avançadas (PTA) que se destinam ao tratamento, à prevenção ou ao suporte diagnóstico de doenças, compreendendo os produtos de terapia celular avançada, os produtos de terapia gênica e os produtos de engenharia tecidual, podendo ser combinados ou não com dispositivos médicos (EUROPEAN UNION, 2007), (PAHO, 2018), (FDA, 2021), (ANVISA, 2021). Um ambiente regulatório fragilizado coloca em risco a saúde das pessoas por meio da permissibilidade do uso indiscriminado de produtos inseguros e sem eficácia comprovada, agravado pelas profundas assimetrias de informações e externalidades negativas. Soma-se a este quadro o perigoso marketing direto ao consumidor sobre as intervenções com células-tronco e outros produtos avançados não aprovados (MACGREGOR; PETERSEN; MUNSIE, 2015), (TURNER; KNOEPFLER, 2016),

(SIPP et al., 2017), (LYSAGHT et al., 2017).

Relatos disponíveis na EuroStemCell (MACGREGOR; PETERSEN; MUNSIE, 2015), demonstram que na Alemanha, antes de 2012, haviam diversas empresas e centros médicos prometendo cura de doenças intratáveis, como Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer e outras, com injeções de células-tronco autólogas, alegando efeitos promissores exagerados, de altos custos e de elevados riscos sanitários (TURNER; KNOEPFLER, 2016), (SIPP et al., 2017). Segundo a Organização Pan Americana de Saúde – OPAS/OMS (PAHO, 2018), na região das Américas, observa-se um fenômeno similar de proliferação de propagandas médicas que prometem à população o acesso a terapias celulares, que em muitos casos, não têm a mínima fundamentação científica de segurança, eficácia e qualidade, acarretando riscos clínicos críticos aos pacientes.

Neste sentido, em alerta sobre o uso indiscriminado de células-tronco nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) (FDA, 2019), informou que terapias com células-tronco não comprovadas e autorizadas podem ser particularmente inseguras aos pacientes. Em artigo do *The New England Journal of Medicine* (2016) (MARKS; WITTEN; CALIFF, 2016), sobre os benefícios e riscos da terapia celular, os autores descrevem que os ensaios clínicos com estes produtos são derivados principalmente de pequenas pesquisas não controladas, com relatos pouco confiáveis sobre a eficácia. Segundo a Agência Reguladora norte-americana a literatura científica está repleta de descrições de casos clínicos de intervenções terapêuticas com células que se provou ineficaz ou prejudicial, quando estudadas em ensaios bem controlados.

Outrossim, a *European Medicine Agency* (EMA) (EMA, 2020), em documento publicado em 2020, descreve que “pacientes que usam terapias não comprovadas ou não regulamentadas, baseadas em células e genes, têm sofrido efeitos colaterais graves, às vezes fatais, incluindo infecções, reações imunológicas indesejadas, formação de tumores (...)” ressaltando que células aplicadas em pacientes com objetivo de exercer função distinta da original ou células manipuladas substancialmente agregam riscos e devem ser regulamentadas com o mesmo rigor regulatório de medicamentos.

Preocupada com a situação relatada internacionalmente e detectando casos similares em processos fiscalizatórios no Brasil, a Anvisa, em 2012, iniciou ampla discussão científica e social, com capítulos também de cunho jurídico (ANVISA, 2012), sobre a regulação de terapia celular e avançada. Este movimento culminou em 2018 com publicações das primeiras normas sanitárias brasileiras aplicadas aos PTAs, determinando a estes produtos o conceito de “medicamentos especiais” (ANVISA, 2018).

Considerando a convergência regulatória internacional, o Brasil vem estruturando o marco normativo infraconstitucional com estabelecimento de regras e pressupostos para a manipulação das células e genes humanos e sua transformação em produtos com finalidade terapêutica, a serem aprovados e comercializados, com o propósito de dignificação da vida daqueles que possam ser por eles tratados (GARCIA et al., 2018). Saliente-se que outro

ponto crucial derivado dos preceitos constitucionais brasileiros é a garantia de captação gratuita das células, tecidos e outras partes do corpo humano a serem empregados como materiais de partida na fabricação dos PTAs, por doação livre, espontânea e informada, de modo a afastar o risco de qualquer abuso e espoliação humana (GARCIA et al., 2018).

## 6.2 Objetivo

O objetivo principal deste estudo é descrever o modelo regulatório brasileiro aplicado aos PTAs considerando seu ciclo de desenvolvimento, aprovação e monitoramento pós-comercialização.

## 6.3 Métodos

Utilizou-se uma abordagem de pesquisa exploratória e descritiva em uma metodologia de revisão narrativa a partir dos documentos das bases de dados dos sítios eletrônicos oficiais das seguintes agências reguladoras: *Food and Drug Administration (FDA)* dos Estados Unidos, *European Medicines Agency (EMA)* da União Europeia, *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)* do Japão e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) do Brasil. A análise dos dados do PMDA se limitou aos documentos publicados em língua inglesa pela autoridade sanitária japonesa.

A escolha das referidas autoridades sanitárias se deu por comporem os membros fundadores do *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)*. Posteriormente foram inseridos como fonte de dados os documentos do *ICH*, do *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)* e da Organização Mundial de Saúde (OMS), que recentemente publicaram documentos sobre o tema. Foram selecionados documentos relacionados à regulação de produtos de terapias avançadas, utilizando-se o descritor em inglês, *advanced therapy medicinal products*, focando na busca de conceitos e modelos regulatórios. Os dados foram extraídos e organizados em planilha Excel, para sistematização e melhor compreensão conceitual. A análise qualitativa e quantitativa dos dados realizou-se de forma intuitiva e indutiva durante o levantamento do referencial normativo, organizado sistematicamente (LAVILLE; DIONNE, 2008).

## **6.4 Resultados**

Bens e produtos sujeitos à vigilância sanitária são aqueles que envolvem a possibilidade de risco à saúde pública incluindo os obtidos por meio de engenharia genética ou por outro procedimento biotecnológico (BRASIL, 1999). É neste contexto jurídico, determinado pela Lei 9782/99 que se enquadram os PTAs para fins de pesquisa clínica ou uso terapêutico no Brasil. Na mesma direção que EMA (EUROPEAN UNION, 2007) e FDA (FDA, 2021) a Anvisa (ANVISA, 2021) definiu os produtos de terapias avançadas como um produto sujeito a vigilância sanitária da categoria especial de medicamentos, passíveis dos mesmos mecanismos regulatórios (GÁLVEZ et al., 2012), (SILVA JUNIOR; TAKAO; PARCA, 2018). A definição da tipologia dos PTAs nas normativas brasileiras é fundamental para estabelecer os requisitos de mitigação de riscos sanitários.

No Brasil, o entendimento jurídico é da vedação de qualquer tipo de comercialização de órgãos, tecidos, células e partes do corpo humano, deliberado no art. 199, §4º, da Constituição Federal Brasileira de 1988 (GARCIA et al., 2018). Assim sangue para transfusão, terapias celulares convencionais, tecidos e órgãos para enxertos e transplantes no país, foram categorizadas do ponto de vista regulatório também como produtos sob vigilância sanitária, porém não passíveis de registro sanitário. A regulamentação sanitária para estes produtos configurou-se, portanto, no estabelecimento de autorização ou licenciamento para o funcionamento dos estabelecimentos responsáveis pela captação, seleção de doadores, coleta, processamento, armazenamento, controles laboratoriais, mecanismos de rastreabilidade e liberação para uso terapêutico, distribuição, transporte e controle do uso clínico por serviços de saúde. Utilizando estes conceitos regulatórios estabelece-se uma diferenciação entre produtos baseados em células e tecidos considerados como terapias avançadas e produtos que envolvem células, tecidos e órgãos humanos, como terapias convencionais, aplicadas em procedimentos de transfusão, transplantes e enxertos.

### **6.4.1 Produtos de Terapia Convencional**

Os produtos à base de células, tecidos e órgãos, incluindo sangue, para terapia convencional contêm ou consistem em células ou tecidos humanos que se destinam a implantação, transplante, transfusão, infusão ou transferência para um receptor (paciente). O processamento desses materiais biológicos, em geral, é de natureza física e considerados manipulação mínima, por não interferirem nos estágios de diferenciação e ativação, potencial de proliferação e atividade metabólica celular originais.

Entende-se que, ao realizar técnicas de manipulação mínima, os produtos para terapia convencional conservam as suas características biológicas originais, bem como sua homologia funcional. São considerados manipulação mínima os atos de cortar, separar, centrifugar, imergir ou preservar em soluções antibióticas, concentrar, purificar, filtrar, liofilizar, irradiar, congelar, criopreservar ou vitrificar, inativar, esterilizar, modelar, descelularizar, entre outros processos em células, tecidos e órgãos.

Estes produtos são coletados de pessoas (doadores vivos ou falecidos) mediante critérios de triagem para qualificação do material biológico e manutenção da integridade física do doador. Após coletados, estes materiais são submetidos a processos de manipulação em ambientes limpos ou em dispositivos que mantêm o sistema fechado, conservando as características e as funções biológicas originais desempenhadas no doador. Estes produtos são destinados ao tratamento do mesmo indivíduo que doou o material (produto autólogo) ou para outros pacientes (produto alogênico), exercendo as mesmas funções básicas de suplementação, reparação, reconstrução e substituição de células, tecidos e órgãos no paciente, como originalmente exercida no doador.

Com relação ao modo de ação clínica destes produtos, pode-se entender como o desempenho das células ou tecidos nos pacientes na mesma função original (“*homologous use*”), usados clinicamente com a intenção de se manter a fisiologia original ou as funções básicas das células ou tecidos, por exemplo, considerando o mesmo ambiente anatômico ou histológico. No entanto, as células ou tecidos podem desempenhar as mesmas funções básicas, mesmo quando não são utilizados na mesma localização anatômica em que existia no doador. As funções básicas de um tecido estrutural seriam, por exemplo, flexibilidade, compressibilidade, apoiar fisicamente ou servir como uma barreira ou condução, conectar, amortecer, cobrir ou dar suporte, assim como funções originais celulares seriam as metabólicas ou as bioquímicas, como as funções hematopoiéticas, imunológicas, transportadoras, endócrinas, outras.

O cerne da diferenciação dos produtos terapêuticos à base de partes do corpo humano determina-se pelo incremento tecnológico (processamento ou manipulação) e indicação clínica inovadora. A definição de função clínica inovadora (*nonhomologous use*) abrange situações de uso clínico em que o produto a base de células ou tecidos desempenha no receptor (paciente) função distinta daquela desempenhada no doador de origem. A distinção deve ser feita com base na função das células ou do tecido no doador e a intenção de uso do produto no receptor. O uso homólogo, em geral, refere-se às funções inerentes de células e tecidos na reparação, reconstrução, substituição ou complementação, onde células ou tecidos do paciente sejam idênticas (por exemplo, pele para pele) às células ou tecidos do doador, e desempenhem uma ou mais das mesmas funções básicas. Por exemplo, a seleção de células por aférese de sangue periférico para obter uma maior concentração de células-tronco/progenitoras hematopoiéticas (CPH) para transplante é considerada uma terapia celular com manipulação mínima, sendo estas células utilizadas na mesma função

essencial e na mesma anatomia ou histologia de origem (FDA, 2020). Usando o mesmo exemplo das CPH, quando estas células sofrem multiplicação e diferenciação em cultura celular, sob condições laboratoriais específicas, é considerada uma manipulação substancial ou extensa, porque as características de multipotência e a capacidade de autorrenovação celular são alteradas.

Não se incluem neste conceito de terapia convencional ou mesmo terapia avançada, as moléculas terapêuticas purificadas de matriz biológica humana, porém quimicamente definidas, tais como colágeno, fatores de coagulação, imunoglobulinas, anticorpos monoclonais, hormônios e outros, considerados medicamentos ou produtos biológicos. A questão aqui se dá pela capacidade de distinguir a molécula terapêutica atuante no mecanismo de ação do produto, não sendo exercida por células, tecidos ou genes.

Segundo a Anvisa (ANVISA, 2020), medicamentos biológicos são moléculas complexas de alto peso molecular obtidas a partir de fluidos biológicos, tecidos de origem animal ou procedimentos biotecnológicos, tendo como exemplos, os alérgenos, os anticorpos monoclonais, os hemoderivados, os probióticos, as vacinas. A diferenciação destes produtos ou medicamentos biológicos é a consideração de se constituírem moléculas complexas quimicamente definidas.

Da mesma forma, não se incluem neste conceito as células, tecidos e órgãos derivados de animais para uso terapêutico em humanos, os denominados xenotransplantes, que a depender da função e manipulação podem ser classificados como produtos para saúde ou dispositivos médicos (ANVISA, 2021d). Neste mesmo contexto, células, tecidos, órgãos e outras partes do corpo humano usados para fabricação de dispositivos para diagnósticos *in vitro* devem ser classificados como insumo ou material de partida para fabricação de produtos para saúde.

#### **6.4.2 Regulando Sangue, Tecidos, Células, Órgãos no Brasil**

Baseado nos processos de obtenção e preparação dos produtos, bem como no seu uso terapêutico é possível classificar os produtos à base de células e tecidos, incluindo sangue, para definir melhores modelos de aplicação das regras regulatórias considerando a sua produção e uso clínico.

As terapias com sangue, células e tecidos humanos em que os procedimentos de coleta e administração do material for realizado no mesmo indivíduo (uso autólogo) durante o mesmo ato ou procedimento cirúrgico, devem ser classificados como um procedimento clínico. Nesses casos, tais procedimentos clínicos devem ser realizados quando a técnica ou a terapia forem reconhecidas pela ciência como alternativa terapêutica eficaz e segura, aprovados pelos Conselhos Profissionais competentes e Ministério da Saúde, ou ainda, caso

sejam procedimentos de ensaios clínicos aprovados pelo Sistema da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/ Comitês de Ética em Pesquisa (Conep/CEP) (ANVISA, 2021). A principal regra regulatória, nestes casos, é a realização do procedimento clínico em estabelecimentos devidamente regularizados pela Vigilância Sanitária competente, com a aplicação das Boas Práticas em Serviços de Saúde e das diretrizes de Segurança do Paciente, considerando os procedimentos cirúrgicos invasivos e o processamento do material biológico minimamente manipulado no referido ambiente cirúrgico limpo (ANVISA, 2011), (ANVISA, 2013a). Um exemplo desse tipo de uso de células é a cirurgia estética de lipoescultura onde se faz uma lipoaspiração, para retirar tecido gorduroso de áreas do corpo e, posteriormente, no mesmo ato cirúrgico, reposicioná-los em locais desejados com objetivo de melhora de contorno corporal.

Quando se utiliza sangue, células e tecidos, em que ocorre manipulação mínima em ambientes laboratoriais, com ou sem a conservação em bancos especiais, para posterior uso no mesmo indivíduo ou não, pode-se classificar como produtos terapêuticos para fins de transplantes, transfusões, enxertos e outras substituições e recomposições (terapias convencionais). Estes produtos são obtidos de doadores e processados por meio de manipulação mínima, por exemplo, em centros ou bancos especializados, tais como serviços de hemoterapia (bancos de sangue), bancos de tecidos, centros de processamento celular, centros de reprodução humana assistida. Estes bancos são regularizados pela Vigilância Sanitária competente (vigilância sanitária municipal e vigilância sanitária estadual) e devem seguir rigorosamente regras de Boas Práticas definidas pela Anvisa, na perspectiva da garantia de qualidade e de segurança. A eficácia do uso terapêutico desses produtos deve ser assegurada pelo Ministério da Saúde, em publicações oficiais, também em protocolos clínicos aprovados pelos Conselhos Profissionais relacionados, ambos com base no conhecimento científico e clínico prevalentes. Um exemplo de terapia celular convencional com sua eficácia cientificamente comprovada é o uso de células-tronco hematopoiéticas, processadas com critérios de boas práticas, para o transplante de medula óssea (CHABANNON et al., 2018). Este tipo de terapia celular pode ser (a) autóloga, usando células sanguíneas hematopoiéticas, geralmente para tratar mieloma múltiplo ou linfoma e (b) alogênica, usando células de um doador compatível por tipo HLA (sigla em inglês: *human leukocyte antigen*), a fim de reduzir a rejeição pelo sistema imunológico do paciente e promover o máximo da função terapêutica pretendida. Para esta terapia celular convencional há vários protocolos clínicos recomendados pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (Conitec), do Ministério da Saúde (CONITEC, 2023).

A regulação de produtos terapêuticos, em geral, considera o processo de desenvolvimento, aprovação e o monitoramento pós-uso do produto. Neste sentido, quando se trata de terapias convencionais com sangue, células e tecidos humanos observam-se determinados modelos regulatórios descritos de forma geral, na **Tabela 1**, abaixo:

**Tabela 1 – Processos regulatórios aplicados aos produtos de terapias convencionais. Brasil, 2023.**

PROCESSO	REGULARIZAÇÃO	REGULADOR
Desenvolvimento do procedimento com produtos do sangue, células, tecidos, órgãos (Ensaio Clínico)	Aprovação Ética	Sistema Cep/CONEP (Ministério da Saúde)
Reconhecimento de Eficácia Clínica do procedimento com uso de sangue, células, tecidos, órgãos	Aprovação como procedimento clínico	Ministério da Saúde (SUS) - CONEP Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS) Conselhos Profissionais legalmente competentes
Avaliação de Segurança e Qualidade	Requisitos de Boas Práticas em Sangue, Tecidos, Células Regularização em vigilância sanitária (licenciamento e fiscalização periódica) Monitoramento da qualidade e segurança	Anvisa Vigilância Sanitária locais
Monitoramento Pós-Uso	Notificação de eventos adversos Hemovigilância/Biovigilância Vigilância de serviços de saúde	Anvisa Vigilância Sanitária locais

Elaboração Própria

Estes produtos biológicos à base de sangue, células, tecidos e órgãos envolvidos em procedimentos terapêuticos para terapia convencional não são passíveis de registro sanitário na Anvisa. São produzidos ou manipulados em estabelecimentos de saúde diferenciados (centros especializados ou bancos), utilizados no Brasil com reconhecimento de eficácia pela comunidade científica e consolidados em protocolos clínicos aprovados pelos Conselhos Profissionais e Ministério da Saúde. O controle sanitário e o monitoramento da qualidade e da segurança destes produtos são derivados de ações conjuntas ou coordenadas de vigilância sanitária. Tais ações têm foco na definição e fiscalização de Boas Práticas aplicadas à cadeia produtiva, à qualificação e conservação, à distribuição e ao uso terapêutico destes produtos, portanto, no controle sanitário dos estabelecimentos especializados.

### 6.4.3 Produtos de terapias avançadas

A possibilidade de manipulação substancial de células e genes humanos permite o desenvolvimento de novos produtos terapêuticos de origem humana, chamados de produtos de terapias avançadas (do inglês *Advanced Therapy Medicinal Products-ATMP*) (NEREM, 2010).

O termo “ATMP” aparece no regulamento europeu em 2007 (EUROPEAN UNION, 2007), embora haja relatos na literatura científica do desenvolvimento destes tipos de medicamentos há muitos anos, sendo, no entanto, um assunto predominantemente acadêmico, baseado nos avanços da área de manipulação molecular e genética, bem como técnicas de cultivo celular (THOMSON et al., 1998).

Nos Estados Unidos, desde 1991, há orientações gerais sobre questões regulatórias para produção, testes de controle de qualidade e administração de células e vetores recombinantes como terapia (FDA, 2021).

No Brasil, desde 2009 a Anvisa vem promovendo discussões com a comunidade científica brasileira sobre as terapias com células cultivadas em laboratórios, a partir de aspectos técnicos e jurídicos. Com publicações de normas regulatórias específicas para os centros de tecnologias celulares, discussões jurídicas sobre a regulação e a possibilidade de comercialização de produtos à base de células e genes humanos até culminar com a publicação da primeira norma com a definição e classificação de produtos de terapias avançadas no Brasil, em 2018 (ANVISA, 2018). Com relação à doação de células e tecidos de origem humana como material de partida ao PTA, o ordenamento jurídico brasileiro vigente estabelece o respeito aos princípios do anonimato do dador e do receptor, do altruísmo do dador e da solidariedade entre o doador e o paciente. Por uma questão de princípios legais e éticos, os tecidos ou células de origem humana contidos nos produtos de terapias avançadas deverão ser colhidos de doações voluntárias e não remuneradas (GARCIA et al., 2018).

Os produtos de terapias avançadas apresentam conceitos regulatórios específicos no Brasil, conforme descritos na **Tabela 2**, abaixo:

**Tabela 2 – Conceitos regulatórios dos Produtos de Terapias Avançadas. Brasil, 2023.**

TERMO	CONCEITO
Produtos de terapias avançadas (PTA)	Categoria especial de medicamentos novos que compreende o produto de terapia celular avançada, o produto de engenharia tecidual e o produto de terapia gênica.
Produto de Terapia Celular Avançada (PTCA)	Produto biológico constituído por células ou seus derivados não quimicamente definidos, com finalidade de obter propriedades terapêuticas, preventivas ou de diagnóstico, por meio de modo de ação principal metabólica, farmacológica e/ou imunológica, para uso autólogo ou alogênico em humanos, sendo que (a) tenha sido submetido a manipulação extensa; e/ou (b) desempenhe no receptor função distinta da desempenhada no doador.
Produto de Engenharia Tecidual (PET)	Produto biológico constituído por células organizadas em tecidos ou órgãos que apresenta propriedades que permitam regenerar, reconstituir ou substituir um tecido ou órgão humano, na presença ou não de suporte estrutural constituído por material biológico ou biocompatível, sendo que (a) tenha sido submetido a manipulação extensa; e/ou (b) desempenhe no receptor função distinta da desempenhada no doador.
Produto de Terapia Gênica (PTG)	Produto biológico cujo componente ativo contenha ou consista em ácido nucleico recombinante, com objetivo de regular, reparar, substituir, adicionar ou deletar uma sequência genética e/ou modificar a expressão de um gene, com vistas a resultado terapêutico, preventivo ou de diagnóstico.
Produtos de terapias avançadas combinados (PTAC)	Produto terapia avançada que incorpora, como parte integrante do produto, um ou mais produtos para saúde (dispositivos médicos) em que a sua parte celular, contendo células ou tecidos viáveis ou não, tenham ação farmacológica, imunológica ou metabólica como primária ou principal quando comparada ao produto para saúde.
Manipulação mínima	Processamento das células ou tecidos que não altera de forma significativa as características biológicas. São considerados manipulação mínima os atos de cortar, separar, centrifugar, imergir ou preservar em soluções antibióticas, concentrar, purificar, filtrar, liofilizar, irradiar, congelar, criopreservar ou vitrificar, entre outros.
Manipulação Extensa ou Substancial	Processamento das células e tecidos que altera qualquer de suas características biológicas, dentre as quais se incluem estado de diferenciação e ativação, potencial de proliferação e atividade metabólica. É todo processamento de células e tecidos que não configura manipulação mínima. Todo tipo de cultivo celular é considerado manipulação extensa.
PTA Classe I	Produto de terapia celular avançada submetido a manipulação mínima e que desempenha no receptor função distinta da desempenhada no doador
PTA Classe II	Produto de terapia celular avançada submetido a manipulação extensa, produto de engenharia tecidual e produto de terapia gênica.

A maioria das agências reguladoras internacionais considera os produtos de terapias avançadas como uma nova classe terapêutica de medicamentos para uso humano, obtidos de células, tecidos ou de ácidos nucleicos recombinantes e incluem produtos de origem autóloga, alogênica e xenogênica.

Os produtos à base de células somáticas humanas (produto de terapia celular avançada e engenharia tecidual), são fabricados ou manipulados em ambiente laboratorial, envolvendo a propagação, a expansão e a seleção de células ou ainda promovendo alterações das suas características biológicas substanciais. O processamento que altera as características originais das células ou tecidos levanta preocupações e riscos na segurança e eficácia, devido à impossibilidade de prever qual a função do produto após o uso no paciente. A determinação quanto a manipulação extensa ou substancial é baseada no efeito do processamento sobre as características originais relevantes das células e tecidos conforme se conhece na sua origem no doador. Ressalta-se que também podem ser considerados produtos de terapias avançadas quando se utilizam células ou tecidos no paciente para uma função biológica diferente ou inovadora referente a desempenhada no doador, ou da origem das células (uso não homólogo), mesmo após uma manipulação mínima. Por exemplo, o concentrado de células-tronco hematopoiéticas de medula óssea obtido de doador destinado ao transplante na medula óssea do paciente não é considerado um produto de terapia avançada. Porém, administrar estes tipos de células obtidas da medula óssea de um doador no tecido cardíaco do paciente com finalidade terapêutica é considerado um PTA.

Já os produtos à base de ácidos nucleicos recombinantes são denominados de produtos de terapia gênica. Desempenham seu modo de ação principal modificando funções genéticas das células, ou seja, a função terapêutica pretendida está relacionada no ato de regular, reparar, substituir, adicionar, editar ou deletar uma sequência genética, ou ainda alterando a expressão de um gene humano nas células-alvo. As células podem ser geneticamente modificadas *ex vivo* para administração subsequente ao paciente ou podem ser alteradas *in vivo* por técnicas de manipulação genética por meio de vetores administrados diretamente ao paciente. Quando se manipulam geneticamente células somáticas *ex vivo* aplicam-se adicionalmente cuidados ao doador, boas práticas de células e todas as exigências de segurança de tratamento com material biológico. O produto farmacêutico, neste caso, é uma célula geneticamente manipulada, que será disponibilizada para uso em humanos. No caso dos produtos de terapia gênica *in vivo*, o produto formulado final trata-se de genes humanos recombinados carregados por vetores, que serão aplicados diretamente nos pacientes, cabendo os cuidados de produção e purificação de moléculas biotecnológicas (*upstream* e *downstream*).

As agências reguladoras do Brasil, Estados Unidos, União Europeia, Japão e outros países, enquadram os produtos de terapias avançadas nas diretrizes legais de medicamentos com normativas e estruturas específicas para sua regulação, considerando

diversidade, peculiaridade e natureza dos processos envolvidos, numa abordagem baseada no balanço benefício-risco.

Os produtos de terapias avançadas podem ser distribuídos e administrados de várias maneiras. Por exemplo, podem ser infundidos, injetados ou implantados cirurgicamente de forma agregada, ou com suportes sólidos, ou com materiais de encapsulamento. Quaisquer matrizes, fibras ou outros materiais usados em adição às células, tecidos ou genes podem ser categorizados como excipientes, componentes ativos ou dispositivos médicos. Nestes casos, é fundamental que as células, tecidos ou genes exerçam função terapêutica principal para se considerar um PTA. Os medicamentos especiais denominados produtos de terapias avançadas devem envolver: i) células viáveis ou sequências de genes recombinantes no produto a ser administrado no paciente, ii) processamentos celulares com manipulação extensa (substancial) ou iii) processamentos celulares com manipulação mínima, mas que o produto final exerça uma função biológica inovadora, que demande um processo de desenvolvimento para comprovação de sua segurança, qualidade e eficácia.

A expansão celular, ativação ou modificação genética são consideradas manipulações substanciais. Nestes casos, as características de multipotência e a capacidade de autorrenovação celular podem ser alteradas e requerem uma detalhada caracterização do produto durante o processo de fabricação, como parte do seu desenvolvimento, para corroborar se as características fenotípicas e fisiológicas potenciais foram alteradas ou não, e os impactos no risco e benefício do produto.

Uma importante derivação do conceito de produto de terapia gênica (PTG) apresentado neste estudo é a atribuição de sua ação principal diretamente à sequência de ácido nucleico recombinante, ou ao produto da expressão genética desta sequência terapêutica. Estes tipos de PTAs abarcam os produtos que medeiam seus efeitos terapêuticos por transcrição e/ou tradução de material genético editado ou transferido por meio de vetores de transferência (virais ou não-virais) às células do paciente, na modalidade *in vivo* ou *ex vivo*. Salienta-se, entretanto, que as vacinas contra doenças infecciosas à base de material genético de microorganismos não são incluídas na classe de PTG, por exemplo, as vacinas a base de ácidos nucleicos contra a Covid-19 (EMA, 2015). Outro exemplo que não se enquadram como PTG são os produtos à base de vírus oncolíticos selvagens, se estes não possuírem ácido nucleico recombinante (FDA, 2019). Por exemplo, o produto investigacional *Reolysin (Oncolytics Biotech)* é um produto baseado no reovírus tipo 3 *Deering*, vírus de RNA de fita dupla do tipo selvagem, ubíquo e não patogênico em seres humanos. Foi demonstrado sua ação oncolítica devido à sua capacidade de se replicar em células transformadas, mas não em células normais, com efeitos antitumorais significativos em estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* (CAREW et al., 2013).

#### 6.4.4 Regulando Terapias Avançadas no Brasil

Estabelecer regulamentação específica para os produtos de terapias avançadas foi uma reação ao progresso biotecnológico que resultou em terapias eficazes para uso humano que compartilham características semelhantes, principalmente no potencial de risco.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS)([WHO, 2021a](#)) os países devem desenvolver basicamente 8 funções ou ações referentes à regulação de produtos terapêuticos:

- **FUNÇÃO 1: Sistema Nacional Regulatório**: a instituição de uma autoridade reguladora nacional, com competência legal e técnica, responsável por estabelecer requisitos de garantia de qualidade, segurança e eficácia dos produtos terapêuticos, bem como assegurar a relevância e precisão das informações sobre tais produtos utilizados no país, com atribuições de supervisão e fiscalização independente.
- **FUNÇÃO 2: Autorização de comercialização**, também conhecida registro sanitário de produtos. O registro sanitário refere-se ao procedimento de aprovação de determinado produto terapêutico para comercialização ou uso populacional, após ter passado por um processo de avaliação para determinar a sua segurança, eficácia e qualidade. O objetivo desta função regulatória é fornecer uma sistemática de controle que permita apenas produtos terapêuticos devidamente autorizados sejam produzidos, importados, distribuídos, comercializados ou fornecidos aos usuários finais. O processo de avaliação de registro sanitário inclui a revisão dos dados de qualidade, segurança e eficácia.
- **FUNÇÃO 3: Vigilância de eventos adversos de produtos terapêuticos**. São as atividades relacionadas à detecção, avaliação, compreensão e prevenção de eventos adversos ou quaisquer outros problemas relacionados aos produtos comercializados e utilizados no país, estabelecidas com base em uma abordagem de gerenciamento de riscos.
- **FUNÇÃO 4: Vigilância e controle de conformidade de produtos terapêuticos**. Esta função é crucial para garantir a conformidade dos produtos utilizados pela população com critérios pré-estabelecidos de qualidade, segurança e eficácia, ou seja, verificar a conformidade com o registro sanitário. Esta função abarca ações de controle em importação, ações preventivas e corretivas frente a produtos falsificados, verificação e monitoramento da qualidade dos produtos ao longo da cadeia de suprimentos e controle das atividades de promoção, marketing e publicidade.

- **FUNÇÃO 5: Licenciamento de estabelecimentos e instalações.** As atividades de licenciamento de instalações ao longo da cadeia de suprimentos devem ser baseadas no cumprimento das Boas Práticas e que a autoridade sanitária competente tenha poderes para emitir, suspender ou revogar licenças para estabelecimentos e instalações, frente aos riscos à população.
- **FUNÇÃO 6: Inspeção Sanitária.** As inspeções regulatórias objetivam garantir que as operações nos estabelecimentos responsáveis pelo ciclo de vida do produto e serviços relacionados sejam realizadas conforme os padrões, normas e diretrizes aprovadas.
- **FUNÇÃO 7: Testes Laboratoriais oficiais.** Os testes laboratoriais são utilizados para verificar e confirmar a qualidade dos produtos disponíveis à população e para detectar subpadrões e falsificações, bem como outras situações cabíveis, tais como, confirmar dados para o registro sanitário ou sua alteração, avaliar lotes de produção específicos e processos de investigação.
- **FUNÇÃO 8: Autorização para ensaio clínico.** A capacidade de autorizar, monitorar e suspender ensaios clínicos visa proteger a segurança e os direitos dos seres humanos que participam desses ensaios, garantir que os ensaios sejam adequadamente projetados para atingir objetivos cientificamente sólidos e prevenir qualquer potencial fraude e falsificação de dados.

Outra função mencionada pela OMS é a liberação oficial de lote que se aplica especificamente para a liberação regulatória de determinados produtos biológicos, considerando a natureza e a variabilidade inerente desses produtos. Um exemplo é a liberação de lotes de vacinas ([WHO, 2021a](#)).

Desta forma, albergado pelas normas gerais de medicamentos, é possível compreender as funções regulatórias estabelecidas pela OMS aplicáveis aos PTAs. Apesar de não ser objetivo deste estudo a avaliação da implementação das funções regulatórias da OMS aos produtos de terapias avançadas no Brasil, observa-se que as normativas estabelecidas até o momento pela Agência demonstram a aplicabilidade das supracitadas funções a estes produtos inovadores. Esta nova classe de medicamentos, considerados pela Anvisa como medicamentos especiais ([ANVISA, 2021](#)), incorporados recentemente às ações da regulação sanitária brasileira, devem trilhar o caminho sugerido pela OMS frente as funções regulatórias de medicamentos, considerando suas especificidades, complexidades e relação de riscos e benefícios.

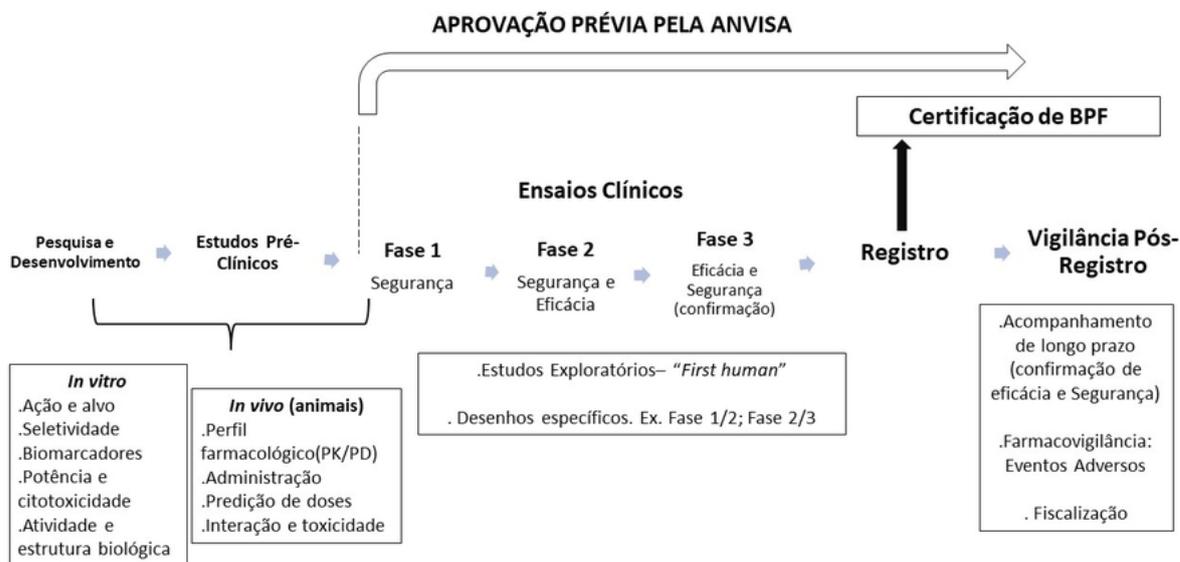
Na condição de medicamentos, conforme determinado pelas leis sanitárias brasileiras, nenhum PTA, inclusive os importados, poderá ser fabricado, comercializado ou administrado ao paciente antes de registrado na Anvisa ([BRASIL, 1976](#)). A aprovação do

registro de PTA no Brasil segue a mesma abordagem utilizada para qualquer outro medicamento (ANVISA, 2021).

A empresa interessada em registrar um PTA no Brasil deve demonstrar: (1) os aspectos de qualidade (caracterização, processo de fabricação e controle, gestão de riscos); (2) o perfil de segurança (características farmacológicas/toxicológicas essenciais) e o ensaio de prova de conceito do produto, em modelos *in vitro* e *in vivo*; (3) o perfil de segurança em humanos e os resultados de eficácia estabelecidos para a(s) indicação(ões), dosagem(ns) e população(ões) alvo e (4) elaborar um Plano de Gerenciamento de Riscos (RMP) para o uso do produto no Brasil (ANVISA, 2021), dentre outras.

Segue processo geral esquematizado de desenvolvimento de produtos de terapias avançadas com as etapas regulatórias aplicáveis. Nota-se que este caminho regulatório é o mesmo utilizado por medicamentos e outros produtos passíveis de registro sanitário na Anvisa, com as devidas particularidades inerentes ao tipo de produto (Figura 2).

**Figura 2 – Esquema do processo de desenvolvimento de produtos de terapias avançadas e etapas regulatórias relacionadas. Brasil, 2023.**



Elaboração Própria

#### 6.4.4.1 Aspectos dos Ensaios Clínicos

A Anvisa inicia o processo de acompanhamento regulatório do desenvolvimento de um produto novo na fase dos ensaios clínicos. Sempre que se há intenção de iniciar estudos clínicos com um novo PTA no Brasil é necessário aprovação prévia na Anvisa,

inclusive quando se estuda uma nova indicação ou via diferente de administração de um produto que já foi registrado. A Agência concede a permissão para a realização de pesquisa clínica do produto investigacional para determinar os elementos de sua segurança clínica, de eficácia e dos atributos da qualidade, sob processo conduzido de forma controlada e por patrocinadores e pesquisadores oficialmente definidos e responsáveis (ANVISA, 2021b).

Os elementos científicos e os aspectos regulatórios são pilares fundamentais para o avanço nos processos de desenvolvimento de um produto terapêutico. No Brasil, três instituições públicas podem atuar com funções complementares na supervisão dos ensaios clínicos em PTA.

A aprovação dos aspectos éticos e sociais dos estudos envolvendo seres humanos é de responsabilidade da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) por meio do Sistema Comitês de Ética em Pesquisa (CEP)/CONEP, integrado ao Ministério da Saúde. Paralelamente, a Anvisa avalia os aspectos da qualidade e segurança do produto investigacional, por meio de revisão criteriosa do processo de fabricação (e seus controles), dos testes de caracterização (identidade, pureza, potência, outros) e de esterilidade do produto acabado e intermediários do processo conforme a maturidade e a fase do desenvolvimento. Outro aspecto avaliado pela Anvisa é a potencialidade do estudo clínico promover a validade científica do protocolo proposto, ou seja, a capacidade dos desenhos de ensaio em comprovar eficácia e segurança do produto para permitir uma avaliação de riscos e benefícios posteriormente no registro sanitário. Salienta-se que na fase de desenvolvimento clínico de produtos de terapia gênica também é importante a avaliação da biossegurança do componente identificado como um organismo geneticamente modificado (OGM). No Brasil esta avaliação é realizada pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (ANVISA, 2021b).

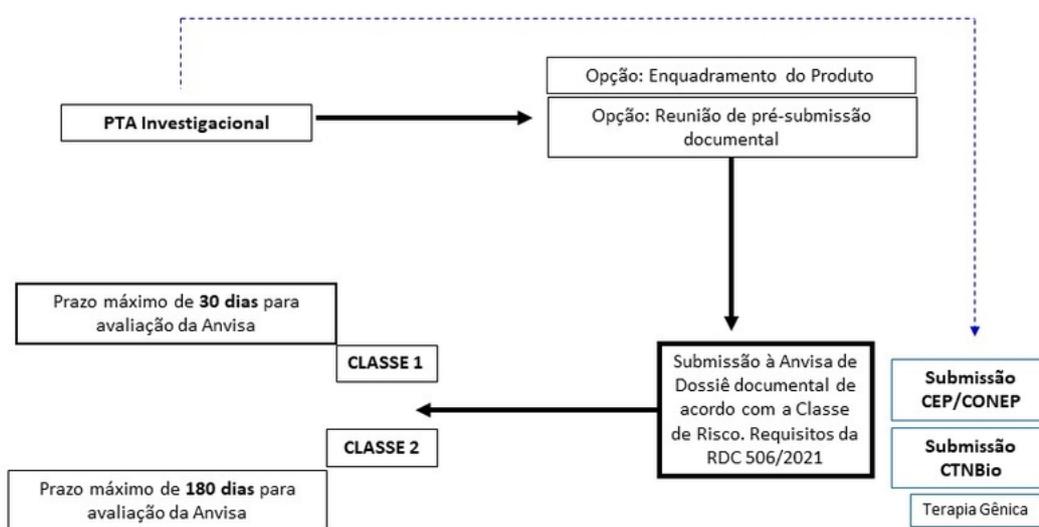
Um dossiê de ensaio clínico deve ser composto pelos seguintes documentos (ANVISA, 2021b):

- 1) plano de investigação clínica do PTA investigacional, que contemple informações sobre o processo de desenvolvimento clínico do produto,
- 2) protocolo específico de ensaio clínico a ser realizado no Brasil,
- 3) brochura do pesquisador, que contenha as informações mínimas sobre os dados pré-clínicos e clínicos relevantes disponíveis sobre o produto e
- 4) os documentos da comprovação da qualidade do processo fabril.

Na Anvisa, particularmente na Gerência de Sangue, Tecidos, Células, Órgãos e Produtos de Terapias Avançadas (GSTCO), os dossiês de PTA são avaliados por equipes de especialistas, que podem a qualquer momento solicitar a avaliação de especialistas externos *ad hoc*, dependendo do produto e sua aplicação clínica, inscritos na Rede de Especialistas em Terapia Avançada – RENETA ou membros da Câmara de Assessoramento Técnico em Terapia Avançada (CAT) da Anvisa (ANVISA, 2016), (ANVISA, 2023).

O fluxo geral de submissão de documentos à Anvisa, conforme **Figura 3**, prevê prazos de análise da Agência por tipo e complexidade técnica de dossiê, sendo 180 dias para o Dossiê de Desenvolvimento Clínico de Produtos de Terapias Avançadas Investigacionais (DDCTA) e 30 dias para o Dossiê Simplificado para Ensaio Clínico com Produtos de Terapias Avançadas Investigacionais (DSCTA). A definição de prazos para a conformação do processo avaliativo e decisório da Anvisa e para as respostas e adequações do patrocinador é um fator importante para um processo regulatório transparente e previsível (KIRK, 2017).

**Figura 3 – Fluxo geral de submissão de dossiê documental para aprovação de ensaios clínicos de produtos de terapias avançadas na Anvisa. Brasil, 2023.**



Fonte: Anvisa, RDC 506/2021

Para o início dos ensaios clínicos, é essencial o fornecimento de dados robustos e específicos de pesquisas pré-clínicas, realizadas, preferencialmente, em ambiente de Boas Práticas Laboratoriais (BPL) com o produto investigacional (WHO, 2001). Visando a análise regulatória, é importante que o patrocinador demonstre como foram realizados os estudos pré-clínicos e respectivos resultados, incluindo-se estudos de farmacologia e toxicologia, sejam *in vitro* ou *in vivo*, de preferência em modelos animais relevantes. Tais estudos devem gerar dados que permitam verificar se o produto é razoavelmente seguro para testes iniciais em humanos. Os dados pré-clínicos devem ser adequados para apoiar o ensaio clínico proposto com recomendação de dose segura, esquema de escalonamento e via de administração (HULLEY et al., 2015). Experiências prévias do produto em pacientes, quando houver, mesmo em situações de uso emergencial, podem ser incorporadas às informações para corroborar com os dados pré-clínicos. Em produtos de terapia gênica, questões específicas devem ser estudadas na fase pré-clínica, por exemplo, biodistribuição

do produto, nível e persistência da expressão gênica, alteração em linhagem germinativa e outros. Os estudos de toxicologia devem considerar também o risco dos vetores utilizados e seu potencial de mutagênese insercional.

A estruturação básica do desenvolvimento clínico é geralmente dividida em três fases (Fase 1, Fase 2, Fase 3), com cada uma fornecendo subsídios e suporte para a próxima etapa, com dados robustos que corroborem com o balanço positivo de benefícios e riscos (DOWNING et al., 2014). Uma das fases de importante atenção pelo regulador é quando se usa pela primeira vez o PTA em seres humanos, denominado estudo “*first in human*”, denotando elemento de maiores riscos devido às incertezas, imprevisibilidades e limitações dos dados pré-clínicos na predição de segurança e eficácia. O foco principal de um estudo de Fase 1 com produtos de terapias avançadas é monitorar a segurança do produto em uma população específica de poucos pacientes. Importante lembrar que a avaliação da segurança de um PTA permanece sendo investigada durante todo o seu desenvolvimento. Estes estudos iniciais devem ser projetados para determinar as ações metabólicas e farmacológicas em humanos, obter informações suficientes sobre farmacocinética, eventos adversos associados e esquemas de doses (HULLEY et al., 2015).

As características inovadoras dos PTA, relacionadas à biotecnologia farmacêutica e as indicações para condições raras e sem alternativas terapêuticas, têm desafiado aos pesquisadores na proposição de desenhos de ensaios com fases combinadas, por exemplo, Fase 1/2, Fase 2/3 e ensaios adicionais de Fase 3 após o registro sanitário. Para muitos PTAs, os ensaios de Fase 1 são conduzidos objetivando a avaliação de segurança (objetivo primário deste tipo de estudo) frequentemente combinados com uma avaliação precoce de eficácia (considerada nos objetivos secundários). Outro desenho possível é combinar a fase de escalonamento de dose com a fase de avaliação inicial de eficácia, por meio da expansão da coorte dos pacientes que receberam a dose considerada segura na etapa de escalonamento, possibilitando que os dados de eficácia dos pacientes do estudo Fase 2 sejam agrupados aos dados de eficácia dos pacientes do estudo Fase 3, resultando, portanto, em um desenho de estudo Fase 2/3.

As pequenas populações de pacientes também possibilitam que os pesquisadores experimentem projetos de ensaios clínicos inovadores, com envolvimento da Anvisa desde o início do processo, incluindo desfechos clínicos, novos ou substitutos, e ensaios de braço único, com utilização de dados de história natural da doença como grupo comparador (DJURISIC et al., 2017).

Ensaio clínicos randomizados são amplamente aceitos para fornecer as evidências mais confiáveis ao avaliar a segurança e a eficácia de uma nova intervenção e obter aprovações regulatórias (DOWNING et al., 2014), (HULLEY et al., 2015), (DJURISIC et al., 2017). No entanto, nem sempre será possível seguir rigorosamente as regras dos ensaios clínicos randomizados, principalmente para doenças raras que têm poucas ou nenhuma opção de tratamento eficaz disponível, sendo importante considerar outras medidas que

podem ajudar a melhorar a força da evidência científica aplicada ao desenvolvimento dos PTAs. Uma discussão que se apresenta é a utilização de dados de literatura para suportar decisões e prospecções de segurança, além de estudos de história natural que auxiliem na avaliação dos desfechos de eficácia propostos. No caso particular das terapias avançadas, as informações sobre o processo de fabricação e os critérios de liberação também são necessários para correlacionar adequadamente os resultados da literatura utilizados e as características exclusivas do produto (DJURISIC et al., 2017).

Princípios científicos válidos devem ser aplicados em todas as fases de desenvolvimento do PTA em relação à segurança, caracterização de componentes ativos, matérias-primas, materiais de partida e controle de qualidade do processo de fabricação. No caso de produto de terapia gênica *ex vivo*, por exemplo, células CAR-T, deve compor o dossiê para avaliação da Anvisa, a descrição da fonte de células, os mecanismos para obtenção de resultados da triagem clínica e laboratorial de doadores, métodos de coleta e processamento celular, condições de cultura celular e o procedimento para modificação genética de células (VITALE; STRATI, 2020). Extensos ensaios de segurança e caracterização das células modificadas devem incluir informações sobre identidade e viabilidade celular, percentual de subpopulações celulares, eficiência de transdução, longevidade da expressão gênica, integridade do transgene, estabilidade genética durante a proliferação *in vitro* ou diferenciação, número de cópias do transgene por célula transduzida, detecção da presença de vírus de replicação competente, além da avaliação de esterilidade, micoplasma e endotoxina (ABOU-EL-ENEIN; GRAINGER; KILI, 2018).

Uma etapa inicial no desenvolvimento de um PTG é a construção do vetor responsável pela entrega do gene de interesse à célula-alvo. Esse vetor deve ser testado e rigorosamente caracterizado. As informações fornecidas na documentação regulatória sobre a construção vetorial devem incluir a descrição dos componentes do vetor, sua fonte e derivação, dos sítios de restrição e de clonagem, dos elementos reguladores e outros, bem como a sua produção e purificação, identidade, qualidade, pureza e potência (ABOU-EL-ENEIN; GRAINGER; KILI, 2018). Desde as fases iniciais de desenvolvimento deve-se estabelecer a qualificação das metodologias analíticas para permitir a coleta de dados confiáveis e o desenvolvimento de critérios de aceitação adequados para o controle de qualidade das matérias-primas e materiais de partida (PIC/S, 2022), (WHO, 2022), (PIC/S, 2023).

Outro fator fundamental no processo de avaliação dos ensaios clínicos são as informações sobre as qualificações dos pesquisadores que supervisionam a administração do produto experimental e detectam e manejam os eventos adversos. Ademais, deve-se atentar para a padronização dos processos de preparação do produto antes da administração e o treinamento de todos os profissionais envolvidos (ANVISA, 2021b).

Quando a Anvisa recebe informações insuficientes na documentação ou incompreensíveis impedindo o entendimento e a avaliação adequada dos riscos e

potenciais benefícios, realizam-se as exigências regulatórias cabíveis. Para prosseguimento da análise regulatória, o patrocinador deve corrigir as deficiências identificadas ou suplementar informações. Situações críticas podem levar a não aprovação de ensaio clínico, por exemplo, se for detectado que os pacientes ou participantes de pesquisa serão expostos a riscos e danos irracionais e significativos.

Após a anuência pela Anvisa e atendidos todas as outras exigências legais brasileiras, o ensaio clínico pode iniciar, seguindo regras de Boas Práticas Clínicas (BPC), definido pelo *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)* (ICH, 2019), que o Brasil é membro. Anualmente o patrocinador deve enviar relatórios de monitoramento à Agência, incluindo experiências de eventos adversos e resumos parciais dos resultados obtidos. Ressalta-se ainda que os eventos adversos graves que ameaçam a vida e os óbitos devem ser oportunamente notificados à Agência, no prazo máximo de 7 (sete) dias, a contar da data do conhecimento do caso, e os demais eventos adversos graves ocorridos, notificados em até 15 (quinze) dias (ANVISA, 2021b).

Durante o processo avaliativo da Anvisa sobre determinados PTAs, uma abordagem caso a caso é aplicada a fim de garantir que requisitos nacionais e recomendações internacionais sejam atendidos de uma maneira apropriada.

Um PTA investigacional pode ser usado fora de um ensaio clínico, antes da sua aprovação de registro, por meio de programas assistenciais específicos, tais como acesso expandido (grupo de pacientes), uso compassivo (paciente específico) e fornecimento pós-estudo, mediante aprovação prévia e supervisão da Anvisa (ANVISA, 2013b). As exceções aplicadas ao uso de um PTA investigacional fora do ensaio clínico, conforme a Resolução da Anvisa 38/2013, são mostradas na **Tabela 3**.

**Tabela 3 – Principais conceitos de programas de acesso a produtos de terapias avançadas investigacionais. Brasil, 2023.**

<b>TIPO DE ACESSO</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
<b>Uso Compassivo</b>	Uso de um produto investigacional promissor, ainda sem registro na Anvisa, mas em qualquer fase de desenvolvimento clínico, destinado a um paciente específico com uma doença gravemente debilitante, que ameace sua vida, na ausência de uma alternativa terapêutica satisfatória.

TIPO DE ACESSO	DESCRIÇÃO
<b>Acesso Expandido</b>	Uso de um produto investigacional promissor, ainda sem registro na Anvisa, ou registrado, mas não disponível comercialmente no país, que esteja em um estudo de fase III em desenvolvimento ou concluído, destinado a um grupo de pacientes com doenças gravemente debilitantes ou em risco iminente de morte e sem alternativa terapêutica satisfatória.
<b>Uso pós-estudo</b>	Uso gratuito do produto desenvolvido, aplicável em casos de término do estudo ou quando a participação do paciente no estudo foi finalizada.

Fonte: Anvisa, RDC 38/2013

#### 6.4.4.2 Aspectos do Registro Sanitário

Um PTA só pode ser autorizado se o perfil benefício-risco for positivo, sendo os benefícios relacionados aos principais efeitos favoráveis dos desfechos clínicos primários e secundários, enquanto os riscos descrevem incidência, gravidade, duração, reversibilidade e relação dose-resposta de efeitos desfavoráveis e eventos adversos ao produto. Limitações de um estudo clínico relacionadas ao tamanho da amostra e representatividade da população alvo de pacientes devem ser adequadamente discutidas e serão consideradas na tomada de decisão (ANVISA, 2021).

A demonstração da segurança e da qualidade do produto requer a implementação de testes específicos, compendiais ou validados, que avaliam identidade; potência; pureza; esterilidade; qualificação e quantificação de impurezas, presença de micoplasmas; endotoxinas, vírus adventícios e outros (FDA, 2020), (EMA, 2021). A identidade do produto é demonstrada por ensaios específicos de identificação e sua distinção de qualquer outra substância. Os testes de potência, no que lhe concerne, devem indicar a capacidade específica do produto em atingir determinado resultado. Outro aspecto relevante, a pureza do PTA, pode ser definida como a capacidade de detectar elementos ou materiais estranhos, presentes após os processos de fabricação. O teste de pureza de um produto de terapia gênica, por exemplo, envolve ensaios para detecção de proteínas residuais do capsídeo viral, DNA residual de células hospedeiras, RNAs, vírus de replicação competente, sequências nucleotídicas indesejáveis, solventes, criopreservadores ou produtos auxiliares da produção e purificação, como citocinas, anticorpos, resíduos de antibióticos, meios de cultura, soros, outros (FDA, 2020), (EMA, 2021).

Para completar a caracterização do produto deve-se apresentar no dossiê de qualidade o programa de testes de estabilidade, de acordo com cada tipo de produto. Por exemplo, em um produto de terapia celular avançada e PTG *ex vivo*, inclui-se os testes de

contagem e de viabilidade celular, esterilidade e potência (EMA, 2021), (FDA, 2022b). Na **Tabela 4** apresentam-se sumariamente os documentos essenciais que devem ser disponibilizados à Anvisa para fins de registro de PTA.

**Tabela 4 – Principais documentos do dossiê documental para registro de produto de terapia avançada na Anvisa e exemplos de informações a serem discutidas. Brasil, 2023.**

Tipo de Documento	Tópicos principais a serem discutidos
Relatório de estudos não-clínicos	Evidência do efeito terapêutico pretendido (prova de conceito), dose segura e eficaz, segurança da via e frequência de administração, interação com tecidos (potenciais efeitos secundários), viabilidade, vida útil, biodistribuição, persistência, metabolismo, excreção, toxicidade (do produto, impurezas e excipientes), imunogenicidade, potencial tumorigênico, critérios usados na seleção de espécies <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> e modelos animais relevantes, entre outros.
Relatório de estudos clínicos	Estudos sobre segurança clínica, biodistribuição e enxerto, vida útil, enxerto ectópico, transformação oncogênica, estabilidade da linhagem celular, estudos adicionais sobre excreção e alteração de sequenciamento genômico, eficácia clínica para a indicação proposta, administração e esquema de dosagem pretendidos, eventos adversos detectados e dados de suporte estatístico, dentre outros.
Relatório de Qualidade do Produto	Materiais de partida, matérias-primas e excipientes utilizados, materiais necessários para a produção de vetores e manipulação genética de células, análise de sequenciamento genético, atenuação de virulência e descrição de tropismos, informações sobre seleção e coleta de material de origem humana, informações sobre o componente ativo e produto final, metodologias analíticas empregadas, descrição e fluxos das etapas de produção, relatórios de validação de etapas críticas, relatórios de validação de métodos analíticos, mecanismos de rastreabilidade, validação de transporte, estudos de estabilidade, procedimentos de armazenamento, dentre outros.  Relatório de análise de aprovação emitido por outras autoridades competentes, quando aplicável.  Certificado de BPF para o fabricante do componente ativo e do produto final
Outros	Propostas para orientação de uso a profissionais de saúde e pacientes (informações do produto - "bula")  Descrição da embalagem primária e secundária  Programa de Gerenciamento de Risco do Produto para uso populacional  Estratégias para o monitoramento a longo prazo  Mecanismos de distribuição, logística e exportação/importação, quando aplicável

Fonte: Anvisa, RDC 505/2021

Um processo de registro padrão de PTA é concedido quando as informações sobre

a qualidade são completas e os dados de comprovação de eficácia e segurança são inequívocos e baseados em ensaios clínicos estatisticamente significativos no momento da concessão da autorização sanitária. Este tipo de aprovação baseada em estudos com grande números de dados robustos parecer ser impossível atualmente visto as indicações prevalentes em doenças raras ou sem alternativas terapêuticas.

Em caráter excepcional, no Brasil definiu-se a possibilidade do registro de PTA concedido sob determinadas condições que necessite de dados e provas adicionais comprobatórias de eficácia clínica a longo prazo (ANVISA, 2021). Neste caso, o PTA deve obrigatoriamente atender a uma necessidade clínica com inexistência de tratamento ou oferecer uma vantagem terapêutica aos tratamentos disponíveis. Adicionalmente, deve-se avaliar se o produto se propõe ao atendimento de condição grave ou rara, ou em situações de risco à vida, ou em emergências de saúde pública. A excepcionalidade se dá quando o benefício da disponibilidade imediata supera os riscos do produto e o fato de ainda serem necessários dados adicionais comprobatórios de sua eficácia clínica a longo prazo (ANVISA, 2021). Evidências obtidas por meio de desfecho clínico substituto, como um biomarcador, em vez de medida terapêutica direta, podem ser aceitas para um registro sob condições, desde que o desfecho substituto esteja adequadamente validado. Em alguns casos serão necessários ensaios clínicos adicionais, com desfechos clínicos reais, que podem estar em andamento ou previstos de serem conduzidos, cujos resultados poderão ser apresentados em datas definidas como compromissos firmados entre o detentor do registro e a Anvisa. É necessário avaliar se o detentor do registro tem condições e planejamento de fornecer dados e informações, anualmente à Anvisa, pelo tempo de monitoramento estabelecido. A empresa deve apresentar as estratégias adotadas, por exemplo, os estudos clínicos observacionais de acompanhamento, que subsidiarão as reavaliações periódicas de acompanhamento da relação benefício-risco do PTA. O registro de um PTA tem validade de 5 (cinco) anos e aqueles aprovados sob condições devem ser monitorados anualmente com execução de Termo de Compromisso (ANVISA, 2021). Por exemplo, os dois produtos de terapia gênica registrados na Anvisa, no ano de 2020 (Luxturna® e Zolgensma®) e os dois registrados em 2022 (Kymriah® e Carvykti®) (ANVISA, 2023), para tratamento de doenças raras e sem alternativas terapêuticas no estágio da doença em que foram indicados, respectivamente, foram concedidos sob condições com obrigações e termos de compromissos que se estendem por 15 anos, exigindo monitoramento e reavaliações anuais até esta data (ANVISA, 2023).

Esta modelagem regulatória já vem sendo aplicada pelas autoridades reguladoras dos Estados Unidos, Europa e Japão com mecanismos de aprovações aceleradas, condicionais ou provisórias para produtos de terapias avançadas, em circunstâncias específicas (EMA, 2013), (FDA, 2023). A Agência Reguladora do Japão, *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency* (PMDA), também adotou a aprovação condicional em sua legislação para autorizar os produtos de terapias avançadas desde que comprovado sua

segurança e eficácia ( dados de eficácia de estudos de Fase 2 ou Fase 2/3), com necessidade de confirmação a longo prazo, portanto, os respectivos produtos ainda devem ser submetidos aos estudos clínicos confirmatórios (SIETSEMA et al., 2018).

Além da aprovação condicional a Anvisa estabeleceu a categoria prioritária de produtos, com rito de avaliação acelerada, que compreendem PTA destinados ao tratamento de doenças raras, negligenciadas; para condições sérias e debilitantes em que não há alternativas terapêuticas disponíveis; e para emergências em saúde pública (ANVISA, 2021). Nesta categoria reduziu-se o período de avaliação da Anvisa de 365 dias para 120 dias. A ideia central do processo de aceleração regulatória é garantir que os pacientes, em situações específicas, tenham oportunidades de se beneficiar de novos tratamentos, o mais rápido possível. Outro tipo de PTA que pode ser enquadrado nesta categoria prioritária é aquele que se destina a oferecer nova indicação terapêutica à população pediátrica. Também tem prioridade de análise os PTAs que tiveram ensaios clínicos iniciais (Fase 1 e 2), desenvolvidos no Brasil, com pacientes brasileiros. Em todas as situações de solicitação de análise acelerada, os solicitantes do registro devem apresentar em seu dossiê justificativas adequadas para o enquadramento nestas categorias. Além disso, é recomendável que um diálogo inicial pré-submissão entre empresa e Agência já tenha sido iniciado. Importante ressaltar que o registro sob condições ou acelerado possui as mesmas exigências de qualidade de um registro padrão necessárias para demonstrar que o processo de fabricação é robusto, reproduzível, validado e controlado por meio da Certificação de BPF (ANVISA, 2021), (ANVISA, 2021c).

Os tipos de registro de PTAs aplicados no Brasil são mostrados na **Tabela 5**:

**Tabela 5 – Tipos de registro sanitário de produto de terapia avançada na Anvisa. Brasil, 2023.**

<b>Tipos de Registro</b>	<b>Prazo de avaliação</b>	<b>Condições</b>
Ordinário	365 dias	Não atender as condições prioritárias e condicionais.
Prioritário	120 dias	Doenças raras, doenças negligenciadas, emergentes ou re-emergentes, emergências de saúde pública, condições graves sem alternativas terapêuticas disponíveis no Brasil. Uma nova indicação terapêutica para a população pediátrica. Ter realizado ensaios clínicos de Fase 1 ou 2 no Brasil.
Sob condições	120 dias	Evidências preliminares indica segurança e eficácia em doenças graves ou doenças debilitantes raras, ou situações com risco de vida, ou emergências de saúde pública. Necessita dados adicionais confirmatórios de segurança e eficácia, mediante monitoramento a longo prazo, acordado em Termo de Compromisso.

Fonte: Anvisa, RDC 505/2021

A despeito do tipo de registro concedido e das condições de monitoramento acordadas, qualquer alteração significativa dos dados submetidos à Anvisa deve ser notificada e em determinadas ocasiões previamente aprovada pela Agência antes de sua implementação. Este processo de manutenção das atualizações do registro junto a Agência é de fundamental importância para permitir dinamicidade no ciclo de vida do produto e, simultaneamente, garantir controle regulatório (ANVISA, 2020).

Após a concessão de registro do PTA, podem ser necessários estudos para fornecer evidências contínuas do equilíbrio risco-benefício positivo, com dados do uso real em pacientes. Os estudos pós-registro são estratégias de desenvolvimento contínuo do produto, que incluem estudos clínicos para nova indicação, ampliação da população alvo, comparabilidade do produto após mudanças de fabricação, validação de desfechos clínicos substitutos, demonstração de superioridade a outros tratamentos, dentre outros (WALLACH et al., 2018).

No caso de aprovação condicional ou acelerada é obrigatório a realização de estudos pós-registros para obtenção de dados confirmatórios de eficácia e segurança a longo prazo para a concessão do registro definitivo ou ordinário. O maior desafio das autoridades reguladoras é buscar o equilíbrio entre a aprovação rápida com foco na oportunidade do acesso e a garantia da geração de evidências suficientes sobre seus benefícios e riscos (KESSELHEIM et al., 2015). Da mesma forma que se faz inúmeras críticas à lentidão das decisões regulatórias frente aos produtos estratégicos, por exemplo, para doenças raras (VALDEZ; GROSSE; KHOURY, 2016), há também críticos sobre as vias aceleradas e condicionais que facilitam a aprovação de medicamentos com apenas evidências de

eficácia clínica em poucos pacientes (KESSELHEIM et al., 2015). Essa discussão torna-se importante no campo das terapias avançadas visto que estão sendo desenvolvidas e aprovadas majoritariamente para doenças raras e sem alternativas terapêuticas. Neste sentido, os PTAs no Brasil e no mundo são aprovados por essas vias condicionais e aceleradas, com adicional ainda sobre as incertezas próprias da sua natureza técnica e inovadora que por si, exigem também estudos de acompanhamento a longo prazo.

Um fabricante deve descrever qualquer mudança no produto, independentemente se ocorreu antes ou depois do registro. A mudança no processo de fabricação deve ser avaliada e o produto resultante comparado com o produto existente para garantir que a mudança não alterou a segurança, a pureza, a potência ou a integridade do produto terapêutico, ou quaisquer outras características de qualidade que comprometa seu desempenho clínico (EMA, 2013).

Os estudos de comparabilidade podem ser baseados em uma combinação de estudos *in vitro* ou *in vivo*. A avaliação de farmacocinética ou farmacodinâmica; toxicidade em animais, testes clínicos e outros, podem ser necessários a depender do alcance da alteração ocorrida no processo de fabricação. A comparabilidade do produto deve ser demonstrada por meio de análises comparativas dos lotes dos produtos fabricados conforme os procedimentos antigos e os novos (PIC/S, 2022). Nestes casos, a Anvisa avalia e determina, mediante os resultados apresentados, se os dados de comparabilidade são suficientes ou se estudos adicionais serão necessários. Exemplos de mudanças que exigiriam um estudo de comparabilidade incluem alteração no local de fabricação ou alterações críticas nos fluxos produtivos; mudanças nos bancos de células ou de vírus; modificação do vetor; alterações na cultura celular, isolamento ou purificação; mudanças no recipiente de armazenamento ou na formulação do produto, dentre outras (PIC/S, 2022).

#### 6.4.4.3 **Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF)**

Outros requisitos que devem estar completamente definidos no registro são os atributos críticos da qualidade e a Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF), emitida pela Anvisa, para a fabricação do componente ativo e do PTA final.

Elementos principais das BPFs incluem: manutenção de registros detalhados, procedimentos operacionais padrão (POP), programa de controle de qualidade e de ensaios analíticos, qualificação de fornecedores e de equipamentos, validação de processos, programa de qualificação e de treinamento de pessoal, certificação de estruturas e instalações e monitoramento ambiental. Os estudos de estabilidade dos produtos intermediários e finais devem ser apropriados para definir o prazo de validade e o sistema de envase proposto (EMA, 2013), (PIC/S, 2022). A adesão total às BPFs, exigidas no registro sanitário, proporciona qualidade e segurança do processo e permite um

desempenho reprodutível e consistente dos lotes de produtos comerciais.

Com a RDC 214/18 (ANVISA, 2018), a Anvisa estabeleceu a primeira norma técnica sobre as Boas Práticas de Fabricação em Produtos de Terapias Avançadas, em conjunto com as Boas Práticas em Células, que posteriormente, em 2021, foi atualizada (ANVISA, 2021c). A referida normativa é uma proposta estratégica para aplicação em conjunto com as normas de boas práticas de fabricação de medicamentos, considerando a necessidade de adaptações nos processos de produção dos produtos de terapias avançadas. Com a publicação do *PIC/s Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products, Annex 2A: Manufacture of advanced therapy medicinal products for human use* (PIC/S, 2022), aplicado especificamente aos PTA, os países membros, incluindo o Brasil, deverão internalizar o referido documento para harmonizar com as autoridades sanitárias que compõe o *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)*. A recomendação do Guia PIC/s é a utilização do Anexo 2A para as Boas Práticas de Fabricação de Produtos de Terapias Avançadas, com elementos e necessidades específicas à natureza dos PTAs. O Guia orienta a aplicação em conjunto, no que couber, com a Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos, Boas Práticas em Células Humanas, Boas Práticas de Tecidos e Boas Práticas no Ciclo do Sangue (PIC/S, 2022).

As BPFs para produtos de terapias avançadas abordam cenários de fabricação inovadores e complexos, com elementos de controle baseados em riscos para a fabricação e teste de controle. As BPF garantem que esses novos produtos terapêuticos sejam produzidos e controlados de forma consistente, de acordo com padrões de alta qualidade, visando o benefício e a segurança dos pacientes (PIC/S, 2022).

#### **6.4.4.4 Uso de Produto de Terapia Avançada não aprovado, em situação excepcional**

A normativa brasileira definiu a possibilidade de uso de PTA experimental, em situação emergencial e excepcional, sob responsabilidade médica, com prescrição específica para determinado paciente (ANVISA, 2021). Este recurso regulatório foi desenvolvido no Brasil para situações excepcionais em que determinado produto, não estando em desenvolvimento clínico aprovado pela Anvisa, possa ser usado emergencialmente a um paciente específico, em condição de risco de vida no tratamento de doenças, sem nenhuma alternativa terapêutica disponível no País. Este tipo de produto experimental não pode ser comercializado. O uso de produto excepcional deve ser baseado em racional terapêutico e experiência clínica prévia do médico. Além do controle individual realizado pelo profissional responsável, é fundamental que o produto seja fabricado sob princípios de BPF para todas as operações de fabricação do componente ativo e do

produto final. Por exemplo, o uso de PTG *ex vivo* experimental deve ser autorizado previamente pela Anvisa, individualmente, com submissão de informações técnicas sumarizadas, além do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), assinado pelo médico, pelo paciente ou seu responsável legal (ANVISA, 2021).

Ao contrário do uso comum, os termos “uso excepcional” e “uso compassivo” não são sinônimos (UCSF, 2023).

O **uso compassivo** refere-se ao uso terapêutico de um produto sob investigação, em fase de pesquisa clínica, em um paciente específico para tratamento compassivo de uma doença gravemente debilitante que ameace a vida e na ausência de uma alternativa terapêutica satisfatória, desde que não esteja elegível para participar da pesquisa clínica. Neste caso, o produto investigacional foi aprovado por autoridade sanitária para ser usado em seres humanos sob controle de um ensaio clínico, no entanto, o referido paciente não se enquadra nos critérios de inclusão. Como o paciente não atende aos requisitos de inclusão no estudo, os dados do uso compassivo não podem ser usados nas estatísticas do ensaio controlado. No entanto, em que pese se tratar de um produto ainda sem as comprovações completas de segurança, eficácia e qualidade, o referido produto já passou por avaliações mínimas de riscos por uma autoridade reguladora para uso em seres humanos. Os pacientes devem sempre ser considerados para inclusão em ensaios clínicos antes de serem oferecidos programas de uso compassivo (ANVISA, 2013b), (FDA, 2020), (EMA, 2023).

Com relação ao **uso excepcional**, sob a ótica da emergência, o produto ainda não está aprovado para ser usado em um ensaio clínico. Nos Estados Unidos este tipo de situação é chamado de “*Right to Try*” (FDA, 2023). Em geral, o produto experimental passou por algum tipo de estudos pré-clínicos *in vitro*, em animais ou mesmo em humanos com resultados promissores. O uso excepcional pressupõe uma plausibilidade clínica, tanto do ponto de vista de eficácia quanto de segurança, e que a emergência de vida do paciente não poderá esperar a aprovação do ensaio clínico. A Lei americana chamada “*Right to Try Act*” estabelece a possibilidade de uso de determinados produtos não aprovados, fora do programa de acesso expandido ou uso compassivo regulamentados pela FDA, para pacientes diagnosticados com doenças ou condições de risco de vida. Este processo excepcional deve estar sob responsabilidade de um médico. O FDA deve ser informado, não cabendo autorização para o uso (AGARWAL; SALTZ, 2019), (FDA, 2023).

Outro termo que causa confusão é quando se utiliza um medicamento fora das indicações aprovadas (“**uso off label**”) no seu registro sanitário. Neste caso o produto já foi registrado para uso comercial, comprovando sua qualidade, eficácia e segurança. No entanto, sob responsabilidade médica, o produto é usado a determinado paciente numa indicação, dosagem, faixa etária e outras situações não estudadas em ensaios clínicos.

A Europa desenvolveu um modelo regulatório específico que permite o uso de PTAs sob condições especiais, para pacientes individuais tratados em ambiente hospitalar, que

denominam **isenção hospitalar** (do inglês, *hospital exemption*). O PTA deve ser produzido de forma não rotineira de acordo com padrões de qualidade e usado em um hospital sob a responsabilidade exclusiva de um médico, para um produto feito sob medida para determinado paciente. Este tipo de autorização é concedida pela autoridade competente de cada país europeu com padrões rigorosos para rastreabilidade, farmacovigilância e qualidade (boas práticas de fabricação) (HILLS et al., 2020). Este tipo de regulação de produtos foi desenvolvida, principalmente na Europa, para fornecer tratamentos a pacientes não incluídos ou inelegíveis para participar de ensaios clínicos ou nos quais os PTAs não eram considerados adequados para desenvolvimento comercial (SÁNCHEZ-GUIJO et al., 2023).

#### 6.4.4.5 Aspectos gerais da Farmacovigilância

A farmacovigilância relaciona-se com a identificação, a avaliação, a compreensão e a prevenção de eventos adversos ou quaisquer problemas relacionados ao uso de medicamentos comercializados no mercado brasileiro. Inclui no escopo da farmacovigilância os eventos adversos oriundos de desvios da qualidade, inefetividade terapêutica, erros de medicação, uso de medicamentos para indicações não aprovadas no registro, uso abusivo, intoxicações, interações medicamentosas, dentre outros (ANVISA, 2023). Processos da farmacovigilância devem ser aplicados aos PTA registrados na Anvisa, bem como outros mecanismos de monitoramento pós-uso.

Devido à sua inovação, os PTAs geralmente se beneficiam de vias de aprovação por avaliações aceleradas e condicionadas, bem como as limitações inerentes aos ensaios clínicos adaptados, destacando assim, particularmente, a necessidade de gerar evidências pós-comercialização sobre seu perfil de risco-benefício, fortalecendo sobremaneira a importância de elementos de farmacovigilância atuantes (ORZETTI et al., 2022). Na maioria dos produtos de terapia gênica se utiliza um tratamento único, portanto, a sustentabilidade da eficácia é uma questão que somente poderá ser respondida pelo acompanhamento da eficácia a longo prazo. Além dos aspectos de eficácia a longo prazo, a questão do monitoramento da segurança do produto em uso comercial também se destaca no campo da farmacovigilância clássica, ganhando importância fundamental nos PTAs.

O Plano de Gerenciamento de Risco (PGR) é um requisito imprescindível no dossiê de registro (ANVISA, 2021), devendo abordar elementos que envolvam a especificação do perfil de segurança e a identificação dos riscos potenciais a serem gerenciados ou estudados no pós-registro. O PGR para PTA deve abordar também os riscos específicos associados, por exemplo, aos doadores de material de partida, aos procedimentos cirúrgicos e de administração, aos riscos envolvidos na transmissão de vetores na linhagem germinativa e

outros (EMA, 2009).

## **6.5 Conclusão/Perspectivas**

Os produtos de terapias avançadas, como produtos biotecnológicos inovadores, apresentam um potencial de risco mais elevado do que outros produtos terapêuticos com necessidades também inovativas em modelos e instrumentos regulatórios. A aprovação de um marco regulatório específico para produtos de terapias avançadas no Brasil, que inclui regras para os ensaios clínicos, registros e a condução de boas práticas de fabricação (BPF) pode promover o acesso a produtos devidamente regulados no país. Além disso, a incorporação de conceitos harmonizados internacionalmente com as principais agências reguladoras mundiais, além de inserir o Brasil na rota internacional de desenvolvimento do PTAs, instrumentaliza a sociedade científica brasileira e permite o crescimento do desenvolvimento nacional destes produtos.

A Anvisa tem fundamental missão de promover regulação inteligente para atender às inovações envolvidas nos produtos de terapias avançadas, com objetivo de permitir aos pacientes acesso a produtos novos eficazes, seguros e de qualidade. Também é papel da Agência fornecer com transparência e clareza as informações necessárias aos pacientes e profissionais da saúde, com base na ciência regulatória e nas informações do registro, diminuindo assim as assimetrias de informações. A avaliação regulatória baseia-se em fundamentação científica robusta e em análise constante do perfil benefício/risco, garantindo a segurança dos pacientes, mas também possibilitando o desenvolvimento de produtos inovadores. Estratégias para melhorar a compreensão dos aspectos regulatórios dos produtos de terapias avançadas preveem a participação da Anvisa em fóruns científicos, discussões setoriais e diálogos com pesquisadores e pacientes, na perspectiva de desenvolver as melhores práticas regulatórias com foco em impacto positivo na vida dos pacientes brasileiros.

Devido à complexidade e inovação de produtos de terapias avançadas, mecanismos transformadores também são necessários para avaliar e controlar os benefícios e riscos em um sistema de regulação eficaz. Neste cenário, é de grande importância que as principais agências reguladoras e a Organização Mundial de Saúde (OMS) promovam processos de harmonização regulatória e cooperação estratégica para fortalecer as autoridades reguladoras locais nos seus processos de avaliação de riscos e benefícios para promover de forma oportuna e eficiente ao acesso à população.

# 7 TERAPIA GÊNICA: ELEMENTOS CONCEITUAIS E OS DESAFIOS PARA A GESTÃO DO RISCO

## 7.1 Introdução

Em 1953, Watson e Crick ([WATSON; CRICK, 1953](#)) relataram a estrutura molecular do DNA e impulsionaram cientistas do mundo inteiro na busca por desenvolver tecnologias de manipulação do material genético de células. A terapia gênica faz parte dessa revolução genética que está atualmente transformando a medicina moderna.

Terapia gênica em seu sentido comum e científico pode ser definida como uma intencional e esperada alteração permanente, com finalidade terapêutica, em uma sequência específica de DNA do genoma celular, ou seja, o conjunto de ácidos desoxirribonucleicos presentes em uma célula ([SHERKOW; ZETTLER; GREELY, 2019](#)).

O conceito de terapia gênica tem sido reportado na literatura científica há décadas como um processo de introdução de novo material genético nas células de um indivíduo com a intenção de produzir um benefício terapêutico ([MIZUTANI et al., 1995](#)) ([SANDHU; KEATING; HOZUMI, 1997](#)) ([WIRTH; PARKER; YLÄ-HERTTUALA, 2013](#)) ([SHERKOW; ZETTLER; GREELY, 2019](#)). Ted Friedmann e Richard Roblin, em 1972, propuseram pela primeira vez uma definição de “terapia gênica” como aquela que determina um “DNA exógeno ‘bom’ sendo usado para substituir o DNA defeituoso em pacientes que sofrem de defeitos genéticos ([FRIEDMANN; ROBLIN, 1972](#)).

A terapia gênica está surgindo como uma estratégia potencial para o tratamento de diversas doenças, incluindo doenças cardiovasculares, oftalmológicas e distúrbios do sistema nervoso central ([SAHEL; ROSKA, 2013](#)) ([CHULPANOVA et al., 2018](#)) ([KONIALI; LEDERER; KLEANTHOUS, 2021](#)).

Vários mecanismos de ação estão sendo explorados para intervir diretamente no nível genético e tratar doenças, seja através da introdução de genes terapêuticos, remoção de material genético indesejado ou alteração do DNA, ou RNA defeituosos ([GHOSH et al., 2022](#)). A tecnologia envolve procedimentos em que genes terapêuticos são transferidos para o paciente por meio da utilização de vetores. Esses vetores podem ser aplicados diretamente no indivíduo, chamando-se assim terapia gênica *in vivo*. Nesta modalidade podem ser utilizados vetores plasmídicos, que possuem uma capacidade eficiente de transfecção *in vivo*, ou vetores virais, como os vetores de adenovírus (Ad), que possuem capacidade de transdução *in vivo*. Além disso, outra abordagem na terapia genética é a terapia gênica *ex vivo*, em que células do paciente são modificadas geneticamente antes de serem reintroduzidas no seu organismo ([HAN; VERGANI; REIS, 2021](#)). Com o avanço

da tecnologia para a edição de genomas, as terapias gênicas podem envolver também a correção de genes em vez da adição de genes (KONIALI; LEDERER; KLEANTHOUS, 2021).

Com o desenvolvimento de métodos eficientes e seguros de transferência de genes, por exemplo, dos vetores virais no início dos anos 1980, proporcionaram início dos estudos clínicos em humanos (WIRTH; PARKER; YLÄ-HERTTUALA, 2013). Em 1990, a *Food and Drug Administration (FDA)*, dos Estados Unidos, aprovou pela primeira vez um ensaio clínico com terapia gênica. Duas pacientes pediátricas com deficiência de adenosina desaminase receberam leucócitos autólogos modificados *ex vivo*. As células foram modificadas para expressar o gene normal da adenosina desaminase. Embora o tratamento tenha se mostrado seguro, sua eficácia não foi demonstrada (FISCHER; HACEIN-BEY-ABINA; CAVAZZANA-CALVO, 2010) .

No entanto, em 1999, o falecimento do paciente Jesse Gelsinger, após uso de terapia gênica para a deficiência parcial de ornitina transcarbamilase (OTC), na Universidade da Pensilvânia, nos Estados Unidos, preocupou sobremaneira a comunidade científica e regulatória mundial. Ao administrar uma dose muito alta de um vetor de adenovírus observou-se uma resposta imunológica imediata e, após apenas alguns dias, o paciente morreu devido à falência de múltiplos órgãos (STOLBERG, 1999), (WILSON, 2010). Relatos da época, apontam várias falhas preocupantes na condução do referido ensaio clínico, por exemplo, os pesquisadores haviam informado anteriormente à FDA que iriam aprimorar os critérios de elegibilidade dos participantes e não o fizeram. Além disso, anteriormente ao caso, dois pacientes sofreram efeitos colaterais graves e os pesquisadores não informaram a agência reguladora e nem suspenderam o estudo. Descobriu-se, ainda, que os resultados dos testes clínicos prévios de Jesse mostraram que ele apresentava uma função hepática deficiente, indicando que ele possivelmente não deveria ter recebido a injeção do produto de terapia gênica experimental. Ademais, observou-se que nos estudos não clínicos dois macacos participantes morreram após altas doses do produto experimental. Também foi apontado haver falhas no termo de consentimento livre e esclarecido aos participantes de pesquisa, onde não mencionava sobre eventos adversos graves que ocorreram em outros pacientes. Os relatos descreveram que as investigações chamaram a atenção para os problemas mais amplos na supervisão de experimentos de terapia gênica e pesquisas em humanos de forma geral. Por exemplo, a FDA e o *National Institutes of Health (NIH)* revelaram que 691 voluntários em experimentos de terapia gênica haviam morrido ou adoecido nos sete anos anteriores à morte de Jesse; apenas 39 desses incidentes haviam sido relatados prontamente às autoridades sanitárias competentes nos Estados Unidos. A FDA fortaleceu o monitoramento dos ensaios clínicos, aumentou o número das inspeções e criou um sistema para relatar eventos adversos graves, entre outras medidas. As explicações científicas posteriores descreveram que provavelmente o adolescente havia experimentado um

fenômeno imunológico de aumento dependente de anticorpos devido à possível exposição prévia ao adenovírus, utilizado na construção do vetor viral do produto investigacional em ensaio clínico (WILSON, 2010), (RINDE, 2019).

Outro caso relatado na literatura refere-se ao produto de terapia gênica ex vivo para o tratamento imunodeficiência combinada grave ligada ao cromossomo X (*X-linked severe combined immunodeficiency - SCID*), utilizado em 10 crianças participantes de ensaio clínico, em 2002. Os tratamentos foram eficazes, mas, dentro de alguns anos, quatro das crianças desenvolveram leucemia e uma delas morreu. Os vetores retrovirais utilizados haviam se integrado próximo a oncogenes, aparentemente desencadeando a leucemia, configurando efeitos de longo prazo (HACEIN-BEY-ABINA et al., 2008), (RINDE, 2019).

Os ensaios clínicos com produtos de terapia gênica são geralmente realizados em participantes gravemente doentes, sendo difícil determinar se as mortes e as reações adversas graves ocorridas durante os estudos foram causadas pelo produto de terapia gênica ou se os participantes simplesmente sucumbiram devido à sua doença. Além disso, a ação a longo prazo dos produtos no organismo precisa ser devidamente observada (SOMIA; VERMA, 2001).

Os primeiros produtos de terapia gênica aprovados para uso populacional (comercial) ocorreram por autoridade sanitária da China em 2003 e 2005 para tratamento oncológico (Gendicine® e Oncorine®, respectivamente) (PENG, 2005). A aprovação do primeiro produto de terapia gênica para uso comercial no Ocidente aconteceu em 2012, quando a Europa aprovou o Glybera®, um produto baseado em vetor de adenovírus para o tratamento da deficiência de lipase lipoproteica (YLÄ-HERTTUALA, 2012). Isso representou um marco regulatório significativo, demonstrando a maturidade dessa nova tecnologia em ascensão e incentivando seu desenvolvimento clínico.

O conceito da terapia gênica torna-se dinâmico à medida que a ciência avança. A ideia clássica inicial de introduzir um gene saudável em uma célula se expande para uma ampla gama de alternativas terapêuticas e/ou profiláticas. Por exemplo, o uso da mutagênese direcionada com oligonucleotídeos exógenos para formar hélices triplas de DNA ou terapias de RNA antisense. Também é importante destacar que a terapia gênica não é mais vista apenas para doenças monogênicas (KACZMAREK; KOWALSKI; ANDERSON, 2017).

O campo das terapias gênicas passa por uma grande expansão nos últimos anos com potencial de uso destes tipos de medicamentos especiais para medicina personalizada, imunoterapia, doenças genéticas, infecciosas e crônicas. As grandes empresas farmacêuticas de biotecnologia se dedicam ao desenvolvimento das tecnologias baseadas em ácidos nucleicos, tendo ainda a segurança e os mecanismos de entrega na célula-alvo do gene de interesse como os principais desafios (KACZMAREK; KOWALSKI; ANDERSON, 2017).

Desafios e incertezas científicas e tecnológicas para alcançar produtos de terapia

gênica seguros, de qualidade e eficazes demandam intensa colaboração entre cientistas, desenvolvedores e reguladores na busca por garantir resultados clinicamente relevantes.

## 7.2 Objetivo

O objetivo deste estudo é descrever os elementos conceituais aplicados aos produtos de terapia gênica e seus determinantes regulatórios nacionais e internacionais.

## 7.3 Métodos

As principais questões científicas que se apresentam neste estudo referem-se as características estruturantes dos produtos de terapia gênica para a compreensão de sua natureza técnica e seus determinantes do ponto de vista regulatório. Trata-se de pesquisa de revisão narrativa, por meio de abordagem exploratória em dados e informações de conceitos e caracterizações dos produtos de terapia gênica, disponíveis em documentos oficiais das autoridades reguladoras: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Brasil; *European Medicines Agency (EMA)*, da União Europeia e *Food and Drug Administration (FDA)*, dos Estados Unidos. Foram selecionados documentos relacionados à regulação de produtos de terapia gênica, utilizando-se o descritor em inglês, “*advanced therapy medicinal products*” e “*gene therapy*”, bem como em português “produtos de terapias avançadas” e “terapia gênica”, focando na busca de conceitos, características e elementos relevantes para a compreensão de riscos e segurança aplicáveis. Os dados foram extraídos e organizados em planilha Excel, para sistematização e melhor compreensão. A análise qualitativa e quantitativa dos dados realizou-se de forma intuitiva e indutiva durante o levantamento do referencial organizado sistematicamente (LAVILLE; DIONNE, 2008).

Foi utilizado também uma revisão narrativa da literatura científica com busca nas bases de dados eletrônicas MEDLINE (via PubMed) e Scopus (via Scival). As bases de dados foram selecionadas por serem abrangentes e cobrir uma ampla gama de disciplinas relacionadas à saúde e ao desenvolvimento de tecnologias em saúde. A elaboração do banco de dados, utilizando termos e descritores da MeSH (*Medical Subject Headings*), operacionalizado e adaptado aos requisitos específicos de cada banco de dados, utilizando os termos em inglês “*gene therapy*” OR “*genetic therapy*” AND “*regulatory aspects*”. Optou-se por documentos mais recentes, de preferências dos últimos 10 anos, pelo intenso avanço tecnológico e regulatórios observado na última década, cumprindo os objetivos de discussão dos conceitos e características atualizados dos produtos de terapia gênica.

## 7.4 Resultados

### 7.4.1 Conceitos Regulatórios em Terapia Gênica

A Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2017) aponta aspectos essenciais na compreensão dos produtos terapêuticos que se utilizam de transferência gênica (do inglês *gene transfer medicinal products*):

- (i) a distinção entre a transferência *in vivo* ou a transferência *ex vivo*,
- (ii) a natureza do gene, vetor de expressão ou constructo de expressão, e
- (iii) a característica do vetor de transferência gênica usado na modificação genética, podendo ser um vetor viral, um vetor não viral ou mesmo o ácido nucleico “nu”.

Recentemente a OMS (WHO, 2023) disponibilizou para consulta popular documento que pretende estabelecer convergência regulatória sobre os produtos de terapia celular e gênica. A discussão da definição de produto de terapia gênica proposta no referido documento descreve que:

“Produto de terapia gênica: um medicamento contendo ácidos nucleicos (por exemplo, plasmídeos, RNA mensageiro (mRNA) ou DNA) que têm a finalidade de regular, reparar, substituir, adicionar ou excluir uma sequência genética. O efeito terapêutico pretendido depende do gene codificado utilizado. Os produtos de terapia gênica incluem aqueles que contêm vetores não virais (por exemplo, nanopartículas lipídicas) ou vetores virais que são utilizados *in vivo*, bem como células que foram modificadas por esses tipos de vetores *ex vivo*.”

O efeito terapêutico de um produto de terapia gênica está diretamente ligado ao ácido nucléico. O mecanismo de ação pode ser regular, reparar, substituir, adicionar, excluir ou editar uma sequência genética. Os mecanismos de entrega do gene terapêutico incluem vetores não virais (plasmídeos) e vetores virais que são usados *in vivo*, bem como em células coletada para a modificação em laboratório, *ex vivo*.

Conforme a Farmacopeia dos Estados Unidos (2023) (UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP), 2023), os produtos de terapia gênica permitem a administração de ácidos nucleicos para modificar o material genético das células. Esses produtos podem ser amplamente classificados com base na sua abordagem de entrega. Os vetores virais consistem em vírus geneticamente modificados, com a inserção de genes de interesse, geralmente sem os mecanismos de autorreplicação *in vivo*. Também pode-se ter ácidos nucleicos recombinantes em uma formulação simples (DNA desprotegido) e ainda formulados com agentes que aumentam sua capacidade de penetrar na célula, como os lipossomos, nanopartículas lipídicas. Exemplos de estratégias terapêuticas utilizadas nos produtos de terapia gênica são a substituição gênica de curto ou longo prazo, a morte celular direta (por exemplo, com uso de vírus oncolíticos recombinantes), a imunoterapia

(por exemplo, células T transduzidas com antígenos tumorais), o uso de genes condicionalmente letais (efeitos letais em células mediante substâncias específicas), disrupção gênica por meio de RNAs antissenso, ribozimas e RNAs inibitórios (RNAi) expressos quando combinados e projetados por um vetor, anticorpos intracelulares (“intrabodies”) com vetor codificando um anticorpo de cadeia única contra uma proteína tumoral ou viral, respectivamente, dentre outras estratégias ([UNITED STATES PHARMACOPEIA \(USP\), 2023](#)).

Na mesma direção, a Farmacopeia Europeia ([EUROPEAN PHARMACOPEIA \(EP\), 2008](#)) definiu produto de terapia gênica como aquele obtido por meio de um conjunto de processos de fabricação destinados à transferência *in vivo* ou *ex vivo*, de um gene profilático, diagnóstico ou terapêutico (ou seja, um fragmento de ácido nucleico de interesse) para células humanas ou animais, e sua subsequente expressão.

A estratégia da **terapia gênica ex vivo** envolve a modificação das células em cultura laboratorial. Essas células podem ser uma linhagem celular estabelecida (células alogênicas) ou derivadas do próprio paciente (células autólogas). Elas são modificadas com o gene de interesse e expandidas antes de serem infundidas no paciente ([SOMIA; VERMA, 2001](#)). Segundo a USP (2023) ([UNITED STATES PHARMACOPEIA \(USP\), 2023](#)) quando a introdução de ácido nucleico recombinante ocorre *ex vivo*, a população de células administradas ao paciente torna-se o produto de terapia gênica.

A vantagem desse método é que as células de interesse podem ser direcionadas e avaliadas quanto à expressão do gene transgênico. Outra vantagem é que a população de células pode ser purificada e cuidadosamente definida, e a transferência do gene é limitada a essa população de células e não a outras células ou tecidos. Como desvantagens, no caso de células autólogas, observa-se a necessidade de intervenção para a coleta e posterior infusão das células modificadas ao paciente. Também destaca-se o processo de manipulação laboratorial com requisitos rigorosos de produção de cultura celular devido à possibilidade de contaminação ou que suas características se alterem, adquirindo um perfil genético ou antigênico diferente ([NALDINI, 2011](#)).

A principal dificuldade, considerando a abordagem terapêutica, está em garantir que as células geneticamente modificadas, uma vez reintroduzidas no paciente, tenham uma vantagem seletiva que permita a efetiva modulação do objetivo terapêutico desejado. Especificamente em aplicações que requerem a expressão prolongada do gene terapêutico é essencial o uso de vetores capazes de facilitar a integração do gene no genoma das células-alvo. Essa integração assegura que o gene transferido permaneça presente e funcional à medida que as células se dividem e se multiplicam ([NALDINI, 2011](#)). Os produtos à base de células T, geneticamente modificadas, as chamadas *chimeric antigen receptor – T cells (CAR-T)*, são exemplos de produtos de terapia gênica *ex vivo* para o tratamento de leucemias, linfomas e mielomas refratários. Outro exemplo são as estratégias de produtos de terapia gênica *ex vivo* para melanoma metastático,  $\beta$ -talassemia dentre outros

aprovados pelas principais agências reguladoras (PAPAIANOOU; OWEN; YÁÑEZ-MUÑOZ, 2023).

Na **terapia gênica *in vivo*** se administra o vetor com gene de interesse diretamente no órgão-alvo ou o entrega através do sistema vascular. A transferência gênica *in vivo* tem a vantagem sobre as estratégias *ex vivo* de evitar o processo complexo e dispendioso da produção celular. No entanto, desafios na terapia gênica *in vivo* incluem a indução de resposta imunológica pelo vetor de transferência gênica, o transporte do vetor para as células/órgão-alvo, a ligação eficiente do vetor à célula, a translocação do material genético para o núcleo das células de interesse, e a toxicidade e imunidade induzidas pela expressão de vírus e/ou peptídeos transgênicos (SIMONELLI et al., 2009; MAGUIRE et al., 2009).

Os três conceitos de terapia gênica definidos no Brasil, na Europa e nos Estados Unidos têm semelhanças e convergências em relação à ideia central da modificação do material genético e ao objetivo terapêutico, preventivo ou diagnóstico. Na prática, os conceitos convergem amplamente, conforme descrito na **Tabela 6**:

**Tabela 6 – Conceitual de produto de terapia gênica definido pelas autoridades sanitárias competentes do Brasil (Anvisa), Estados Unidos (FDA) e União Europeia (EMA). Brasil, 2023.**

PRODUTO DE TERAPIA GÊNICA		
Anvisa	FDA	EMA
<p>Produto biológico cujo componente ativo contenha ou consista em ácido nucleico recombinante, podendo ter o objetivo de regular, reparar, substituir, adicionar ou deletar uma sequência genética e/ou modificar a expressão de um gene, com vistas a resultado terapêutico, preventivo ou de diagnóstico.</p>	<p>É uma intervenção baseada na modificação do material genético de células vivas. As células podem ser modificadas <i>ex vivo</i> para administração subsequente ou podem ser alteradas <i>in vivo</i> por meio de produtos de terapia gênica administrados diretamente ao paciente. Quando a manipulação genética é realizada <i>ex vivo</i> em células que são posteriormente administradas ao paciente, isso também é um tipo de terapia celular somática. A manipulação genética pode ter como objetivo prevenir, tratar, curar, diagnosticar ou mitigar doenças, ou lesões em seres humanos.</p>	<p>Produto biológico que possui as seguintes características:</p> <p>(a) envolve uma substância ativa que contém ou consiste em um ácido nucleico recombinante usado, ou administrado em seres humanos com o objetivo de regular, reparar, substituir, adicionar ou excluir uma sequência genética;</p> <p>(b) seu efeito terapêutico, profilático ou diagnóstico está diretamente relacionado à sequência de ácido nucleico recombinante que ele contém ou ao produto da expressão genética dessa sequência.</p> <p>Os produtos medicinais de terapia gênica não incluem vacinas contra doenças infecciosas.</p>
(ANVISA, 2021)	(FDA, 1993)	(EUROPEAN UNION, 2001)

Fonte: ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária); EMA (European Medicines Agency); FDA (Food and Drug Administration)

Pelo conceito descrito pela Anvisa entende-se que o produto de terapia gênica é um produto de origem biológica que exerce sua função terapêutica devido a um ácido nucleico recombinante, como seu componente ativo. A Anvisa explica que do ponto de vista regulatório há dois tipos desses produtos: 1) produto de terapia gênica *in vivo*, quando o produto é um gene terapêutico, carregado por determinado vetor, que será administrado diretamente no paciente; e 2) produto de terapia gênica *ex vivo*, quando o processo de introdução do gene-alvo, por meio de vetores, é realizado em laboratório, em células específicas, para promover sua modificação genética. O produto a ser administrado no paciente é uma formulação farmacêutica com suspensão dessas células modificadas (ANVISA, 2022a).

A partir do conceito definido a *European Medicines Agency* (EMA) explicita que os produtos de terapia gênica consistem em um vetor ou sistema de entrega contendo uma construção genética projetada para expressar um transgene específico (chamado de “sequência terapêutica”) para a regulação, reparo, substituição, adição ou exclusão de uma sequência genética. A substância ativa contém a(s) sequência(s) de ácido nucleico de origem biológica. Ao utilizar essas construções de terapia gênica, é possível alcançar a regulação genética *in vivo* ou a modificação genética de células somáticas (EMA, 2021). O produto de terapia gênica pode conter vetores virais, células geneticamente modificadas, vetores não virais, tais como plasmídeos, bactérias ou ácidos nucleicos nus. Essas substâncias variam muito em sua complexidade e abordagens genéticas diferenciadas (EUROPEAN UNION, 2001).

A terapia gênica humana busca modificar ou manipular a expressão de um gene, ou alterar as propriedades biológicas de células vivas para uso terapêutico, segundo documento oficial da autoridade sanitária norte-americana. A FDA considera produtos de terapia gênica humana aqueles que mediam seus efeitos por meio da transcrição ou tradução de material genético transferido, ou pela alteração específica de sequências genéticas do hospedeiro (FDA, 1993), (FDA, 2021). A Agência enquadra os produtos de terapia gênica na definição de “produto biológico” quando tais produtos são aplicáveis à prevenção, tratamento ou cura de uma doença, ou condição em seres humanos. Alguns exemplos de produtos de terapia gênica incluem ácidos nucleicos, microrganismos geneticamente modificados (como vírus, bactérias, fungos), nucleases projetadas para edição do genoma humano e células humanas geneticamente modificadas *ex vivo* (FDA, 2021).

Um ponto determinante em um produto de terapia gênica é a definição da sua substância ativa ou ingrediente ativo, também denominado componente ativo. Um ingrediente ativo é definido como qualquer componente destinado a fornecer atividade farmacológica ou outro efeito direto no diagnóstico, no tratamento ou na prevenção de doenças. Segundo a Anvisa (ANVISA, 2021), o componente ativo de produto de terapia avançada pode ser células, sequência de ácido nucleico ou substâncias que desempenham efeito necessário à atividade terapêutica pretendida.

A utilização de vetores virais para transduzir células *ex vivo*, por exemplo, é um componente crítico no desenvolvimento destes tipos de produtos de terapias gênicas para o tratamento de diversas doenças. Tanto os vetores virais quanto os não virais são projetados para fornecer genes terapêuticos às células-alvo e oferecer uma atividade farmacológica que possa corrigir ou compensar um defeito genético. Sem o vetor, o produto celular resultante não teria a atividade farmacológica ou imunológica pretendida (GINN et al., 2018). Um vetor carregando um transgene (um gene de interesse introduzido no vetor) em sua formulação final para administração em paciente é um produto acabado em sua forma farmacêutica final (ICH, 2009). Distinguir um componente ativo ou ingrediente farmacêutico ativo (do inglês, *drug substance*) de um produto final (do inglês, *drug product*), ou seja, em formulação acabada, pode ser difícil para alguns produtos de terapia gênica devido à natureza complexa dos processos de fabricação, podendo consistir em dois ou mais componentes ativos diferentes necessários para compor um produto final (FDA, 2020).

#### 7.4.2 Outros produtos à base de ácidos nucleicos

##### 7.4.2.1 Vacinas contra agentes infecciosos

Uma questão derivada da conceituação regulatória de produtos de terapia gênica é a exclusão de vacinas contra agentes infecciosos produzidas a partir de ácidos nucleicos e processos biotecnológicos. Embora as vacinas tradicionais disponíveis sejam compostas por versões inativadas ou atenuadas do patógenos completos, ou subunidades deles, a maioria das plataformas de pesquisas atualmente se dedicam ao desenvolvimento de vacinas inovadoras, contra doenças infecciosas emergentes, utilizando ácidos nucleicos para produzir o antígeno de interesse diretamente *in vivo*. Isso inclui vacinas de DNA plasmidial, vacinas de RNA e vacinas de vetores virais recombinantes (QIN et al., 2021).

As vacinas de DNA plasmidial consistem na entrega de um plasmídeo de DNA contendo genes que codificam o antígeno desejado. O plasmídeo é introduzido nas células do paciente, permitindo que elas produzam o antígeno e ativem uma resposta imune adaptativa (OHLSON, 2020).

As vacinas de RNA, no que lhe concerne, fornecem moléculas de RNA mensageiro (RNAm) que contêm as informações genéticas necessárias para a produção do antígeno. O RNAm de interesse é traduzido nas células do paciente, permitindo a síntese do antígeno e a subsequente ativação do sistema imunológico (QIN et al., 2021).

Já os vetores virais recombinantes são vírus geneticamente modificados que carregam genes do antígeno desejado. Essas vacinas de vetores são administradas no paciente, permitindo que as células infectadas pelo vetor viral produzam o antígeno e desencadeiem uma resposta imune (TRAVIESO et al., 2022).

Do ponto de vista regulatório, as vacinas de ácidos nucleicos de agentes infecciosos, ou seja para prevenir doenças infecciosas, não são consideradas produtos de terapia gênica, uma vez que não visam introduzir, corrigir ou substituir um gene para tratamento de doenças. Em vez disso, elas utilizam ácidos nucleicos, como DNA ou RNA do agente infeccioso, para estimular uma resposta imune contra um patógeno específico. Essa abordagem difere da terapia gênica, cujo objetivo é o tratamento de doenças através da correção ou substituição de genes defeituosos, ou até mesmo por meio da modulação da expressão genética humana. Importante destacar que as “vacinas terapêuticas”, como aquelas em desenvolvimento para o tratamento do câncer, desenvolvidas a base de ácidos nucleicos, a depender da tecnologia empregada, podem ser classificadas como produtos de terapia gênica (WHO, 2023).

#### 7.4.2.2 **Produtos à base de vírus oncolíticos**

Os produtos oncolíticos contêm vírus replicantes competentes ou bactérias em divisão usados como agentes terapêuticos para promover a lise de células tumorais. Alguns produtos oncolíticos carregam genes estrangeiros ou ácidos nucleicos recombinantes com funções variadas, tais como modificação dos genes virais para controle da replicação em células normais, alteração de tropismo ou do processo de entrada nas células, otimização da capacidade de oncólise, dentre outras. Quando produtos a base de vírus oncolíticos recombinantes promovem parte de seu efeito antitumoral por meio da transcrição e/ou tradução de genes estrangeiros no hospedeiro são classificados como produtos de terapia gênica (EMA, 2009), (FDA, 2019).

Exemplos de vírus oncolíticos incluem adenovírus, vírus do sarampo, vírus da estomatite vesicular (VSV), reovírus, vírus da doença de Newcastle, herpes simplex (HSV), poxvírus, vírus Sendai e outros (EMA, 2009). Os produtos a base de vírus oncolíticos selvagens não seriam considerados produtos de terapia gênica (YAMAGUCHI; UCHIDA, 2007), (HULOU et al., 2016).

As estratégias e as tecnologias empregadas nos produtos de vírus oncolíticos selvagens diferem dos produtos de terapia gênica ou qualquer outra terapia oncológica. No entanto, a devida avaliação sobre as características dos vírus oncolíticos (selvagens ou geneticamente modificados) e os riscos associados ao uso de vírus competentes para replicação devem ser cuidadosamente realizada para o desenvolvimento clínico seguro destes produtos (HULOU et al., 2016). Considerações regulatórias são essenciais para garantir a segurança, a eficácia e a qualidade dos vírus oncolíticos selvagens ou de vetores a base de vírus oncolíticos aplicados em terapia gênica (ZHENG et al., 2019). Zheng (2019) (ZHENG et al., 2019) e Noraini (2021) (ABD-AZIZ; POH, 2021) apontam elementos importantes para a avaliação regulatória envolvendo produtos com vírus ou vetores oncolíticos, incluindo: a compreensão das cepas selvagens, atenuadas ou geneticamente

modificadas escolhidas para uso na terapia; a demonstração da eficácia e da viabilidade dos produtos de vírus oncolíticos durante seu desenvolvimento (prova de conceito); a garantia de que o vírus oncolítico direcione e replique especificamente dentro das células cancerígenas, a avaliação sobre o potencial de liberação do vírus por meio de excretas dos pacientes tratados e os impactos às pessoas envolvidas e ao meio ambiente. Os autores alertam que o conhecimento e as informações atuais sobre o uso de vírus oncolíticos em terapias estão em evolução, exigindo abordagens caso a caso para garantir sua segurança e comprovar sua eficácia.

#### 7.4.2.3 Ácidos Nucleicos produzidos por via sintética

A expressão ou atividade das moléculas-alvo pode ser alterada por meio da sequência de RNA. Atualmente, várias estratégias terapêuticas são empregadas para modular a função do RNA nas células. Isso inclui uma gama de produtos a base de RNA, desde pequenas moléculas sintéticas, determinados produtos de terapia gênica, incluindo os que envolvem edição do genoma e os oligonucleotídeos antisense sintéticos (do inglês “*antisense oligonucleotides*” - ASOs). Oligonucleotídeos se referem a sequências curtas de nucleotídeos, geralmente compostas por 13 a 25 nucleotídeos, enquanto o termo “antisense” indica que essas sequências são projetadas para se ligarem a sequências de RNA ou DNA complementares (FUSCO et al., 2019).

Os produtos de terapia gênica e os produtos a base de RNA são abordagens diferentes para modular a expressão gênica e a produção de proteínas com finalidades terapêuticas.

As moléculas que têm como alvo o RNA, como os oligonucleotídeos antisense (ASOs), são projetadas para se ligarem às regiões codificadoras ou não codificadoras dos transcritos de RNA-alvo. Isso resulta na formação de um conjugado de RNA/DNA que inibe a tradução e reduz os níveis de RNAm e conseqüentemente a proteína do gene-alvo. Essa abordagem terapêutica permite modular a expressão gênica e interferir no processo de síntese de proteínas, oferecendo potenciais aplicações no tratamento de doenças genéticas e outras condições patológicas (HEGARTY; STEWART, 2017), (PRADEEP et al., 2023). A terapia gênica envolve a entrega de material genético às células para substituir ou corrigir genes anormais, atuando na sequência de DNA de um gene. Os ASOs sintéticos, por exemplo, são cadeias pequenas de ácidos nucleicos de fita simples que visam transcritos de RNA específicos por meio do pareamento de bases Watson-Crick e podem ser projetados apenas com base em informações da sequência (MENDES et al., 2022). Em contraste, a terapia gênica, incluindo a edição do genoma, requerem a entrega de moléculas grandes, como vetores virais ou nanopartículas, às células-alvo. Embora essas abordagens tenham se mostrado promissoras, há diferentes vantagens e limitações, e o uso ideal de cada

uma delas depende da doença específica e do gene-alvo (HEGARTY; STEWART, 2017), (MENDES et al., 2022), (PRADEEP et al., 2023).

As tecnologias de RNA estão na interface entre pequenas moléculas e os produtos biológicos, configurando esta nova classe terapêutica de medicamentos. Os medicamentos baseados em RNA podem ser classificados em diversas categorias distintas com base em suas características estruturais e modo de ação: *RNA<sub>m</sub>* (*mensageiro RNA*): fornecem instruções para a produção de proteínas específicas no organismo. Como exemplo, cita-se as vacinas de RNA<sub>m</sub> que promovem a indução de resposta imune por meio da produção da proteína spike do SARS-CoV-2; *ASO* (*oligonucleotídeo antisense*): moléculas de RNA ou DNA sintéticas que se ligam ao RNA mensageiro específico, impedindo sua tradução em proteínas ou promovendo sua degradação; *siRNA* (*RNAs pequenos interferentes, do inglês, small interfering RNA*): são moléculas de RNA dupla fita que podem silenciar genes específicos; *miRNA* (*microRNA*): são pequenas moléculas de RNA não codificantes que regulam a expressão gênica. Eles podem se ligar a sequências específicas de RNA mensageiro, resultando na degradação do RNA mensageiro ou na inibição de sua tradução em proteínas, dentre outras abordagens tecnológicas (KIM, 2022). Têm potencial aplicação no tratamento de doenças oncológicas, infecciosas, doenças raras e doenças nos quais o bloqueio da expressão gênica provavelmente teria um efeito benéfico.

Ao contrário dos produtos de terapia gênica e de outros medicamentos biológicos, a maioria dos oligonucleotídeos antisense e outros tipos de RNA são fabricados por síntese química direta (FUSCO et al., 2019), (CHERY, 2016). Segundo a FDA, produtos a base de ácidos nucleicos, como produtos quimicamente sintetizados, se enquadram na definição de medicamentos sintéticos, mas não na definição de produtos biológicos (FDA, 1993).

Importante discutir que os oligonucleotídeos são comercializados há algum tempo como reagentes amplamente utilizados em laboratório de biologia molecular, como iniciadores, sondas e reagentes para fins de mutagênese dirigida. Vários medicamentos baseados nos oligonucleotídeos antisense e outras tecnologias de RNA<sub>m</sub> tem sido aprovados no Brasil, Estados Unidos, Europa, tais como o Spinraza® (Nusinersen), um medicamento do tipo ASO aprovado para atrofia muscular espinhal e o Onpattro® (Patisiran), um medicamento a base de RNAi para a Amiloidose Hereditária (FDA, 2016), (FDA, 2018), (ANVISA, 2020), (ANVISA, 2022b), (EMA, 2018), (EMA, 2022).

Observa-se que a EMA e a FDA estão promovendo discussões para o adequado enquadramento e definição de requisitos técnicos regulatórios aplicados aos produtos baseados em RNA. A ideia atual é que o enquadramento se dê em várias categorias diferentes, ou seja, vacinas, produtos de terapias avançadas, medicamentos biológicos ou medicamentos sintéticos (químicos), dependendo do tipo de RNA e sua produção (EMA, 2022), (FDA, 2022a), (EMA, 2023).

A discussão sobre os diferentes modelos regulatórios a serem aplicados aos produtos terapêuticos inovadores é relevante principalmente para definir qual a

correspondência aos diferentes níveis de controle. Devido ao seu tamanho e variabilidade, os medicamentos biológicos requerem controles específicos em comparação com os medicamentos sintéticos (químicos), com metodologias avançadas da caracterização da estrutura molecular, das modificações proteicas e das atividades biológicas. Além disso, os medicamentos biológicos são vulneráveis à contaminação por vírus, bactérias, agentes fúngicos e príons com aplicações de estratégias específicas de controle (GUERRIAUD; KOHLI, 2022). Para produtos de terapia gênica, além das especificidades dos produtos biológicos, são necessários testes adicionais que incluem a detecção da capacidade de integrar sequências de ácido nucleico no genoma, sua funcionalidade e o risco de oncogenicidade. A capacidade de replicação do vírus *in vivo* também deve ser testada, se vetores virais são usados para fornecer ácidos nucleicos (GUERRIAUD; KOHLI, 2022).

A **Tabela 7** apresenta a síntese dos conceitos e discussões sobre os produtos baseados em RNA e as principais diferenciações destes produtos conforme o enquadramento proposto em medicamentos sintéticos, produtos biológicos e produtos de terapia gênica.

A elaboração da **Tabela 7** baseou-se em: (KIM, 2022), (GUERRIAUD; KOHLI, 2022), (FDA, 2022a), (EMA, 2022), (EMA, 2023).

**Tabela 7 – Comparativo dos produtos terapêuticos a base de RNA, segundo vias regulatórias atuais. Brasil, 2023**

PRODUTO	MEDICAMENTOS SINTÉTICOS	MEDICAMENTOS BIOLÓGICOS	
	RNAS SINTÉTICOS	PRODUTOS BIOLÓGICOS	PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA
	Moléculas de ácidos nucleicos sintéticas que se ligam ao RNA	Proteínas, anticorpos, peptídeos ou outras moléculas biológicas	Moléculas de ácidos nucleicos recombinantes
<b>ALVO MOLECULAR</b>	RNA visando a supressão ou interferência na tradução	Variado (receptores, enzimas, citocinas ou outros componentes biológicos)	DNA genômico visando corrigir, editar, inserir ou substituir um gene defeituoso ou de interesse
<b>ABORDAGEM TERAPÊUTICA</b>	Modular a expressão gênica, suprimindo produção de proteínas específicas ou promovendo produção de proteínas ausentes. Ação em RNAs codificadores e não codificantes	Variada. Ação por meio de moléculas biológicas	Introdução de material genético exógeno para corrigir, editar, inserir ou substituir gene defeituoso ou de interesse, por meio direto ou por vetores.
<b>TEMPO DE AÇÃO</b>	Temporária	Temporária	Permanente
<b>PRODUÇÃO</b>	Síntese química direta	Processos biológicos	Processos biológicos
<b>EXEMPLOS</b>	Oligonucleotídeos antisenses (ASOs)  RNA interferentes (RNAi)	Vacinas RNAm	Vírus adenoassociado + gene SMN1 Células CAR-T Produtos de edição genômica

Elaborada pelo autor

### 7.4.3 Terapia Gênica Germinativa

Outro aspecto também importante nesta discussão conceitual é a distinção entre terapia gênica somática e a terapia gênica germinativa. A terapia gênica somática envolve a transferência de genes apenas para células não reprodutivas, onde uma correção genética realizada não afetará a hereditariedade dos indivíduos. Já a terapia gênica germinativa consiste na modificação das células reprodutivas, os gametas, através da inserção direta do gene desejado no óvulo, espermatozoide ou embrião precoce (GYNGELL; DOUGLAS; SAVULESCU, 2017). Uma vez introduzido durante os estágios iniciais da embriogênese, o gene de interesse será incorporado não apenas nas células somáticas, mas também nas células reprodutivas, com a transmissão às gerações subsequentes. Neste sentido há consenso internacional para a terapia gênica somática, no entanto, a pesquisa em terapia

gênica germinativa suscita várias controvérsias (GYNGELL; DOUGLAS; SAVULESCU, 2017).

A UNESCO (Organização das Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura) (UNESCO, 2015), apresentou que a terapia gênica somática tem sido amplamente aceita em diversos países porque as modificações genéticas induzidas não são hereditárias. Porém, quando se trata da aplicação dessas tecnologias na modificação da linhagem germinativa, seja com propósitos terapêuticos ou para aprimorar características específicas de um indivíduo, surgem preocupações éticas e científicas relevantes. Diante desse cenário, tem-se observado uma moratória nessas tecnologias, pelo menos até que se compreenda melhor sua segurança e as consequências a longo prazo. Enquanto alguns países adotaram proibições legais explícitas contra modificações na linhagem germinativa em seres humanos, outros optaram por não impor restrições legais. No entanto, estes países estabeleceram regulamentações administrativas ou éticas, também conhecidas como “*soft law*”, que proíbem a realização de tais experimentos em gametas e embriões. Essas medidas refletem a preocupação com as implicações éticas, sociais e científicas associadas à manipulação genética que poderia ter um impacto duradouro nas futuras gerações (UNESCO, 2015).

A normativa que regula os ensaios clínicos com medicamentos na União Europeia prescreve que não podem ser realizados quaisquer pesquisas com seres humanos com terapia gênica que deem origem a modificações na linhagem germinativa comprometendo a identidade genética do sujeito (EUROPEAN UNION, 2014). Nos Estados Unidos não há uma Lei que proíba a edição genômica da linhagem germinativa humana. No entanto, desde 2016, foi acrescentado um dispositivo na Lei de financiamento do governo americano que proíbe ao FDA considerar qualquer pedido de ensaio clínico no qual um embrião humano é intencionalmente criado ou modificado para incluir uma alteração genética hereditária. Desta forma, mesmo que um grupo de pesquisa intencionasse realizar experimentação com seres humanos com produtos de edição de linhagem germinativa não conseguiria aprovação da FDA (COHEN; ADASHI, 2016). No Brasil, a Lei de Biossegurança, proíbe tacitamente a “engenharia genética em célula germinativa humana, zigoto humano e embrião humano”, bem como a clonagem humana, com penas de reclusão de 1 a 4 anos e de 2 a 5 anos, respectivamente (BRASIL, 2005).

Vale destacar que apenas a terapia gênica com fins terapêuticos e/ou profiláticos pode ser considerada, ou seja, com o objetivo de tratar ou prevenir doenças. Segundo a corrente ético-jurídica dominante, o uso da terapia gênica sem finalidade terapêutica, para melhorar uma característica particularmente valorizada, como a cor do cabelo ou dos olhos, por exemplo, é pauta de grandes discussões éticas (ANSAH, 2022).

#### 7.4.4 Vetores de transferência de genes

Desde o advento da tecnologia do DNA recombinante e a criação de uma unidade funcional de expressão gênica, a ciência aplicada enfrenta um grande desafio: como entregar de forma eficaz e segura esses agentes terapêuticos ao corpo humano. Em vista das múltiplas barreiras extra e intracelulares, estratégias de entrega de genes surgiram, especificamente por veículos conhecidos como vetores. Esses vetores podem vir de uma variedade de fontes, como vírus, bactérias e outros tipos de vetores não virais (STRAUSS, 2007), (LUNDSTROM, 2018).

Segundo Strauss (STRAUSS, 2007), a utilização de um gene com propriedades terapêuticas com mecanismo de ação em células-alvo depende da sequência do gene de interesse definido em um cassete de expressão gênica (gene + elementos regulatórios de controle da expressão) e de um vetor de transferência. A transcrição do gene terapêutico, controlado por um promotor, deve-se dar em tecido-alvo, induzida ou ativada nas condições fisiológicas celulares. Para a escolha do vetor é necessário considerar célula-alvo, patologia, potencial duração da ação terapêutica desejada, regime de doses, via de administração, resposta imunológica, tamanho do gene, interferências ou interações dos elementos regulatórios, características do vetor, dentre outros (STRAUSS, 2007).

Independentemente da estratégia geral, um cassete de expressão contendo as sequências genéticas a serem entregues, geralmente um DNA com sequências regulatórias para controlar a expressão, é inserido em um “vetor”. Este vetor pode ser não viral ou viral usado para melhorar a eficiência e a especificidade da transferência gênica. Em conjunto, a escolha do vetor, o *design* do cassete de expressão e as sequências codificadoras do gene determinam a farmacocinética da expressão gênica resultante (SUNG; KIM, 2019). Notam-se preocupações sobre a especificidade e a avidéz do direcionamento do vetor ao seu receptor, a quantidade de vetor necessária para modificar o número de células-alvo adequadas, o efeito terapêutico considerando resposta imune e toxicidade aceitável (JIN et al., 2014), (SUNG; KIM, 2019).

Os vetores de DNA, como o DNA plasmidial circular, podem penetrar nas células na sua forma desprotegida ou ser encapsulados com substâncias químicas, por exemplo, lipossomos, que aumentam a estabilidade e a eficiência da entrega. A facilitada produção em grande escala, a capacidade de transportar genes de maior tamanho molecular e a ausência de componentes virais resultando em baixa imunogenicidade, são algumas das vantagens de vetores não virais. Por outro lado, uma grande desvantagem é a alta susceptibilidade à degradação intra e extracelular, resultando em baixa absorção celular. Outra desvantagem é a baixa expressão do gene terapêutico, significando baixo potencial de eficácia (JIN et al., 2014), (ZAKERI et al., 2018). Por outro lado, os vetores virais dependem da capacidade infecciosa de vírus específicos sendo modificados para reduzir o dano da patogenicidade, retirando o maior número possível de genes virais. Cada tipo de

vetor viral requer considerações específicas de construção e segurança. Eles podem ser condicionalmente replicantes, defeituosos em replicação ou competentes em replicação. A expressão genética de longo prazo, alta absorção celular e alta eficácia de transdução são algumas das vantagens dos vetores virais. Por outro lado, questões de segurança, como imunogenicidade são consideradas desvantagens significativas, bem como os altos custos de produção e a incapacidade de transferir genes de alto peso molecular (WANG; GAO, 2014), (EMA, 2018). Em geral, a entrega ideal de genes deve incluir alta eficiência de transferência de genes de interesse às células e tecidos-alvo, baixa toxicidade para as células, especificidade celular única para o alvo pretendido (penetrar na membrana celular e liberar sua carga no compartimento intracelular desejado) e capacidade de tratar sistemas heterogêneos com várias células diferentes simultaneamente (MANJILA et al., 2013), (LINNIK et al., 2021).

Do ponto de vista regulatório, os vetores de transferência de genes são elementos críticos, sendo sua caracterização e qualidade determinante para a segurança e a eficácia dos produtos. Vetores de genes são componentes vitais dos produtos de terapia gênica e submetidos a rigorosos requisitos de testes e avaliações, incluindo pureza, potência, estabilidade e segurança, além da avaliação de sua capacidade de fornecer o gene terapêutico às células-alvo (FDA, 2020) (EMA, 2018). Os vetores de transferência são classificados como substâncias ou componentes ativos (do inglês “*active substance*”) do produto de terapia gênica (EMA, 2018).

#### 7.4.4.1 Vetores Virais

Os vírus são biologicamente compostos por ácido nucleico (DNA ou RNA) coberto por uma camada de proteína e, em alguns casos, uma camada adicional de proteínas e lipídios capazes de infectar células e introduzir material genético nelas, como parte do seu ciclo de vida. As estratégias da tecnologia de DNA recombinante usam essa propriedade biológica do vírus como veículos para introduzir genes terapêuticos em células. Importante salientar o conceito de infecção viral como um processo biológico em que o vírus adere à célula hospedeira, invade e libera seu material genético, que pode controlar os mecanismos celulares para produzir novas cópias virais (LOZACH, 2020), (VARANDA et al., 2021). Vírus possuem arquiteturas geometricamente sofisticadas e uma maquinaria eficiente em estrutura genômica abrangente, o que os torna atrativos para serem manipulados. A manipulação viral objetiva construir vetores removendo essencialmente suas partes patogênicas enquanto mantêm suas capacidades de entrega de material genético. Quando um vetor (vírus recombinante) adere e invade uma célula-alvo e libera ou promove a expressão do transgene que carrega se utiliza o termo transdução (BOUARD; ALAZARD-DANY; COSSET, 2008), (LUNDSTROM, 2018), (ZHAO; ANSELMO; MITRAGOTRI, 2022).

Os sistemas de transferência gênica por vírus recombinantes compreendem vetores virais, sequências terapêuticas e elementos regulatórios manipulados em plasmídeos e produzidos em plataformas celulares. A sequência terapêutica e os elementos regulatórios (basicamente promotor e sinal de poliadenilação) são denominados cassete de expressão ou cístron, elementos estruturantes para as estratégias terapêuticas pretendidas e a segurança do sistema (LIU et al., 2011).

O vetor viral (vírus recombinante) é construído por meio de plasmídeos que carregam as codificações das sequências virais, modificadas a depender do projeto estabelecido. Os vetores podem ser construídos para controlar a replicação, subtrair sequências patogênicas ou mesmo antigênicas, com foco na otimização da expressão gênica e segurança. A estratégia utilizada para melhorar a segurança do vetor, principalmente no controle de sua replicação, é a utilização de mais de um plasmídeo com sequências virais diferentes e complementares no sistema produtivo da partícula viral. A segurança biológica depende principalmente da atenuação do vetor viral e da divisão física dos genes essenciais em plasmídeos auxiliares e/ou sequências auxiliares nas células de embalagem ou empacotamento durante sua produção. Esta estratégia reduz a probabilidade de que partículas virais com um genoma viral completo sejam produzidas por recombinação (SUNG; KIM, 2019), (LUNDSTROM, 2020) .

A redução ou minimização da homologia entre as sequências do vetor viral, dos plasmídeos e das células auxiliares são estratégias para evitar que haja uma transferência indesejada de genes entre os componentes, o que poderia resultar em efeitos adversos não intencionais. Quando as sequências são muito semelhantes, pode ocorrer recombinação ou troca de material genético indesejado, assim como competição ou interferência entre essas sequências, levando a alterações no vetor viral, interferindo em sua estabilidade e eficiência de produção. Para alguns sistemas de vetores lentivirais, por exemplo, faz-se uma distinção entre sistemas de primeira, segunda e terceira geração. Nos sistemas de terceira geração, as várias sequências funcionais do vírus são distribuídas em três a quatro plasmídeos. Nos chamados vetores autoinativantes (do inglês, *self-inactivating-SIN*), a sequência U3 nas repetições terminais longas (LTR), que possui características transcricionais, é excluída, tendo sua capacidade replicativa fortemente reduzida após a primeira transdução de células (SUNG; KIM, 2019), (LUNDSTROM, 2020) .

Cada tipo de vírus recombinante oferece perfil e característica distintas que implica em seus benefícios e riscos em terapia gênica, tais como:

- a) o tipo de vírus original associado ao vetor, em geral, são utilizados vírus patogênicos humanos ou animais pela capacidade de infectar;
- b) o espectro do hospedeiro, ou seja, tipos de células que o vetor pode infectar;
- c) o tropismo celular e sua preferência por transdução em células específicas;
- d) a capacidade de replicação, que se relaciona a eficiência de transferência e também a eventos adversos indesejáveis;

e) a capacidade de integração no hospedeiro, determinados vetores se integram no genoma da célula transduzida;

f) extensões das deleções do gene original, ou seja, ao modificar o vetor viral podem ser feitas deleções no gene viral original para aumentar a sua segurança e reduzir a replicação do vírus, no entanto, é importante avaliar as extensões ocorridas;

g) a capacidade de autodesativação, onde vetores são projetados para se desativarem após a entrega do gene de interesse, diminuindo riscos de replicação não desejada ou eventos adversos prolongados;

h) o tipo de células de empacotamento e o número de plasmídeos auxiliares;

i) o potencial de risco do gene de interesse inserido, como a ativação de oncogenes ou resposta imunológica indesejada e

j) o tipo de transdução de células realizadas, se em cultura (*in vitro*) ou diretamente no organismo vivo (*in vivo*) (WALTHER; STEIN, 2000), (DISMUKE; TENENBAUM; SAMULSKI, 2013), (AKKER et al., 2014), (DAVID; DOHERTY, 2016).

Os vetores autoinativantes apresentam vantagens em relação à segurança, tais como a atividade do promotor diminuída da atividade original e, conseqüentemente, também a transcrição de genes vizinhos no ponto de inserção, limitando sobremaneira a probabilidade de oncogênese por inserção. Também a probabilidade de recombinação entre o plasmídeo do vetor e as sequências de empacotamento, bem como a mobilização das sequências de inserção do vetor inseridas no genoma são amplamente reduzidas (ZUFFEREY et al., 1998), (MERTEN et al., 2014)

Segundo a *Alliance for Regenerative Medicine (ARM)* (2023) (ARM, 2023b), dos estudos clínicos com produtos de terapia gênica, 48% refere-se ao uso de vetores lentivirais, 26% de vetores adenoassociados, 14% vetores retrovirais, 5% de vetores não virais, 4% com vetores adenovirais e 3% de outros tipos de vetores. No estudo desta Tese, baseado nos produtos de terapias gênicas registrados no Brasil, Estados Unidos e União Europeia até o ano de 2022, observou-se 6 produtos com vetores adenoassociados, 7 com vetores lentivirais, 3 com retrovirais e 2 produtos registrados a base de vetores oncolíticos.

Diferentes vetores virais oferecem diferentes vantagens e desvantagens. Conhecer as características desses vetores virais permitem sua aplicação em várias áreas no cenário da terapia gênica. A **Tabela 8** sumariza características gerais dos vírus usados para construção de vetores virais utilizados em produtos de terapia gênica aprovados para uso populacional. Destaca-se que a construção de um vetor viral envolve elementos complexos e o uso na prática da pesquisa clínica e populacional tem proporcionado descobrir novas funcionalidades e estratégias de controle e segurança.

A seguir descrevem-se as principais referências utilizadas para a elaboração da **Tabela 8**<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> **Vetor de vírus adenoassociado (AAV):** (GRIMM et al., 2008), (JEUNE et al., 2013), (VANDAMME; ADJALI; MINGOZZI, 2017), (LI; SAMULSKI, 2020), (SRIVASTAVA, 2020), (ERTL, 2022), (KISHIMOTO;

**Tabela 8 – Principais características dos vetores virais usados em produtos de terapia gênica. Brasil, 2023**

VETOR	CARACTERÍSTICAS	CAPACIDADE	INFECÇÃO	INTEGRAÇÃO	EFICIÊNCIA DE TRANSFERÊNCIA	EXPRESSÃO	POTENCIAL IMUNOGÊNICO	VANTAGENS	DESVANTAGENS
<b>Adenoassociado (AAV)</b>	Fita Simples - DNA  Estrutura: Rep e Cap  Replicação por vírus auxiliar  Não envelopado	4 a 5 kb	Células em divisão e não-divisão	Epissomal	Alta (in vivo)	Transitória  Estável (células quiescentes)	Baixo, no uso exclusivo  Alto (imunidade pré-existente)	Não patogenicidade  Histórico de segurança clínica  Especificidade em diferentes tecidos  Remoção de boa parte do gene viral	Limitada capacidade de produção.  Presença de capsídeos vazios.  Alto custo produtivo.  Perda epissomal por degradação na mitose.  Baixos títulos.  Expressão fora do alvo.  Contaminação por vírus auxiliar.  Número de integrações genômicas dose dependente.
<b>Adenovírus (Ad)</b>	Fita dupla - DNA Tipo1: vírus defeituosos em replicação. Tipo 2: vírus oncolíticos replicantes	4 a 34 kb	Células em divisão e não-divisão	Epissomal	Alta	Transitória	Alto (imunidade pré-existente)	Especificidade em diferentes tecidos  Altos títulos	Patogênico.  Replicação competente.  Meia-vida curta em humanos (via sistêmica).  Alteração linhagem germinativa
<b>Lentivírus (Retrovírus)</b>	2 Fitas de cadeia simples RNA. Genes estruturais (gag, pol, env). Genes regulatórios e acessórios (tat, rev) (vif, vpu, vpr, nef).	9 a 10 kb	Células em divisão e não-divisão*	Integrativa	Alta	Estável	Baixo	Expressão duradoura (integração)	Vírus competente de replicação.  Mobilização do vetor por vírus endógeno do paciente.  Mutagênese insercional.  Alteração da linhagem germinativa.  Inserção aleatória.
<b>Herpes simplex vírus (HSV)</b>	Dupla fita DNA	40 a 150 Kb	Células em divisão e não-divisão	Integrativa ou Epissomal (HSV - 1)	Alta	Transitória  Estável	Alto (imunidade pré-existente)	Agente oncolítico.  Neotropismo (persistência assintomática)  Especificidade em diferentes tecidos.  Produção de altos títulos.	Vírus competente de replicação.  Contaminação por vírus auxiliar na produção.

Elaborada pelo autor.

Com relação aos **vetores de vírus adenoassociados (AAV)**, atualmente o sistema *AAV-Helper-free* (vetor livre de vírus auxiliar) é usado principalmente em pesquisas clínicas. O sistema permite a produção de vetores AAV sem a necessidade de coinfeção com adenovírus selvagem, tornando o processo mais seguro e eficiente, com alta produção viral (KIMURA et al., 2019). A frequência de eventos de integração pode aumentar se uma infecção de multiplicidade extremamente alta for usada ou se a célula for infectada na presença de uma replicase adenoviral (DALWADI et al., 2021). O tamanho máximo recomendado para a clonagem em um vetor AAV é limitado. Para contornar esse problema, os componentes do vetor precisam ser abreviados/truncados/minimizados, ou o genoma do AAV deve ser combinado, por meio de recombinação homóloga mediada por sequências de

SAMULSKI, 2022). **Vetor de adenovírus:** (CRYSTAL, 2014), (LEE et al., 2017), (SATO-DAHLMAN et al., 2020), (SHAW; SUZUKI, 2020), (GALLARDO et al., 2021), (USMAN; SUAREZ, 2023). **Vetor de vírus lentivírus:** (ZUFFEREY et al., 1998), (ACHEAMPONG et al., 2002), (SAKUMA; BARRY; IKEDA, 2012), (JOHNSON et al., 2021), (EDITORIAL NATURE MEDICINE, 2021), (GHOSH et al., 2022). **Vetores de Herpes Simplex Vírus:** (LATCHMAN, 1994), (ARTUSI et al., 2018), (ARTUSI et al., 2018)

repetição terminal invertida (ITR). Grandes volumes de cassetes de expressão gênica são divididos em dois ou mais vetores e depois transportados para as mesmas células (ROSEN et al., 2020). 96% do genoma do AAV podem ser removidos para permitir a engenharia do vetor para terapia gênica (LI; SAMULSKI, 2020). O amplo espectro de especificidades direcionadas a tecidos-alvos foram descritos na Tabela 8 como vantagens dos AAV, mas pode ocasionar também efeitos adversos graves devido à expressão fora do alvo, como hepatotoxicidade (ROSEN et al., 2020), neurotoxicidade (CRUNKHORN, 2020). A definição de promotores específicos para determinado tecido torna-se importante na otimização da expressão. Cada um dos diferentes sorotipos do AAV tem afinidade por um tipo diferente de célula. As células musculares são mais facilmente transduzidas pelo AAV recombinante do sorotipo 1 (AAV1), enquanto o sorotipo 4 (AAV4) é mais eficiente na infecção da retina. O sorotipo 5 (AAV5) é bastante versátil, pois pode infectar com eficiência tecido nervoso, epitélio das vias aéreas e células da retina. O sorotipo 8 (AAV8) é o mais eficiente na transdução de hepatócitos (KUZMIN et al., 2021).

A resposta imune *in vivo* associada a **vetores de adenovírus** de terceira geração foi reduzida em comparação com os vetores adenovirais de primeira e segunda geração, embora a eficiência de transdução e o tropismo fossem mantidos (ALBA; BOSCH; CHILLON, 2005). O adenovírus pode infectar vários tipos de células humanas, o que pode ser tanto vantajoso quanto desvantajoso, devido à possibilidade de transdução não intencional, inclusive na linhagem germinativa.

O **vetor de lentivírus (LV)** mantêm os genes *gag*, *pol*, *rev* relacionados às proteínas estruturais, transcriptase reversa e integrase. Quatro gerações de vetores lentivirais foram desenvolvidas. Os vetores de primeira geração continham ainda uma grande porção do genoma do HIV e a segunda geração removeu boa parte do vírus. Os vetores LV de terceira geração são vetores incompetentes para replicação e autoinativadores, produzidos em três plasmídeos distintos, para reduzir o risco de recombinação durante a amplificação do plasmídeo e a fabricação do vetor viral. A estratégia de incluir quatro plasmídeos na produção do vetor de quarta geração e otimização de códons aumentaram a segurança, porém os títulos foram afetados. O gene da proteína G do vírus da estomatite vesicular (do inglês, *vesicular stomatitis virus*, VSV-G) tem sido usado no lugar da proteína de envoltório do HIV-1, aumentando o espectro de infecção em células hospedeiras (GÁNDARA; AFFLECK; STOLL, 2017), (MILONE; O'DOHERTY, 2018), (LABBÉ; VESSILLIER; RAFIQ, 2021). A estratégia de remoção da região U3 do LTR (*Long Terminal Repeat*) dos vetores lentivirais reduzem a capacidade de recombinação com o genoma hospedeiro ou a produção de partículas virais ativas. Essa abordagem objetiva garantir a segurança do tratamento, evitando a possível reativação do vírus e maximizando o controle sobre a expressão dos genes terapêuticos inseridos no vetor lentiviral (GURUMOORTHY et al., 2022). A autoinativação (*self inactivation -SIN*) foi uma melhoria realizada no vetor lentiviral para garantir segurança mesmo se ocorrer uma recombinação. Existem várias abordagens

para implementar o *SIN* em vetores lentivirais. Uma das estratégias mais comuns envolve a deleção de região específica do vetor (U3 do LTR). Essa deleção inclui elementos regulatórios essenciais para a transcrição do vetor, como a caixa TATA (*TATA box*) e os sítios de ligação para fatores de transcrição. A caixa TATA é um dos principais promotores eucarióticos conhecidos e encontra-se a 5' do ponto de início da transcrição da grande maioria dos genes. A deleção da região U3 no LTR resulta na inativação da atividade promotora após a integração no genoma da célula hospedeira (JOHNSON et al., 2021), (MARTÍNEZ-MOLINA et al., 2020).

Ao comparar os vetores virais em termos do tamanho de seu genoma, é evidente que o **Herpes Simplex vírus (HSV)** tem um genoma muito maior do que qualquer um dos outros vírus. Isso é de particular importância na construção do vetor, uma vez que um vírus só empacotará o tamanho apropriado de ácido nucleico em uma partícula viral. No entanto, para aproveitar a capacidade do vírus e seu tropismo natural para células neuronais, os potenciais efeitos prejudiciais da replicação lítica devem ser eliminados no processo de construção vetorial (LATCHMAN, 2000).

Outros vetores virais não foram especificados neste quadro, mas estão sendo utilizados em vários ensaios clínicos, tais como vaccinia, sarampo, alphavirus, vesicular stomatitis, influenza, baculovírus (ONO et al., 2018), (ZHENG et al., 2019; DENG et al., 2022).

#### 7.4.4.2 Vetores não virais

##### 7.4.4.2.1 Vetores de DNA

Os **plasmídeos** são os vetores mais básicos de transferência gênica. Os plasmídeos podem ser combinados com lipossomas ou nanopartículas para facilitar a adesão e a entrada das células-alvo (LECHARDEUR; VERKMAN; LUKACS, 2005), (RAMAMOORTH; NARVEKAR, 2015). Métodos físicos tem sido desenvolvidos para promover a entrada de plasmídeos nas células por meio de manipulação direta, incluindo microinjeção, administração hidrodinâmica, eletroporação, ultrassom e entrega balística, não sendo aplicável à terapia gênica *in vivo* (LECHARDEUR; VERKMAN; LUKACS, 2005). O cassete de expressão dos plasmídeos é bastante simples; o transgene é controlado por um promotor, flanqueado por um íntron e protegido por um sítio de poliadenilação. O DNA plasmídico pode ter qualquer tamanho, mas plasmídeos com mais de 10 kb são instáveis (LI; HU; CHEN, 2018).

**Vetores de DNA baseados em cromossomos** estão sendo desenvolvidos para terapia gênica. S/MAR significa *Scaffold/Matrix Attachment Region*, é um elemento genético encontrado nos cromossomos e é responsável por ancorar o DNA à matriz nuclear, contribuindo para a organização e a estabilidade dos cromossomos. Essa região

desempenha um papel importante na estruturação tridimensional do DNA e na regulação da expressão gênica. No contexto da terapia gênica, os vetores baseados em S/MAR são modificados para melhorar a estabilidade e a persistência do vetor no interior das células, aumentando assim a eficiência da entrega de genes terapêuticos (ROCCO et al., 2018), (HAGEDORN et al., 2011).

Um **vetor de transposon** é um tipo de sistema de entrega de genes que utiliza elementos transponíveis para integrar o DNA exógeno no genoma da célula hospedeira. Os transposons são sequências de DNA que podem se mover de uma localização para outra dentro do genoma. Esses vetores oferecem várias vantagens em relação a outros sistemas de entrega de genes, incluindo sua capacidade de promover uma integração genômica eficiente em diversos tipos de células de mamíferos e seu perfil de segurança (KAHLIG et al., 2010). O sistema de transposon *Sleeping Beauty* (SB) é um dos vetores de transposon mais amplamente utilizados para aplicações de terapia gênica, especialmente para transferência em células T (LEY et al., 2013). Outros sistemas de transposon, como *PiggyBac* e *Tol2* (IVICS; IZSVÁK, 2006), (SHEN et al., 2018) também foram desenvolvidos como vetores de entrega de genes para terapia gênica e outras abordagens experimentais. Esforços estão em andamento para desenvolver vetores de genes baseados em transposons com eficácia e segurança aprimoradas para aplicações em humanos e minimizar riscos de mutagenicidade insercional (TSCHORN; BERG; STITZ, 2020).

#### 7.4.4.2.2 **Vetores bacterianos modificados**

A engenharia genética microbiana é a manipulação genética de microrganismos, como bactérias, para produzir novas funções ou características desejadas. Isso pode incluir a inserção de genes exógenos para produzir proteínas específicas ou compostos, a deleção de genes para eliminar funções indesejadas ou a modificação de genes existentes para melhorar o desempenho do microrganismo em diversas áreas, incluindo biotecnologia, medicina e agricultura. Atualmente tem sido observados estudos pré-clínicos e estudos clínicos exploratórios utilizando bactérias modificadas como sistemas de entrega para terapia gênica (LIU et al., 2022). As propriedades biológicas inatas das bactérias permitem a entrega eficiente de DNA às células ou tecidos. O conceito de explorar espécies bacterianas como vetores de genes biológicos já existe há algum tempo (BABAN et al., 2011).

A FDA utiliza a nomenclatura de Vetores Genéticos Microbianos utilizados em Terapia Gênica (do inglês *Microbial Vectors used for Gene Therapy* - MVGT) para designar os vetores bacterianos. Por exemplo, *Salmonella*, *Listeria* e *E. coli* podem ser recombinadas com genes cromossômicos ou episomais para expressar antígenos tumorais humanos, citocinas, fatores de crescimento, enzimas, proteínas terapêuticas ou nucleotídeos (FDA, 2016). Vetores bacterianos têm sido alvos de estudos na terapia do câncer devido à sua capacidade de direcionar e penetrar células tumorais, bem como estimular uma resposta

imune contra o tumor. No entanto, ainda existem desafios a serem abordados, como garantir a segurança desses vetores e otimizar sua eficácia (FORBES, 2006), (FORBES, 2010).

Segundo a FDA na avaliação de riscos e benefícios no uso de vetores microbianos destaca-se a indução potencial de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, bem como respostas imunes inatas e adaptativas mediadas pelos vetores ou pelo transgene expresso (FDA, 2016). Liu Y *et al* (2022) destaca que o uso de bactérias preparadas por modificação genética, encapsulação química ou outros métodos precisam ser completamente avaliados em relação as vias metabólicas e aos efeitos toxicológicos *in vivo* antes da aplicação clínica. A patogenicidade é principalmente derivada das bactérias, mas esse defeito pode ser parcialmente removido ou mitigado por meio da desativação de genes de virulência (LIU *et al.*, 2022). No geral, os riscos associados aos vetores microbianos utilizados na terapia gênica devem ser cuidadosamente avaliados e abordados para garantir a segurança e a eficácia da terapia gênica. A FDA alerta que para produtos de vetores microbianos capazes de formar esporos, as condições nas quais os esporos se formam ou replicam, incluindo o(s) local(is) alvo, devem ser bem caracterizadas (FDA, 2016).

Os vetores bacterianos possuem vantagens como produção fácil e barata, capacidade de carga grande e tropismo para tecidos específicos. No entanto, há desvantagens como ativação do sistema imunológico e eficiência de transfeção relativamente baixa (CELEC; GARDLIK, 2016). De acordo com Celec & Gardlik (2016), o uso de vetores bacterianos em terapia gênica pode ser realizado por meio de duas estratégias: bactofecção e terapia gênica alternativa. A terapia gênica alternativa envolve o uso de bactérias geneticamente modificadas para produção direta *in situ* de moléculas terapêuticas, como proteínas ou RNA interferência, sem a necessidade de transferir material genético para o núcleo da célula-alvo. Os autores denominam essa abordagem como alternativa porque o genoma do hospedeiro não é afetado, representando uma alternativa à transferência padrão de genes para o núcleo da célula-alvo. A bactofecção é uma estratégia de terapia gênica que utiliza bactérias como vetores para entrega de material genético em células-alvo. Nessa abordagem, as bactérias são geneticamente modificadas para carregar e expressar genes terapêuticos. As bactérias são então administradas ao paciente, onde colonizam tecidos específicos e entregam o material genético para as células-alvo. A principal diferença entre a terapia gênica alternativa e a bactofecção é que, na primeira, as bactérias são usadas para produzir diretamente as moléculas terapêuticas, enquanto na bactofecção, as bactérias são usadas como vetores para entregar material genético para as células-alvo. Além disso, na terapia gênica alternativa, as bactérias podem ser controladas externamente para produzir as moléculas terapêuticas, enquanto na bactofecção, a expressão do material genético é controlada pela célula-alvo. A terapia gênica alternativa tem vantagens em relação à bactofecção, como a ausência de efeitos genômicos fora do alvo e a capacidade de interromper facilmente o tratamento com antibióticos. No entanto, a sobrevivência das bactérias é necessária por

mais tempo na terapia gênica alternativa, o que pode ser um desafio (CELEC; GARDLIK, 2016).

Uma recomendação regulatória específica para produtos de terapia gênica baseados em microrganismos é a necessidade de definição das propriedades físicas e bioquímicas do produto, características de crescimento, marcadores genéticos (por exemplo, mutações, resistência a antibióticos) e localização e descrição de quaisquer genes estrangeiros e elementos regulatórios inseridos (FDA, 2016).

Liu et al (2022) destaca desafios para o uso de vetores microbianos em terapia gênica, tais como determinar se os genes geneticamente inseridos podem se espalhar para os genomas de outras bactérias ou células de mamíferos; se os vetores podem colonizar de forma estável e produzir os substratos esperados nos locais-alvo; se eles interagem com a flora intestinal, e como prendê-los nos tecidos desejados e removê-los uma vez que tenham cumprido sua missão. Tais questões ressaltam a importância de investigar a estabilidade genética dos genes inseridos nos microrganismos em condições fisiológicas normais (LIU et al., 2022).

Para fins de exemplo, segue descrição de um produto apresentado ao Comitê Técnico de Terapias Avançadas (CAT), da *European Medicines Agency* (EMA) para classificação regulatória. O referido produto contém cepa de *Lactococcus lactis*, geneticamente modificada, projetada para secretar pro-insulina humana e IL-10 humana, para tratamento do diabetes mellitus tipo 1 de início recente. O mecanismo de ação proposto é a indução de tolerância imunológica a antígenos das células beta por meio da produção local de proinsulina humana e IL-10 no trato gastrointestinal. Segundo a CAT/EMA o efeito terapêutico está diretamente relacionado ao produto da expressão genética do transgene humano da sequência recombinante, desta forma o produto se enquadra na definição de um produto de terapia gênica, com parecer técnico emitido em 2 de junho de 2020 (EMA, 2023).

#### 7.4.5 Terapia Gênica por Edição Genômica

O avanço das tecnologias de edição genômica permitiu a alteração precisa de genomas para diversas aplicações, incluindo engenharia de plantas e animais, geração de linhagens celulares para pesquisa básica, terapia gênica em humanos e aplicações industriais. Essas tecnologias estão em constante desenvolvimento, impulsionadas pelo aprimoramento da ciência e da engenharia genética (LI et al., 2019). A suplementação gênica (OCCELLI et al., 2017), silenciamento gênico (LI et al., 2023), substituição gênica (LI et al., 2023) e edição gênica (MAEDER; GERSBACH, 2016) são as quatro abordagens fundamentais da terapia genética.

A edição genômica envolve a introdução controlada de quebras de dupla hélice (do inglês, *Double-Strand Break* - DSBs) em sequências de DNA específicas. A introdução de quebras de dupla hélice, das duas fitas de DNA que compõem a hélice dupla, é um processo usado na tecnologia de edição genômica para modificar o DNA de forma precisa e controlada. Quando uma quebra de dupla hélice ocorre, as células têm mecanismos de reparo para corrigir o dano no DNA. Existem dois principais mecanismos de reparo utilizados pelas células: junção de extremidades não homólogas (do inglês, “*Non-Homologous End Joining*” - NHEJ) e reparo direcionado por homologia (do inglês, “*Homology-Directed Repair*” - HDR). O NHEJ é um mecanismo de reparo de DNA que ocorre em várias fases do ciclo celular. Nesse processo, as extremidades das quebras de DNA são religadas, muitas vezes resultando em pequenas inserções ou deleções na região afetada. Essa abordagem pode ser aproveitada, por exemplo, para a inativação de genes específicos. Já o HDR é um mecanismo que ocorre predominantemente nas fases S e G2 do ciclo celular. Ele utiliza uma sequência de DNA homóloga como modelo para reparar a quebra, permitindo a correção precisa da sequência de DNA. Por meio do HDR, é possível substituir ou inserir genes específicos no local da quebra, possibilitando a introdução de alterações desejadas no genoma (KIM; KIM, 2014), (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014). Essas quebras podem ser induzidas por meio de várias ferramentas, como nucleases de dedo de zinco (do inglês, *Zinc-Finger Nuclease* - ZFNs), nucleases efetoras de ativadores de transcrição (do inglês, “*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*” - TALENs) e o sistema CRISPR/Cas9 (do inglês, “*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9*”). Essas ferramentas podem afetar o reparo, a adição ou a exclusão de uma sequência genética por meio de silenciamento gênico, exclusão de éxons, regulação gênica, supressão gênica e alterações de nucleotídeos (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014).

A tecnologia pode ser composta por um único componente de edição genômica ou por vários componentes, que podem incluir a nucleasse, os elementos de direcionamento de DNA e o modelo de DNA doador, quando aplicável. A nuclease é uma enzima que cliva o DNA em locais específicos e pode ser usada para introduzir quebras de dupla hélice em locais específicos do genoma. Os elementos de direcionamento de DNA, como os RNAs guia, são usados para direcionar a nuclease ao local desejado no genoma. O modelo de DNA doador é utilizado para reparar as DSBs e introduzir mudanças específicas na sequência de DNA. Em alguns casos, a nuclease e os elementos de direcionamento de DNA podem ser combinados em uma única molécula, como no caso do sistema CRISPR/Cas9, que utiliza um RNA guia único para direcionar a nuclease Cas ao local alvo. O uso de múltiplos componentes pode aumentar a especificidade e a eficiência do processo de edição genômica, permitindo um controle mais preciso sobre as alterações feitas no genoma (GAJ; GERSBACH; BARBAS, 2013), (BARMAN et al., 2017).

A edição gênica pode ocorrer também independente de nucleases com técnicas que modificam o DNA sem clivá-lo. Esses métodos incluem, não se limitando, a edição de bases,

a edição prime e a edição epigenética. A edição de bases utiliza uma forma modificada de CRISPR-Cas9 para alterar um único nucleotídeo na sequência de DNA. A edição prime utiliza uma proteína de fusão para introduzir diretamente novas informações genéticas em um local específico do DNA. Por outro lado, a edição epigenética modifica as marcações químicas no DNA que controlam a expressão gênica sem alterar a sequência de DNA subjacente. Essas tecnologias têm o potencial de serem mais precisas e eficientes do que os métodos tradicionais de edição gênica baseados em nucleases e podem ter aplicações importantes em áreas como medicina e agricultura (KOMOR et al., 2016), (ANZALONE et al., 2019), (DASGUPTA; FLOTTE; KEELER, 2021).

A FDA conceitua edição de genoma (do inglês, *genome editing*), como um processo pelo qual sequências de DNA são adicionadas, deletadas, alteradas ou substituídas em locais específicos no genoma de células somáticas humanas, tanto *ex vivo* como *in vivo*, utilizando tecnologias de edição gênica dependentes ou independentes de nucleases. Estes produtos são enquadrados como produtos de terapia gênica (FDA, 2022). Para as modificações genéticas em células *ex vivo*, usando técnicas de edição do genoma, a FDA estabelece que é fundamental fornecer informações detalhadas sobre o gene ou genes que foram alterados, incluindo a identificação desse(s) gene(s) específico(s) e uma descrição de como ocorreram as mudanças genéticas. Além disso, a Agência Reguladora salienta que é importante mencionar qual tecnologia de edição do genoma foi utilizada, como CRISPR-Cas9, nucleases de dedo de zinco (ZFNs) ou nucleases efetoras de repetição em tandem (TALENs). Essas informações são cruciais para a compreensão do processo de modificação genética realizado nas células e para avaliar os efeitos potenciais dessa alteração no funcionamento dos genes e no comportamento das células modificadas (FDA, 2020).

Na área de terapia gênica, é fundamental estabelecer diretrizes e recomendações para o acompanhamento de longo prazo de pacientes que receberam tratamentos com esses produtos inovadores. Isso se deve ao potencial aumento de riscos associados a resultados indesejáveis e imprevisíveis, que podem se manifestar como eventos adversos tardios. Esse período é denominado “acompanhamento de longo prazo” (do inglês, *Long Term Follow-Up - LTFU*), sendo esta estratégia aplicada pelas principais autoridades sanitárias mundiais. A FDA (FDA, 2020) estabelece recomendações quanto à duração desse acompanhamento, considerando diferentes tipos de vetores e produtos utilizados. Por exemplo, devem ser monitorados por um período de até 15 anos os produtos a base vetores de integração, como vetores gammaretrovirais, lentivirais e elementos transponíveis; vetores de vírus herpes ou vírus oncolíticos capazes de estabelecer latência; vetores microbianos conhecidos por estabelecer infecção persistente e produtos de edição do genoma. Já os vetores de AAV têm um prazo de acompanhamento de até cinco anos. A Agência alerta que é importante considerar uma abordagem baseada no risco ao determinar a duração de um protocolo de acompanhamento de longo prazo (FDA, 2020).

A EMA estabeleceu diretrizes para terapia gênica *in vivo* e para terapia gênica *ex vivo*, considerando a edição do genoma, embora não contenham uma descrição específica para essa técnica nos documentos disponíveis. Um ponto interessante descrito na diretriz europeia de produtos de terapia gênica *in vivo* é a aplicabilidade aos produtos que contenham sequências de ácido nucleico recombinante (por exemplo, vetores de DNA) ou micro-organismos, ou vírus geneticamente modificados, podendo incluir ferramentas de edição do genoma, desde que contenham elementos recombinantes, como vetores de entrega (EMA, 2018). Ao usar o termo “ácido nucleico recombinante” para descrever todas as formas de edição do gene *in vivo*, pode não ser muito preciso porque há possibilidades de que o ácido nucleico ativo não seja produzido por meio da “recombinação”, e também há situações que algumas moléculas e vetores de edição do gene não conterão ácido nucleico de forma alguma. Por exemplo, o CRISPR poderia ser entregue como uma ribonucleoproteína, ou seja, uma proteína recombinante e um ácido ribonucleico guia sintético. Esse RNA poderia ser produzido por meio de transcrição *in vitro*, uma síntese baseada em ‘modelo’ que não se encaixaria na descrição de recombinação na legislação da União Europeia. Corroborando com esta análise, a própria Agência Europeia reconhece que algumas abordagens de edição gênica podem não se encaixar na definição tácita de um produto de terapia gênica. Apesar disso, muitas considerações relacionadas ao *design* e a segurança aplicadas ainda podem ser relevantes para os medicamentos em questão. O mesmo se aplica a sequências terapêuticas sintetizadas quimicamente, conforme discutido acima não se enquadram no modelo regulatório de terapia gênica por não serem fabricados como produtos biológicos (EMA, 2018).

No documento referente as diretrizes da agência europeia sobre produtos de terapia gênica a base de células geneticamente modificadas, a EMA explicita não haver evidências clínicas suficientes para fornecer orientações específicas sobre estudos com células editadas geneticamente *ex vivo* ou células-tronco pluripotentes induzidas (iPS). No entanto, os princípios gerais de avaliação de benefício/risco se aplicam a estas tecnologias. Isso significa que os estudos devem ser conduzidos considerando-se os aspectos para garantir a segurança e a eficácia das terapias com células geneticamente modificadas, por meio de técnicas de edição do genoma (EMA, 2021).

Na Anvisa não há descrição em normativas sobre os produtos de edição do genoma. Mas é provável que a Agência adote o mesmo enquadramento que FDA e EMA, inserindo os produtos de edição genômica no escopo regulatório dos produtos de terapia gênica.

É necessário considerar os aspectos da qualidade e de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para todos os componentes envolvidos no processo de edição do genoma (FDA, 2022), tais como:

- 1) Vetores (virais ou não virais) que carregam o ácido nucleico,
- 2) RNA mensageiro ou a própria enzima modificadora,

- 3) Sequências genéticas (por exemplo, um RNA guia regulatório) ou ribonucleoproteínas (por exemplo, a proteína Cas9 pré-complexada com o RNA guia) necessárias para a modificação específica do genoma celular,
- 4) Molde de reparo (por exemplo, um fragmento de DNA linear ou um plasmídeo) e os componentes para a produção desses materiais.

Embora as possibilidades terapêuticas desses produtos sejam evidentes, os riscos associados ainda não são totalmente compreendidos. Segundo a FDA, a avaliação do perfil de benefício-risco para cada produto depende da indicação proposta e da população de pacientes, da extensão e duração dos benefícios terapêuticos alcançados e da disponibilidade de opções terapêuticas alternativas. Existem riscos específicos associados às abordagens de edição genômica, tais como edição fora do alvo e consequências, imediatas e de longo prazo, não intencionais da edição em locais-alvo e fora deles (FDA, 2022).

As tecnologias de edição do genoma podem apresentar riscos desconhecidos e imprevisíveis aos pacientes com eventos adversos tardios. Isso pode ser atribuído à alteração permanente do genoma e à possibilidade de que alterações genômicas não intencionais resultem em expressão gênica anormal, translocações cromossômicas e indução de malignidades (FDA, 2022).

Ao desenvolver um produto de terapia gênica utilizando tecnologia de edição genômica, a FDA (FDA, 2022) recomenda que se leve em consideração: 1) o método pelo qual a alteração da sequência de DNA será realizada; 2) o tipo de modificação genômica necessária para obter o efeito terapêutico desejado; e 3) o método de entrega dos componentes de edição genômica. Essas considerações relacionam-se com a busca pela segurança e eficácia desses produtos.

#### 7.4.5.1 Ferramentas de Edição do Genoma

Os avanços científicos no conhecimento genético e na tecnologia de edição do genoma implicam que cada intervenção em riscos e benefícios requer uma consideração robusta, dependendo de um complexo número de fatores técnicos, éticos e sociais. A interpretação dos riscos associados à edição genômica dependerá do tipo e gravidade da doença. Cada técnica deve ser avaliada individualmente para a aplicação clínica, considerando seus riscos e benefícios.

#### **ZFN (Zinc Finger Nucleases) e TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases)**

Tanto as ZFNs quanto as TALENs são proteínas projetadas que podem ser desenhadas para direcionar sequências específicas de DNA e induzir quebras de dupla hélice (DSBs) nesses locais. Uma sequência de reconhecimento de 18 a 40 bases é necessária para formar DSB, o que é duas vezes o comprimento da sequência reconhecida por uma única enzima artificial. Isso torna a especificidade de reconhecimento alto do DNA alvo pelo ZFN e pelo TALEN (GAJ; GERSBACH; BARBAS, 2013).

As nucleases do tipo ZFN são enzimas artificiais que foram projetadas para reconhecerem sequências específicas de DNA e clivá-las em locais precisos, com a enzima de clivagem de DNA chamada de Fok I. A montagem dessas proteínas e enzimas requer tecnologias sofisticadas de *design* de proteínas (GAJ; GERSBACH; BARBAS, 2013). TALEN é outra ferramenta de edição genômica que utiliza um tipo de proteína chamada TAL (*Transcription Activator-Like*), derivada de plantas, para reconhecer sequências específicas de DNA. Cada módulo TAL é composto por 34 aminoácidos e reconhece um nucleotídeo do DNA. Ao ligar diferentes módulos TAL, que reconhecem as bases A, G, C ou T, é possível direcionar a enzima de clivagem de DNA Fok I para cortar sequências específicas do DNA. Normalmente, TALENs são projetadas para reconhecer de 15 a 20 nucleotídeos, utilizando de 15 a 20 módulos TAL (MUSSOLINO et al., 2011), (GAJ; GERSBACH; BARBAS, 2013).

As ZFNs e TALENs tem sido usadas em diversas aplicações tanto na pesquisa aplicada quanto no desenvolvimento de produto de terapia gênica (HOCKEMEYER et al., 2011), (BJURSTRÖM et al., 2017). Em comparação com outras ferramentas de edição do genoma, como o CRISPR/Cas9, as ZFNs e TALENs apresentam algumas vantagens, como maior especificidade e menor ocorrência de efeitos fora do alvo e desvantagens no processo de construção e produção (CUI et al., 2021).

### **CRISPR/Cas**

Os dois componentes principais do sistema CRISPR/Cas são as repetições palindrômicas curtas agrupadas e as proteínas associadas ao CRISPR (Cas), do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated (CRISPR/Cas)*. Esta ferramenta de edição do genoma foi adaptada do sistema imunológico procariótico que fornece proteção contra bacteriófagos e outros parasitas (BONDY-DENOMY et al., 2015). O locus CRISPR é uma região específica do material genético dos procariontes onde estão localizadas as repetições palindrômicas curtas agrupadas (CRISPR). Essas repetições são intercaladas com pequenos pedaços de DNA de vírus ou plasmídeos que infectaram os organismos na sua história evolutiva. Quando um vírus com uma sequência de DNA que corresponde a uma parte do histórico de ameaça, contido no locus CRISPR, infecta uma célula, essa célula consegue reconhecer o DNA viral e iniciar uma resposta de defesa. A célula produz um complexo guia contendo um RNA sendo transcrito a partir da sequência de DNA viral presente no locus CRISPR. Esse RNA guia (gRNA) é complementar à região alvo do DNA viral. Em outras palavras, ele possui

sequências de nucleotídeos que são complementares à sequência de DNA do vírus (TANG; FU, 2018), (HILLARY; CEASAR, 2022). A proteína Cas9, por exemplo, é uma das proteínas associada ao CRISPR que se liga ao gRNA e utiliza-o para reconhecer e se ligar à sequência de DNA complementar no DNA viral. A Cas9 consegue cortar a fita dupla do DNA viral na região em que há essa compatibilidade entre o gRNA e a sequência de DNA viral. Esse corte pode levar à inativação do DNA viral ou a outras consequências que impedem a replicação e a infecção do vírus. Quando o gRNA se liga ao DNA alvo complementar, a Cas9 corta o DNA, criando uma quebra de fita dupla. O sistema de reparo do DNA da célula pode então consertar a quebra, mas às vezes introduz erros no processo, resultando em inserções ou deleções de bases. Essas alterações no DNA podem inativar genes específicos ou introduzir novas sequências, permitindo a modificação precisa do genoma (ZHENG et al., 2020), (MCBRIDE et al., 2023). Essa especificidade de reconhecimento e corte do DNA torna o sistema CRISPR/Cas uma ferramenta eficiente para a edição do genoma em diferentes aplicações. Uma gRNA complementar à sequência de DNA alvo é responsável pelo reconhecimento de sequências de DNA específicas em CRISPR/Cas. Ao contrário dos ZFNs e TALENs, a enzima Cas é uma nuclease capaz de cortar o DNA em locais específicos, enquanto o gRNA é uma molécula curta de RNA que dirige uma enzima Cas para a sequência de DNA alvo (ZHENG et al., 2020), (HILLARY; CEASAR, 2022), (MCBRIDE et al., 2023).

O CRISPR/Cas possui muitas aplicações potenciais, incluindo terapia gênica, modelagem de doenças e biotecnologia agrícola (HILLARY; CEASAR, 2022). Também existem preocupações com os possíveis efeitos fora do alvo, como inserções e deleções de sequências, que podem resultar em mudanças não intencionais na sequência de DNA em locais diferentes do alvo desejado (FU et al., 2013), (MALI et al., 2013). No entanto, é difícil caracterizar os exatos efeitos fora do alvo que ocorrem raramente, especialmente aqueles observados apenas em um pequeno número de células. Portanto, uma avaliação cuidadosa e validação dos sistemas CRISPR/Cas são necessárias para se avançar nas aplicações clínicas.

#### 7.4.5.2 **Abordagem do Risco**

A FDA tem discutido vários riscos e preocupações associados à terapia gênica com edição do genoma, tais como mutações imprevistas em outras partes do genoma, efeitos a longo prazo desconhecidos, reações imunológicas em relação aos componentes da edição e riscos de disseminação não intencional. Além disso, por se tratar de uma tecnologia relativamente nova há preocupações regulatórias em relação à segurança e eficácia desses produtos, além de questões éticas com uso irracional das técnicas de edição genômica

([FDA, 2022](#)).

Devido à inovação destes produtos e do pouco conhecimento clínico disponível é fundamental buscar a compreensão dos riscos potenciais desta nova tecnologia. A escolha dos melhores métodos de entrega dos sistemas de edição genômica dependerá do tipo de modificação genética desejada, da especificidade das células alvo e da capacidade do vetor de entrega alcançar o alvo desejado ([FDA, 2022](#)).

Os riscos associados à edição do genoma inclui o risco de mutações fora do alvo e o risco de mutação não intencional no local de clivagem ([DOUDNA; CHARPENTIER, 2014](#)), ([MARINO et al., 2020](#)). O risco de mutações fora do alvo refere-se à possibilidade de que a edição do genoma afete genes ou regiões do DNA que não eram o alvo pretendido. Isso pode ocorrer quando a ferramenta de edição direciona um local diferente no genoma do que o pretendido, resultando em mudanças não intencionais na sequência de DNA dessas células. O risco de mutação não intencional no local de clivagem refere-se à possibilidade de que a ferramenta de edição cause mutações inesperadas no local de clivagem pretendido, resultando em mudanças não intencionais na sequência de DNA dessas células ([DOUDNA; CHARPENTIER, 2014](#)), ([MARINO et al., 2020](#)).

Ambos os riscos podem ter consequências não desejadas, como afetar a função de genes importantes ou causar mutações que podem levar a doenças. Por exemplo, o sistema CRISPR/Cas9 consiste em uma nuclease Cas9 complexada com um RNA guia específico (gRNA), sendo este último contendo uma sequência complementar à sequência alvo do DNA. No entanto, o gRNA também pode se ligar, de formas não intencionais, em sequências de DNA semelhantes, contendo variações ou inserções e deleções (*INDELS*, do inglês, "*insertion*" (IN) e "*deletion*" (DEL)), resultando em edições fora do alvo. Efeitos fora do alvo podem aumentar a toxicidade celular, tumorigênese das células devido à ativação direta de oncogenes ou na inativação de genes supressores oncológicos. No geral, os estudos sugerem que os efeitos fora do alvo representam um risco significativo na edição do genoma, com resultados permanentes e irreversíveis ([DOUDNA; CHARPENTIER, 2014](#)), ([MARINO et al., 2020](#)).

Outra consequência de inserções ou deleções fora do alvo é o risco de modificação não intencional de genes em células germinativas, especialmente no contexto da edição genômica *in vivo*, em particular em pacientes pediátricos ou pacientes em idade reprodutiva. Avanços recentes têm introduzido tecnologias alternativas que permitem a engenharia genética sem a necessidade de clivagem genômica, reduzindo assim o risco de mutações cromossômicas ([CYRANOSKI, 2016](#)), ([TANG; FU, 2018](#)), ([ADLI, 2018](#)), ([GUO et al., 2023](#)). Também foi relatado que, uma vez que as DSBs são introduzidas, a ocorrência de mutações indesejadas não apenas nos locais alvo, mas também nos locais fora do alvo é uma preocupação. O risco de tumorigênese devido a essas aberrações cromossômicas também deve ser considerado ([KOSICKI; TOMBERG; BRADLEY, 2018](#)), ([DILLIARD; SIEGWART, 2022](#)).

Ihry et al (2018) (IHRY et al., 2018) descrevem o risco de mutações em genes de reparo do DNA em células editadas geneticamente. Relata-se que foram observadas mutações no gene supressor de tumor p53 em células que sofreram modificação genética por edição do genoma baseada em reparo direcionado por homologia (HDR), com risco de tumorigenicidade (HAAPANIEMI et al., 2018).

Tanto as tecnologias de edição do genoma quanto as outras metodologias aplicadas em terapias gênicas que se utilizam de vetores integrativos, como vetores retrovirais e lentivirais, ocorrem modificações no genoma. Nessa perspectiva, o risco de seus efeitos fora do alvo em ambos os tipos de produtos deverá ser semelhante. No entanto, o risco de malignidades (desenvolvimento de câncer) pode variar entre as células-alvo. A edição do genoma pode causar translocações cromossômicas, deleções e outras alterações, que podem gerar proteínas quiméricas cancerígenas ou destruir genes supressores de tumor (IHRY et al., 2018). O risco de carcinogênese parece depender do tipo de célula. Células diferenciadas tendem a ser mais resistentes ao risco de carcinogênese do que células indiferenciadas. Por outro lado, células-tronco pluripotentes induzidas (iPS), células-tronco embrionárias e células hematopoéticas têm um risco maior de carcinogênese do que outras células somáticas (HACEIN-BEY-ABINA et al., 2003), (KOSICKI; TOMBERG; BRADLEY, 2018).

Outro risco esperado nestes tipos de produtos é a imunogenicidade das enzimas de edição do genoma, visto que as enzimas que quebram o DNA, como a proteína Cas, por exemplo, são derivadas de bactérias. Segundo Bonillo et al. (2022) (BONILLO; PFROMM; FISCHER, 2022) a imunogenicidade das enzimas é um desafio significativo no desenvolvimento de terapias gênicas baseadas em edição genômica, com potencial para inativação das células editadas, reduzindo os benefícios terapêuticos (CHEW et al., 2016), (LI et al., 2020).

#### 7.4.5.3 Questões Éticas

Há uma discussão na sociedade sobre as questões éticas em relação à aceitação geral da modificação ou edição do genoma de células somáticas, visando obter benefícios claros à saúde, desde que seja uma relação benefício-risco favorável. Há precedentes éticos similares no campo do transplante de tecidos e órgãos sólidos, no transplante de células-tronco hematopoéticas e na transfusão de sangue (KESSLER et al., 1993). Todos os procedimentos envolvem um receptor (paciente) cujas células contêm material genético (sequências de DNA) diferentes dos oriundos das células do doador. Para garantir a realização desses procedimentos foram estabelecidos preceitos éticos, políticas específicas e diretrizes regulatórias, com visões sociais e culturais diferenciadas nas regulamentações

aplicadas de cada país, destacando a doação voluntária, o consentimento livre e esclarecido e o uso para tratamento de doenças, dentre outras (COLLER, 2019). Neste sentido as premissas da terapia gênica somática e outros produtos de terapias avançadas, considerando uso de material genético diferentes daqueles presentes no paciente, baseiam-se nos objetivos de tratar doenças graves, raras e sem alternativas terapêuticas. Como um subconjunto da pesquisa de medicamentos ou produtos terapêuticos em seres humanos, a edição do genoma realizada em qualquer lugar do mundo deve estar conforme as convenções internacionais e normas de proteção dos direitos humanos relacionados à experimentação em seres humanos (COLLER, 2019).

A literatura analisada contém uma variedade de discussões acadêmicas, perspectivas e opiniões sobre as implicações éticas, legais e sociais da edição do genoma. Essas discussões se concentraram principalmente na edição genômica da linhagem germinativa humana ou hereditária. Os questionamentos surgem quando das possibilidades das intervenções genéticas terapêuticas para corrigir mutações em células reprodutoras ou mesmo embriões parecem ser terapêuticamente justificáveis à luz dos princípios deontológicos médicos que priorizam o benefício do paciente individual sobre as considerações coletivas. O dilema se aprofunda em contextos de edição genômica em situações do uso destas tecnologias para melhorias estéticas e de desempenho de competências humanas (LANDER, 2016).

Em maio de 2015, foi publicado um primeiro relato de modificação do DNA de um embrião humano usando edição genômica por CRISPR/Cas9 por cientistas chineses. Pouco depois, em dezembro de 2015, um grupo internacional de líderes científicos da China, Reino Unido e Estados Unidos publicaram um documento intitulado “*International Summit on Human Gene Editing: A Global Discussion*”, em que declararam conjuntamente que: “Seria irresponsável prosseguir com qualquer uso clínico da edição do genoma germinal, a menos que e até que as questões relevantes de segurança e eficácia tenham sido resolvidas. . . e haja um amplo consenso social sobre a adequação da aplicação proposta” (NATIONAL ACADEMIES SCIENCES ENGINEERING MEDICINE, 2015).

Apesar de as discussões de dilemas éticos não serem objetivos desde estudo, importante mapear e recomendar o aprofundamento desta temática de grande apelo social e desdobramentos políticos e regulatórios.

#### 7.4.5.4 Exemplos e Perspectivas

Para fins de exemplo, segue descrição de produtos apresentados ao Comitê Técnico de Terapias Avançadas (CAT), da *European Medicines Agency (EMA)* para classificação regulatória (EMA, 2023). Em geral, o enquadramento regulatório acontece no processo

inicial de desenvolvimento clínico de um produto terapêutico. Neste sentido, tratam-se de produtos em fase de ensaios clínicos:

- 1) Células CAR T geneticamente modificadas mediadas por CRISPR/Cas9 alogênico, direcionadas ao antígeno CD19 para o tratamento de neoplasias hematológicas CD19+. O parecer de enquadramento como um produto de terapia gênica foi emitido 5 de maio de 2020.
- 2) Partículas de vírus bacteriófagos carregando DNA recombinante, que codifica sistemas de CRISPR/Cas que permitem a eliminação específica de bactérias *E. coli* através da introdução de quebras programadas de dupla fita no DNA bacteriano, para o tratamento de infecção por *E. coli* na corrente sanguínea em pacientes neutropênicos com malignidade hematológica. O parecer de enquadramento como produto de terapia gênica foi emitido em 19 de fevereiro de 2021.
- 3) RNAm codificante para um editor de base de adenina e o ácido ribonucleico guia (gRNA) direcionando o gene da enzima serina protease subtilisina/kexina tipo 9, pró-proteína conversora para o tratamento de adultos com hipercolesterolemia familiar heterozigótica (HeFH), que necessitam de terapia adicional para redução do LDL-C. O parecer de enquadramento como produto de terapia gênica foi emitido em 10 de dezembro de 2021.

Nos Estados Unidos, em março de 2021, a FDA aprovou o primeiro ensaio clínico com produto de terapia gênica de edição de genoma baseado em CRISPR para corrigir diretamente a mutação no gene beta-globina responsável pela doença falciforme (SANDERS, 2021). Recentemente, em abril de 2023 foi anunciado que as empresas Vertex and CRISPR'sPharmaceutical submeteram documentação ao FDA para o registro, que poderá se tornar o primeiro produto de terapia gênica de edição genômica aprovado para uso terapêutico em humanos no mundo (KINGWELL, 2023).

Baseado na literatura estudada e nas propostas de diretrizes da FDA e EMA, pode-se consolidar elementos de avaliação de riscos para subsidiar decisão em aplicações clínicas, tanto em ensaios clínicos quanto em uso populacional dos produtos de terapia genica com edição de genomas, a citar:

- Identificação da atividade de edição fora do alvo, incluindo o tipo, a frequência e a localização de todos os eventos de edição fora do alvo.
- Avaliação da integridade genômica, incluindo rearranjos cromossômicos, inserções ou deleções grandes, integração de DNA exógeno e potencial de oncogenicidade ou mutagênese por inserção. Para células modificadas *ex vivo*, isso pode incluir a avaliação de expansão clonal e/ou proliferação desregulada. Avaliação das

consequências biológicas associadas à edição no alvo e fora do alvo, quando possível.

- Imunogenicidade dos componentes de edição gênica e do produto gênico expresso.
- Caracterização do perfil cinético de expressão dos componentes de edição gênica e atividade de edição.
- Avaliação da viabilidade e de sobrevivência seletiva das células editadas, com respectiva vantagem clínica.
- Preservação da funcionalidade celular após a edição gênica (por exemplo, capacidade de diferenciação para células progenitoras).
- Avaliação do potencial de modificação acidental da linhagem germinativa.

Segundo Doudna (2020) ([DOUDNA, 2020](#)) a edição terapêutica do genoma, ou seja, a terapia gênica com edição de genoma será uma realidade, pelo menos para algumas doenças, nos próximos 5 a 10 anos. Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna foram premiadas com o Prêmio Nobel de Química de 2020 por seu trabalho no desenvolvimento do sistema CRISPR-Cas9, ou seja, por desenvolver um método de edição gênica ([ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES, 2020](#)). Doudna ([DOUDNA, 2020](#)) escreve que a oportunidade profunda de transformar a saúde de muitas pessoas requer que cientistas, clínicos, bioeticistas, economistas e reguladores trabalhem em conjunto para garantir resultados seguros, eficazes e acessíveis, porque o impacto potencial nos pacientes é demasiadamente importante para ser adiado.

## **7.5 Conclusão**

O setor biofarmacêutico experimenta nos últimos anos uma revolução no desenvolvimento de produtos terapêuticos devido aos avanços tecnológicos do campo da biologia molecular. O surgimento e o avanço de novas abordagens de intervenções terapêuticas com terapia gênica para doenças raras e sem alternativas de tratamento aprovados para uso populacional tem sido marcos significativos na medicina atual. Inúmeros produtos estão sendo atualmente desenvolvidos para uma variedade de indicações clínicas, como câncer, doenças autoimunes, oftalmológicas, neurológicas, distúrbios alimentares, doenças metabólicas e sensoriais. Doenças genéticas e malignidades hematológicas representam a aplicação clínica mais bem-sucedida, embora o uso da terapia gênica em doenças mais complexas também esteja sendo testadas.

Mesmo que os primeiros testes em humanos tenham ocorrido na década de 1970, na Europa, a regulamentação para os produtos de terapias avançadas só foi totalmente implementada em 2009 e o primeiro produto de terapia gênica aprovado em 2012. Esta é uma característica da regulação sanitária, em que a ciência avança mais rápido do que a implantação das regras regulatórias de controle, visto que as evidências científicas são a base para a regulação.

Uma compreensão abrangente dos desafios e riscos no desenvolvimento de produtos de terapia gênica é fundamental ao planejar pesquisa e desenvolvimento, bem como estabelecer as diretrizes de gerenciamento e controle dos riscos. A escolha cuidadosa do vetor é o ponto de partida para a busca de uma entrega eficaz de genes terapêuticos, além de superar as questões de segurança imunogênicas e oncogênicas. A aplicação de modelagens de acompanhamento a longo prazo de pacientes com tecnologias de dados de vida real parece ser uma medida útil à devida compreensão da segurança, eficácia e qualidade destes produtos a base de genes.

As terapias avançadas, principalmente terapia gênica, já estão ocasionando mudanças drásticas e de impacto na saúde pública. Implicações para o gerenciamento de riscos precisam ser ainda completamente compreendidas para avançar nas estratégias de controle oportunas. Além disso, o alto preço antecipado destes produtos deve suscitar modelos de negócio viável e sustentável, principalmente em países de média e baixa renda, sendo um desafio adicional ao Brasil, no Sistema Único de Saúde (SUS).

# 8 MAPEAMENTO DOS RISCOS SANITÁRIOS DOS PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA

## 8.1 Introdução

Os produtos de terapias avançadas representam uma classe inovadora de medicamentos com potencial de benefício clínico em diversas áreas terapêuticas, incluindo áreas com disponibilidade limitada de terapia, tais como doenças raras e condições sem alternativas de tratamento disponíveis. Estes medicamentos especiais, denominados produtos de terapias avançadas, configuram um complexo e heterogêneo grupo de produtos a base de células, tecidos e genes, denominados produtos de terapia celular avançada, produtos de engenharia tecidual e produtos de terapia gênica. Compartilhando requisitos adaptativos de desenvolvimento, modelagens diferenciadas de aprovação regulatória e critérios de garantia da qualidade farmacêutica baseados em abordagens de riscos, estes produtos inovadores carecem ainda de monitoramento especializado de longo prazo, devido às incertezas científicas e riscos inerentes.

A constante evolução e inovação científica, tecnológica e social na saúde impõem desafios contínuos ao desenvolvimento e simultaneamente pressiona à inovação nas estratégias regulatórias. Equilibrar a crescente complexidade dos produtos biotecnológicos e as demandas sociais por melhores tecnologias de tratamentos disponíveis exigem estratégias de governança regulatória incrementais para lidar com os riscos e incertezas de novos produtos (OECD, 2010).

O conceito de “risco” geralmente se refere a situações em que pode ocorrer um resultado indesejado. No âmbito das tecnologias emergentes, os riscos muitas vezes são caracterizados pelas incertezas. Essas incertezas podem ser observadas tanto em relação aos resultados (ou seja, quando o resultado é desconhecido, como no caso de tecnologias ou produtos com poucos ou nenhum comparativo), quanto em situações em que os riscos são previstos, mas as probabilidades não são determinadas (AYYUB; MCGILL; KAMINSKIY, 2007). Em uma abordagem ainda mais ampla e holística do conceito de risco, alguns pesquisadores optaram por expandir a ideia além da “definição técnica da gravidade do perigo combinada com a probabilidade de ocorrência ou exposição a danos”. Inclui-se os fatores que influenciam a percepção e a gestão do risco, como o grau de impossibilidade de gerenciamento, a irreversibilidade do dano e a preocupação pública com os perigos potenciais (CUMMINGS; KUZMA, 2017), num espaço social que determina a forma como as pessoas percebem o risco e valorizam a prevenção, mitigação ou aceitação (NASA, 2011), (NASEM, 2017).

Os riscos sanitários, que interseccionam “probabilidade e gravidade do dano”, estão no centro da problemática do desenvolvimento e acesso aos produtos de terapia gênica e embora haja uma variedade de partes interessadas, incluindo pacientes e profissionais da saúde, reguladores, formuladores de políticas públicas, pesquisadores e indústria, a proteção e o benefício do paciente deve estar no centro das estratégias do gerenciamento do risco (ICH, 2023). Wang *et al* (2010) (WANG; LIN; HUANG, 2010) define o gerenciamento de riscos como uma abordagem estruturada que é usada para identificação, avaliação e priorização de riscos, seguida pelo planejamento de estratégias para minimizar, monitorar e controlar a probabilidade e o impacto de eventos indesejáveis, possibilitando um gerenciamento proativo, como elemento estruturante das ações de vigilância sanitária (SILVA JÚNIOR; RATTNER; MARTINS, 2016). A interpretação do que constitui um risco aceitável e a determinação das medidas adequadas de mitigação são cruciais para a compreensão do significado e do uso adequado da abordagem regulatória baseada no risco. Integrar o espaço complexo de balanço entre os benefícios e os riscos de um produto terapêutico a ser disponibilizado à população permite que a atenção esteja voltada para situações mais críticas (WANG; LIN; HUANG, 2010). A abordagem baseada no risco é útil às ações de proteção à saúde em que se inserem as funções regulatórias exercidas pelas autoridades de vigilância sanitária aplicadas aos produtos de terapia gênica.

Ao descrever os atributos dos produtos de terapia gênica, a Organização Mundial de Saúde (OMS) enfatiza seus elementos tecnológicos e os riscos associados. É considerado a distinção entre a transferência de genes *in vivo* e *ex vivo*, bem como a importância do gene terapêutico e a característica do vetor de transferência utilizado na modificação genética. Nesse contexto, é necessário considerar aspectos técnicos tanto de vetores virais quanto de vetores não virais (WHO, 2017).

Segundo a *Alliance for Regenerative Medicine (ARM)* (ARM, 2023a), até o início de 2023, haviam 55 aprovações de produtos de terapias avançadas (PTAs) em todo o mundo. Essas aprovações abrangem terapias celulares avançadas autólogas e alogênicas, terapias gênicas baseadas em células modificadas geneticamente *ex vivo*, terapias gênicas *in vivo* utilizando vetores adeno-associados (AAV), vetores lentivirais autodesativados, vírus oncolíticos e produtos de engenharia tecidual, destinados a doenças raras ou sem alternativas terapêuticas, especialmente no caso das terapias gênicas. E da mesma forma observa-se um desenvolvimento expressivo dos PTAs, com mais de 2000 ensaios clínicos regularizados, com 50% envolvendo produtos de terapia gênica experimentais (ARM, 2023a).

O conceito regulatório de produtos de terapia gênica aplicados pelas três autoridades sanitárias competentes, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, do Brasil; *European Medicines Agency - EMA*, da União Europeia e a *Food and Drug Administration - FDA*, dos Estados Unidos, corresponde e converge amplamente entre si (ANVISA, 2021) (EUROPEAN UNION, 2007) (FDA, 2021). Desta forma, é possível definir três pontos de

generalização conceitual para a classificação de um produto de terapia gênica, que deve:

- 1) Se constituir em produto biológico com fins terapêuticos,
- 2) Conter ácido(s) nucleico(s) recombinante(s), e este(s) deve(m) estar diretamente envolvido(s) no mecanismo de ação terapêutica do produto, ou seja, o efeito terapêutico diretamente ligado à sequência de ácido nucleico ou do produto de sua expressão,
- 3) Conter sistemas de vetores diversos: virais, bacterianos, formulações micelares, lipossomas, etc.

A terapia gênica, incluindo a edição do genoma, são áreas promissoras com potencial terapêutico significativo para diversas condições clínicas, como doenças genéticas e oncológicas. No entanto, devido à natureza específica dessas intervenções, é crucial realizar avaliação abrangente dos riscos e benefícios envolvidos, o que pode ser complexo tanto no âmbito científico quanto no regulatório. Com a sistematização do conhecimento científico disponível, especialmente os avanços na compreensão mecanística dos riscos dos produtos de terapia gênica, é possível fornecer base sólida para a identificação, a compreensão e a minimização desses riscos no alcance dos melhores benefícios. Compreender e mapear os riscos sanitários potenciais identificados nos processos de avaliação regulatória dos produtos de terapia gênica é relevante para o aprofundamento do conhecimento e das implicações experimentadas no processo de desenvolvimento. Ademais a aplicação do conhecimento científico no gerenciamento de riscos de novos produtos é o cerne para uma tomada de decisão baseada em evidências e a proposição de mecanismos regulatórios preventivos numa abordagem proativa (WANG; LIN; HUANG, 2010), (SILVA JÚNIOR; RATTNER; MARTINS, 2016).

## 8.2 Objetivo

O objetivo deste estudo é descrever os riscos sanitários e elementos de segurança identificados pelas autoridades sanitárias competentes do Brasil (Anvisa), dos Estados Unidos (FDA) e da União Europeia (EMA) em processos de avaliação dos produtos de terapia gênica aprovados nos respectivos países.

### 8.3 Métodos

Se utilizou uma abordagem exploratória, por meio de pesquisa documental, em fontes primárias, nos documentos relacionados aos produtos de terapia gênica registrados no Brasil, Estados Unidos e União Europeia, até dezembro de 2022. A literatura não científica, como relatórios e documentos governamentais, é uma fonte potencial de dados empíricos para estudos de tópicos definidos (MILLS; BONNER; FRANCIS, 2006). Além disso, os documentos podem ajudar o pesquisador a entender questões de pesquisa, bem como descobrir significados, desenvolver entendimentos e percepções relevantes (MILLS; BONNER; FRANCIS, 2006). Nesta medida, o trabalho analítico se deu com a coleta dos materiais em que o pesquisador elaborou a percepção do fenômeno e guiou-se pelas especificidades e achados do material selecionado (CDC, 2018). O material analisado, que constituiu a base de dados deste estudo, refere-se aos documentos de aprovação e monitoramento dos produtos de terapia gênica, disponíveis publicamente nos sítios eletrônicos oficiais da Anvisa, EMA e FDA. Não foi obtido nenhum tipo de permissão ética e termo de confidencialidade para análise documental, pois todos os documentos utilizados são de domínio público, disponíveis na página eletrônica das agências reguladoras. Para cada produto analisado utilizaram-se os seguintes grupos de documentos dos produtos de terapia gênica registrado na referida Agência, conforme Tabela 9:

**Tabela 9 – Identificação e fonte dos documentos utilizados na pesquisa. Brasil, 2023**

<b>Agência Reguladora/País</b>	<b>Identificação do Documento</b>
Anvisa/Brasil	Carta de Aprovação de Produto de Terapia Avançada <sup>1</sup> Bula do Profissional da Saúde <sup>2</sup>
EMA/União Europeia	<i>European Public Assessment Report (EPAR)</i> <sup>3</sup>
FDA/Estados Unidos	<i>Summary Basis for Regulatory Action (SBRA)</i> <sup>4</sup> <i>Full Prescribing Information (FPI)</i> <sup>4</sup>

1. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/produtos-registrados>.

2. <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/>. 3. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines>.

4. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>

Os referidos documentos oficiais fornecem uma avaliação científica detalhada do produto de terapia gênica, com informações sobre qualidade, segurança e eficácia, bem como os principais dados dos estudos realizados com o produto e as características de sua produção. Os relatórios de aprovação são elaborados pelas Agências Reguladoras, utilizando informações do processo de desenvolvimento do produto fornecidas pelo

responsável do registro sanitário no país, bem como informações sobre o processo de aprovação. A disponibilização destes documentos ao público, preservando informações sigilosas e de segredo industrial, é uma das estratégias utilizadas pelas autoridades sanitárias competentes para promover a transparência e o acesso às informações sobre medicamentos e outros produtos registrados. As supracitadas características tornam os documentos fontes ideais, confiáveis e de acurácia adequada para a extração de dados da pesquisa.

Foram incluídos nos documentos avaliados nesta coorte também os referentes aos produtos aprovados e posteriormente retirados do mercado, ou seja, impedidos de serem utilizados pela população de seus países a pedido da empresa ou por decisão da autoridade sanitária competente. A escolha das agências reguladoras EMA e FDA se deu de forma estratégica por concentrarem a maioria de todos os produtos de terapia gênica registrados atualmente e por serem referências técnicas para a regulação destes produtos mundialmente. A inserção dos documentos dos produtos de terapia gênica registrados na Anvisa, os mesmos também registrados na EMA e FDA, se deu por conveniência com o objetivo de inserir a realidade brasileira. A coleta de dados foi realizada por dois pesquisadores (pesquisador principal e auxiliar) independentes, consolidando o resultado por dupla conferência. As discrepâncias nas informações descritas foram verificadas no documento original, mantendo sempre a fidedignidade do dado.

A primeira etapa da coleta de dados se deu por meio de uma leitura dinâmica inicial e posteriormente pela busca estruturada de palavras-chave. Utilizou-se os termos em português, quando analisado os documentos da Anvisa e em inglês, quando analisado os documentos da EMA e FDA, respectivamente: “risco/risk“, “segurança/safety/safe“, “avisos/warnings“, “precauções/precautions“, “preocupações/concerns“. Numa segunda etapa de pesquisa foi realizada uma leitura consubstanciada dos documentos, numa busca adicional por elementos e pontos de atenção que sinalizaram riscos e segurança, direta ou indiretamente, ao paciente. Aspectos de avaliação de ecotoxicidade e riscos ambientais, presentes nos documentos da EMA e da FDA, visto que estas agências têm a competência para avaliação do organismo geneticamente modificado (OGM), não foram foco deste estudo.

Organizaram-se os registros das frases ou trechos extraídos dos documentos por meio de planilha eletrônica do *Google Forms*. Esta é uma planilha eletrônica, criada pelo *Google Corp*, para gerenciamento de pesquisas organizadas, por meio de formulários personalizados e com dados extraíveis em planilhas Excel da Microsoft (*Microsoft™, Redmond, WA, US*). O formulário eletrônico de coleta de dados foi estruturado com as seguintes informações: 1) identificação do produto, 2) identificação do documento analisado, 3) ano de aprovação do produto na agência reguladora, 4) tipo de produto de terapia gênica, 5) descrição do vetor de transferência, 6) via de administração, 7) doença/intervenção terapêutica, 8) frases de riscos e seguranças detectadas e 9) outras

observações pertinentes. Para cada documento avaliado foram coletadas as supracitadas informações.

Após a organização dos dados na planilha, identificou-se 18 produtos de terapia gênica que integraram a amostra deste estudo. Assim 46 documentos distintos foram avaliados, considerando as três autoridades reguladoras. A segunda análise realizou-se pela organização das frases ou conjunto de frases extraídas dos documentos, totalizando 343 frases obtidas. As referidas frases foram organizadas por produto analisado, identificando-se ao todo 343 riscos correspondentes. Posteriormente foi realizada uma análise minuciosa de cada risco identificado, resultando em agrupamentos por repetições ou similaridades, em 32 tipos de riscos.

Os riscos mapeados foram codificados e classificados nos seguintes descritores:

- 1) Descrição dos riscos,
- 2) Fatores referentes aos riscos,
- 3) Estratégias de mitigação dos riscos,
- 4) Relação dos riscos quanto a interferência na qualidade, segurança ou eficácia do produto
- 5) Organização dos riscos quanto a sua relação direta ao produto, ao processo produtivo e ao cuidado clínico.

Os riscos foram analisados com foco na relação ao paciente, usuário final do produto avaliado. Neste sentido, foi estabelecido um conceitual orientativo para a compreensão e a elaboração da classificação dos riscos encontrados, conforme descrito:

- **Riscos ao paciente, relacionados ao Produto:** trata-se de riscos advindos das características inerentes ao produto ou às tecnologias envolvidas, por exemplo, às tecnologias de transferência gênica. Este tipo de risco pode ser detectado no processo de pesquisa e desenvolvimento a medida que se avança no conhecimento do produto. A mitigação do risco pode ser empregada em processos de otimização do produto, ou seja, alterações das características do produto ao longo do desenvolvimento. Também o gerenciamento do risco pode se dar no processo de produção e controle por meio de elementos de garantia da qualidade, bem como por estratégias de manejo de cuidados clínicos. Conhecimentos aprofundados do produto e seus mecanismos de ação e os requisitos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) podem minimizar os riscos e propor manejo para o melhor aproveitamento dos benefícios ao paciente.
- **Riscos ao paciente, relacionados à Fabricação:** trata-se de riscos advindos de elementos do processo produtivo, relacionados às características e aos atributos da

qualidade farmacêutica do produto de terapia gênica que podem interferir no risco real ou potencial ao produto e conseqüentemente ao paciente. Este tipo de risco observa-se no processo de fabricação ou de controle mitigado por requisitos de BPF e outros elementos da garantia da qualidade.

- **Riscos ao paciente, relacionados à Clínica:** trata-se de riscos advindos das condições do paciente, principalmente relacionadas à doença de base e aos procedimentos de administração do produto. Este tipo de risco é crítico para os produtos de terapia gênica que, geralmente, são indicados para situações clínicas graves. O manejo destes riscos demandam processos de qualificação profissional especializado e estruturas de serviços de saúde adequadas. O mecanismo de mitigação relaciona-se a aplicação e ao monitoramento do paciente utilizando as diretrizes do uso racional dos medicamentos e da segurança do paciente.

A metodologia de classificação de riscos proposta permite uma melhor análise e compreensão dos fenômenos complexos envolvidos na segurança de produtos de terapia gênica, quando utiliza uma abordagem mecanicista de fragmentação e categorização do risco focado no paciente (WEAVER; VALENTIN, 2018). Os 32 riscos identificados neste estudo foram discutidos utilizando a contextualização e exemplificação dos produtos de terapia gênica estudados.

## 8.4 Resultados e Discussões

### 8.4.1 Caracterização da amostra

Foram analisados neste estudo 18 produtos de terapia gênica (PTG), registrados até dezembro de 2022, sendo 5 no Brasil, 12 nos Estados Unidos e 18 na União Europeia.

O primeiro produto de terapia gênica registrado no Ocidente foi o Glybera®, em 2012, na União Europeia. Os 5 PTGs registrados no Brasil, também estão registrados nos Estados Unidos e na União Europeia. 12 são registrados tanto nos Estados Unidos quanto na Europa e 6 PTGs são registrados somente na Europa. Dos 12 produtos de terapia gênica aprovados na Europa, 4 foram retirados do mercado europeu a pedido da empresa, devido a questões de viabilidade comercial. Assim na Europa estão atualmente aprovados 14 PTGs para comercialização.

Segundo informações da *Alliance Regenerative Medicine (ARM)* (HUNT, 2023), em janeiro de 2023, haviam 22 produtos de terapia gênica registrados no mundo. Desta forma, este trabalho analisou 82% dos produtos aprovados mundialmente, somente 4 produtos de terapia gênica não foram analisados: 2 da China (Gendicine®, Carteyva®) e 2 do Japão (Delytact®, Collategene®), pela limitação de acesso aos documentos. Os 4 produtos

da União Europeia que foram retirados do mercado (Glybera®, Skysona®, Zalmoxis®, Zinteglo®), integraram a amostra deste estudo.

De 2012 a 2022, espaço amostral pesquisado, observa-se um crescimento leve e gradual nos registros de PTGs nas Agências Reguladoras pesquisadas, com uma média de 2 registros por ano, considerando que nos anos 2013, 2014 e 2018 não houve aprovações e que no ano 2022 observou-se o maior número de aprovações, com 4 registros (**Tabela 10**). No Brasil, os primeiros dois registros de PTGs se deram em 2020 (Luxturna® e Zolgensma®), após a publicação do primeiro regulamento específico para registro de produto de terapia avançada.

Na **Tabela 10** apresenta-se a caracterização geral dos produtos de terapia gênica aprovados no Brasil, Estados Unidos e União Europeia até o ano de 2022.

Tabela 10 – textbfCaracterização dos produtos de terapia gênica aprovados no Brasil, Estados Unidos e União Europeia até 2022. Brasil, 2023

Nome comercial	Empresa	Nome não comercial	Tipo	Vetor	Administração	Indicação	Ano da 1ª Aprovação	Países Aprovados
<b>ABECMA</b>	Celgene, Bristol-Myers	idecabtagene vicleucel	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação incompetente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	Mieloma Múltiplo	2021	Estados Unidos, União Europeia
<b>BREYANZI</b>	Juno Therapeutics, Bristol-Myers	lisocabtagene maraleucel	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação incompetente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	Linfoma de Grandes Células B	2021	Estados Unidos, União Europeia
<b>CARVYKTI</b>	Janssen	ciltacabtagene autoleucel	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação incompetente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	Mieloma Múltiplo	2022	Brasil, Estados Unidos, União Europeia
<b>GLYBERA</b>	uniQure biopharma	Alipogene tiparvovec	in vivo	AAV-1	intramuscular	deficiência de lipoproteína lipase (LPLD)	2012	União Europeia*
<b>HEMGENIX</b>	CSL Behring	etranacogene dezaparvovec	in vivo	AAV-5	intravenosa	tratamento da hemofilia B	2022	Estados Unidos, União Europeia
<b>IMLYGIC</b>	BioVex, Amgen	talimogene laherparepvec	in vivo	Oncolítico (HSV-1), não integrativo	intralesional	lesões cutâneas de melanoma	2015	Estados Unidos, União Europeia
<b>KYMIRIAH</b>	Novartis	tisagenlecleucel	ex vivo	VLT (HIV-1 murino), replicação deficiente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	leucemia (LLA); linfoma	2017	Brasil, Estados Unidos, União Europeia
<b>LIBMELDY</b>	Orchard Therapeutics	CD34+ gene ARSA	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação deficiente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	leucodistrofia metacromática (MLD)	2020	União Europeia
<b>LUXTRNA</b>	Novartis	voretigene neparvovec	in vivo	AAV-2	injeção subretinal	distrofia retiniana (RPE65)	2017	Brasil, Estados Unidos, União Europeia
<b>ROCTAVIAN</b>	BioMarin	valoctogene roxaparvovec	in vivo	AAV-5	intravenosa	tratamento da Hemofilia A	2022	União Europeia
<b>SKYSONA</b>	Bluebird bio	edicaldogene autotemce	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação incompetente, autoinativante, pseudotipado	intravenosa	Adrenoleucodistrofia cerebral (CALD).	2021	Estados Unidos, União Europeia*
<b>STRIMVELIS</b>	Orchard, GlaxoSmithKline	CD34+ gene ADA	ex vivo	VR (MoMLV), replicação deficiente	intravenosa	Imunodeficiência grave por deficiência de adenosina desaminase (ADA-SCID).	2016	União Europeia
<b>TECARTUS</b>	Kite Pharma	brexucabtagene autoleucel	ex vivo	VR (MSCV) envelopado (GaLV), não autoinativante	intravenosa	linfoma (Células Manto)	2020	Estados Unidos, União Europeia
<b>UPSTAZA</b>	PTC Therapeutics	eladocogene euparvovec	in vivo	AAV-2	injeção intraputamina	Deficiência grave de L-amino aromático ácido descarboxilase (AADAC).	2022	União Europeia
<b>YESCARTA</b>	Kite Pharma	axicabtagene ciloleucel	ex vivo	VR (MSCV) envelopado (GaLV), não autoinativante	intravenosa	linfoma (Células B)	2017	Brasil, Estados Unidos, União Europeia
<b>ZALMOXIS</b>	MolMed SpA	Células T gene ΔLNGFR e HSV-TK Mut2	ex vivo	VR (MLV), não replicante, gene suicida (HSV), a ganciclovir.	intravenosa	Alto risco de malignidades hematológicas	2016	União Europeia*
<b>ZINTEGLO</b>	Bluebird bio	betibeglogene autotemcel	ex vivo	VLT (HIV-1), replicação deficiente, autoinativante, 3 geração, pseudotipado	intravenosa	β-talassemia dependente de transfusão (TDT)	2019	Estados Unidos, União Europeia*
<b>ZOLGENSMA</b>	Novartis	onasemnogene abeparvovec	in vivo	AAV-9	intravenosa	atrofia muscular espinhal (AME 1)	2019	Brasil, Estados Unidos, União Europeia

Elaborado pelo autor

Com relação aos **tipos de produtos de terapia gênica**, 11 (61%) dos aprovados referem-se a PTG *ex vivo* e 7 (39%) PTG *in vivo*. Dos PTG *ex vivo*, 6 são produtos de terapia gênica que utilizam a tecnologia que modifica geneticamente os linfócitos T, em laboratório, por meio de vetores virais, para expressar um receptor de antígeno quimérico de determinadas proteínas expressas em células tumorais, denominado “CAR-T cell” (*Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T*) (NCI, 2023), para o tratamento de doenças oncológicas, a citar os produtos: ABECMA®, BREYANZI®, CARVYKTI®, KYMRIAH®, TECARTUS® e YESCARTA®. Os outros 5 produtos de terapia gênica *ex vivo* envolvem a modificação genética de células-tronco hematopoiéticas autólogas (LIBMELDY®, STRIMVELLIS®; SKYSONA®; ZINTEGLO®) e linfócitos T alogênicos (ZALMOXIS®). A maioria dos produtos de terapia gênica *in vivo* são destinados ao tratamento de doenças monogênicas.

Quanto as **indicações clínicas dos produtos terapêuticos**, observa-se que 8 (44%) produtos destinam-se ao tratamento de doenças oncológicas recidivadas ou refratárias, sem alternativas terapêuticas disponíveis. Os outros 10 produtos são para tratamentos de doenças genéticas raras. Observam-se as seguintes áreas terapêuticas envolvidas com os PTGs avaliados: doenças oncológicas (8); outras doenças hematológicas (3), doenças do sistema nervoso (4), doença cardiovascular (1), doença imunológica (1) e doença oftalmológica (1). Em revisão científica publicada em 2022 (ARABI; MANSOURI; AHMADBEIGI, 2022), utilizando dados de 2010 a 2020, os autores observaram que o tipo mais comum de doenças tratadas com produto de terapia gênica em ensaios clínicos foram os cânceres, distúrbios genéticos e doenças infecciosas. Os cânceres hematológicos foram os mais investigados, sendo a leucemia, linfoma e mieloma múltiplo os cânceres mais comuns para os quais as terapias gênicas foram desenvolvidas. Os cânceres gastrointestinal e do sistema nervoso foram os próximos mais comumente abordados nos estudos clínicos. Mais da metade dos ensaios clínicos no grupo das doenças genéticas concentraram-se em distúrbios metabólicos, distúrbios oculares e distúrbios de coagulação sanguínea (ARABI; MANSOURI; AHMADBEIGI, 2022).

Quanto aos **vetores de transferência gênica**, todos os produtos de terapia gênica aprovados utilizaram vetores virais. Destacam-se os vetores desenvolvidos a partir de retrovírus, com 11 (61%) dos produtos aprovados, sendo 7 produtos de terapia gênica que utilizam vetores lentivirais, derivados do vírus HIV tipo 1 e quatro (4) produtos que utilizam vetores construídos a partir de vírus do gênero gamaretrovírus: Vírus da Leucemia Murina (do inglês, *Murine Leukemia Virus - MLV*), Vírus da Leucemia Murina Moloney (do inglês, *Moloney Murine Leukemia Virus - MoMLV*) e Vírus Murino de Células-Tronco (do inglês, *Murine Stem Cell Virus - MSCV*) (DALBA et al., 2007).

Importante notar que todos os produtos de terapia gênica *ex vivo* analisados utilizam vetores retrovirais (lentivírus ou gamaretrovírus), com capacidade de integrar de forma

estável a cópia de DNA do seu genoma no cromossomo do hospedeiro durante o ciclo de replicação, permitindo a expressão de genes a longo prazo, bem como à sua capacidade de direcionar tipos celulares específicos (GÁNDARA; AFFLECK; STOLL, 2017), (POLETTI; MAVILIO, 2021).

Os vetores adeno-associados (AAV) estão presentes em 6 produtos de terapia gênica *in vivo*, com diversos sorotipos (AAV 1, AAV 2, AAV 5, AAV 9). O AAV9 consegue atravessar a barreira hematoencefálica e transduzir uma ampla variedade de tecidos, incluindo do sistema nervoso central. Cada tipo de vetor viral tem tropismos por determinados tecidos, por exemplo, AAV1 por músculo esquelético, músculo cardíaco e tecido nervoso. O AAV2 tem maior afinidade para músculos, fígado, tecido cerebral e ocular. Já o tropismo do AAV5 é pelo pulmão, tecido ocular, sistema nervoso central, sinóvia articular e pâncreas (HACKER et al., 2020). Os vetores de vírus AAV tem sido largamente utilizados como sistemas de entrega *in vivo* na terapia gênica para doenças monogênicas hereditárias. Os vetores adenoassociados superam com sucesso os principais desafios da terapia gênica, como manutenção do transgene, resposta imunológica do hospedeiro, além de atender às características desejáveis do sistema de vetor, como alto nível de segurança combinado com eficácia clínica e versatilidade em aplicações potenciais (BULCHA et al., 2021).

No grupo de produtos estudados tem-se um produto de terapia gênica *in vivo* (IMYLGIC®) de vetor viral baseado em vírus oncolítico (derivado do vírus Herpes Simplex 1- HSV-1). O IMYLGIC® foi otimizado para atividades oncolíticas e imunomodulatórias (BILSLAND; SPILIOPOULOU; EVANS, 2016).

Outra característica observada foi o **modo de administração dos produtos de terapia gênica**, com 78% por injeção ou perfusão intravenosa (IV) e outras administrações tais como intramuscular (IM), intralesional, subretiniana e intraputaminais. O uso de rotas de administração sistêmicas, como a injeção intravenosa (IV), apesar de ser bem estudada, apresenta algumas preocupações relacionadas a biodistribuição do vetor e a expressão fora do alvo, bem como a dependência de tropismo, baixa imunogenicidade e toxicidade tolerável devido às altas doses necessárias, principalmente em terapia gênica *in vivo*. Tem-se observado também amplo desenvolvimento de estratégias de administração específicas, *in loco*, para atingir determinados tecidos e aumentar a taxa de transdução efetiva nas células-alvo (ZHOU et al., 2022).

A partir destes primeiros dados de caracterização da coorte estudada observam-se especificidades nos produtos de terapia gênica que impactam sobremaneira a avaliação de riscos e benefícios ao paciente. Nas análises documentais foram detectados alguns pressupostos importantes para a compreensão dos riscos de produtos de terapia gênica.

Na **Tabela 10** demonstra-se que as doenças para qual os produtos foram aprovados se enquadram no contexto de doenças raras ou ultrarraras, segundo classificação do consórcio Orphanet (ORPHANET, 2023). Considera-se doença rara aquela que afeta até 65 pessoas em cada grupo de 100.000 indivíduos, ou seja, 1,3 pessoas para cada 2.000

indivíduos, que podem ser classificadas como doenças raras de origem genética e não genética (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Este cenário de estudos de produtos para tratamentos de doenças raras aponta para as incertezas associadas a falta de dados e consequentemente a completa compreensão dos mecanismos potenciais de risco. Somados as particularidades de estudos em doenças raras, outro ponto mencionado nos documentos refere-se a heterogeneidade nos participantes da pesquisa e ao pouco conhecimento sobre a doença, muitas vezes sem alternativas de tratamento. Por exemplo, foram observados estudos em oncologia com células CAR-T, em coorte única de pacientes de 3 a 24 anos, demonstrando alta variabilidade populacional. Em alguns casos, o uso de um grupo-controle não foi viável ou eticamente aceitável, levando à geração de dados não controlados ou ao uso de controles históricos, ou ainda, o estabelecimento de coortes de história natural da doença para comparação. Destaca-se a realização de estudos clínicos apresentados às Agências Reguladoras com número limitado de pacientes e com relatos de falta de representatividade populacional, bem como a realização dos ensaios clínicos em poucos países.

Outra característica presente em determinadas avaliações dos produtos de terapia gênica aprovados refere-se ao uso dos produtos em populações pediátricas devido ao tratamento de doenças genéticas infantis, por exemplo, a atrofia muscular espinhal (AME) tipo 1. Os estudos em crianças envolvem mais incertezas do que os realizados na população adulta, devido à heterogeneidade dessa população, além das considerações éticas nos ensaios clínicos (JOSEPH; CRAIG; CALDWELL, 2013). Do ponto de vista de mecanismo de ação genético, as incertezas do comportamento da terapêutica a longo prazo é uma preocupação quando se utiliza crianças.

Também foi possível notar diversas discussões sobre as limitações dos modelos animais e *in vitro* utilizados nos estudos não-clínicos considerados muitas vezes como não preditores e válidos para identificar melhor os riscos potenciais.

Neste ponto discute-se inclusive a maior aceitabilidade ou tolerabilidade das incertezas frente aos altos benefícios dos produtos de terapia gênica. As incertezas por limitações nos dados não permitem avaliar com robustez as frequências dos riscos associados aos produtos de terapia gênica. Da mesma forma, em relação aos dados de eficácia, observaram-se decisões regulatórias para aprovação dos produtos utilizando desfechos de eficácia não validados na perspectiva de extrapolação de resultados clínicos. Os produtos inovadores, destinados a doenças raras ou sem alternativas de tratamento frequentemente exigem novos desfechos, ou desfechos substitutos (FDA, 2020). O nível de tolerância para potenciais riscos graves pode diferir dependendo do contexto. A natureza e a gravidade da doença, a necessidade médica não atendida e a população pretendida são elementos essenciais na avaliação de riscos aceitáveis para a tomada de decisão regulatória (ICH, 2016).

Devido às evidências limitadas para a generalização definitiva sobre benefícios e

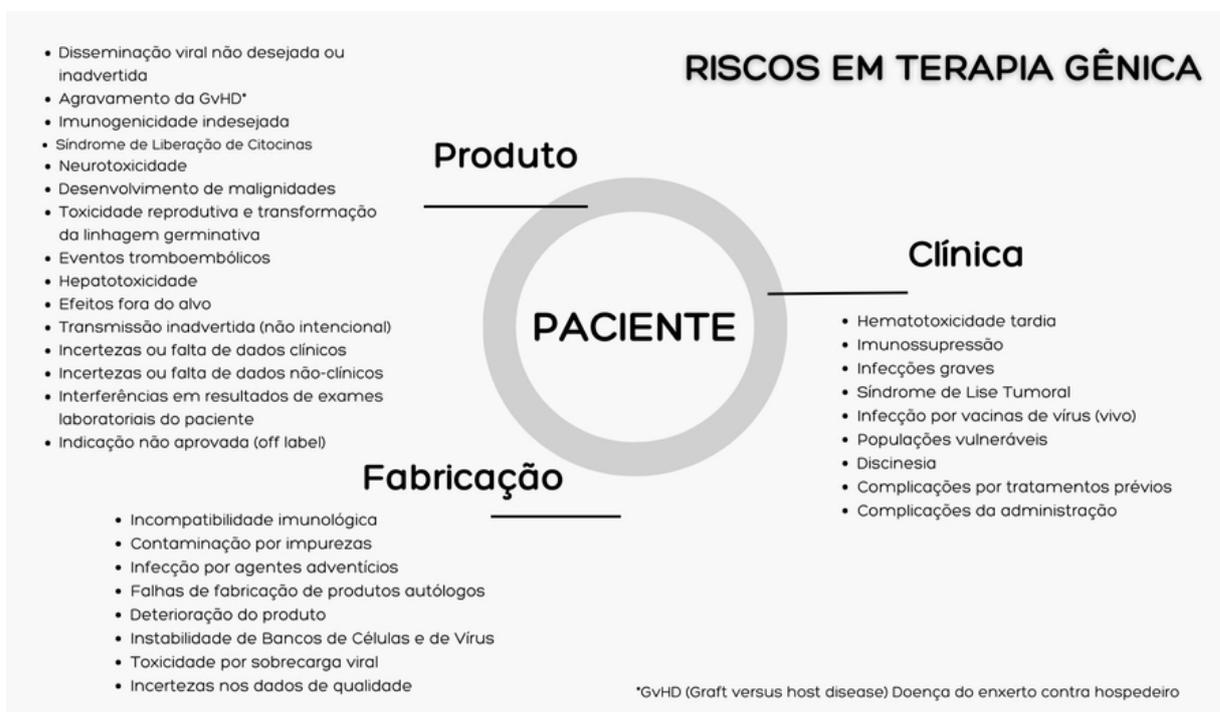
riscos os produtos de terapia gênica foram aprovados em regime condicional, sujeitos à apresentação de dados abrangentes pós-autorização, sob procedimentos denominados de aprovação condicional e/ou acelerada.

#### 8.4.2 Riscos Mapeados

Foram mapeados 32 tipos de riscos centrados no paciente nos 18 produtos de terapia gênica estudados. Dados analisados demonstram que os riscos de produtos de terapia gênica devem ser avaliados como um fenômeno complexo, influenciados por uma variedade de fatores, incluindo as características dos produtos e dos processos de fabricação, bem como a relação do produto com a situação clínica dos pacientes (EMA, 2009). Desta forma os riscos foram categorizados em relação ao produto e à sua fabricação, bem como em relação às condições clínicas do paciente. 47% dos riscos identificados neste estudo referem-se às características dos produtos de terapia gênica, 25% estão relacionados ao processo fabril do produto e 28% tratam-se de riscos ligados aos procedimentos clínicos relacionados a administração e as condições da doença de base do paciente.

Na **Figura 4** descreve-se o mapa de riscos identificados.

**Figura 4 – Mapa dos riscos identificados nos produtos de terapia gênica avaliados. Brasil, 2023.**



Elaborada pelo autor

O mapa de risco demonstrado na **Figura 4**, desenvolvido a partir de documentos de avaliação regulatória, abrange uma ampla diversidade de observações inseridas no processo de desenvolvimento de produtos de terapia gênica. Os dados sugerem numa

primeira análise geral que a terapia gênica apresenta riscos que precisam ser cuidadosamente ponderados num contexto de inovação tecnológica combinado com um cenário de incertezas científicas e agravado por promessas de tratamento para doenças raras e graves sem alternativas terapêuticas. Desta forma, a abordagem empregada nas avaliações de riscos das agências reguladoras estão inseridas na perspectiva da relação de riscos e benefícios potenciais (KLAPACZ; GOLLAPUDI, 2019). A análise dos riscos identificados mostrou a intrínseca relação do produto de terapia gênica com as características da patologia tratada e do estado de saúde complexo do paciente. Assim a análise de riscos de produtos de terapia gênica com foco no paciente parece ser a principal lógica de abordagem aplicada por reguladores compreendida da observação dos dados extraídos dos documentos analisados.

Os riscos podem ser também compreendidos em relação à natureza de seus potenciais danos, sendo 11 relacionados aos aspectos da qualidade do produto e 5 com questões envolvidas com a sua eficácia. Desta medida nota-se também que todos os tipos de riscos apontados (32) são relacionados de alguma forma aos aspectos da segurança do paciente. Esses dados corroboram com a perspectiva da decisão regulatória que se baseia nas avaliações de riscos e benefícios para aprovação de produtos terapêuticos quanto a sua segurança, eficácia e qualidade.

#### 8.4.2.1 **Riscos Mapeados referente à Clínica**

Na **Tabela 11** são descritos 9 riscos e seus fatores condicionantes ligados aos aspectos clínicos dos pacientes relacionados à doença de base e/ou aos procedimentos de administração do produto de terapia gênica. Um fator de risco é uma característica que contribui para o risco. Neste quadro são apontados possíveis danos ao paciente e determinadas propostas de mitigação dos riscos e minimização e manejo desses danos. Em geral, o manejo destes tipos de riscos demandam processos de qualificação profissional e infraestrutura de serviços de saúde especializados.

Tabela 11 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados aos aspectos da condição clínica dos pacientes tratados com produtos de terapia gênica. Brasil, 2023

RISCO	FATORES	DANOS	MITIGAÇÃO
<b>Citopenias prolongadas</b>	Eventos sub-reconhecidos e sub-relatados, Causas não bem compreendidas (multifatorial: relaciona-se com quantidade de tratamentos prévios, idade, citopenias basais, gravidade da Síndrome de Liberação de Citocinas, hematopoese clonal de potencial indeterminado).	Agravamento do quadro clínico	Cuidado ao paciente
<b>Hipogamaglobulinemia</b>	Depleção ou aplasia de células B normais, Toxicidade da quimioterapia de linfodepleção, Infiltração de células T (CAR) em tecido linfático normal.	Agravamento do quadro clínico	Cuidado ao paciente
<b>Infecções graves</b>	Neutropenia devido a quimiodespleção preparatória, Hipogamaglobulinemia pré-existente ou induzida, Tratamentos anteriores (imunossupressor), Idade (risco aumentado em mais de 65 anos), Comorbidades (ex.: falência hepática), Procedimentos invasivos (ex.: cirurgia intraocular).	Agravamento do quadro clínico	Cuidado ao paciente Controle de procedimentos de manipulação e administração do produto
<b>Síndrome de Lise Tumoral</b>	Carga tumoral em relação ao tratamento utilizado, Níveis elevados de ácido úrico, potássio, fósforo e lactato desidrogenase (LDH)	Agravamento do quadro clínico	Cuidado ao paciente
<b>Infecção viral proveniente de vacinas</b>	Vacinas de vírus vivos, Quimioterapia prévia deplecionadora de linfócitos, Uso de tratamento prévio com corticosteróides, Supressão temporária do sistema imunológico.	Infecção viral em indivíduos saudáveis	Orientação ao profissional da saúde, cuidador, paciente
<b>Uso em populações vulneráveis</b>	Idosos e crianças, Doentes crônicos, Lactentes, Gestantes e feto, Mulheres em idade fértil, Imunocomprometidos.	Agravamento do quadro clínico	Uso controlado (monitoramento especial) Ensaio clínicos específicos
<b>Discinesia</b>	Produção de dopamina no cérebro (Mecanismo do efeito não bem elucidado)	Agravamento do quadro clínico	Cuidado e informação ao paciente
<b>Complicações por tratamentos prévios</b>	Linfodepleção prévia, Tipo de malignidade, da condição clínica e idade do paciente, Toxicidade da "terapia ponte" e condicionamento do paciente, Complicações do tratamento (quimioterápico, radioterápico, imunossupressores, medicamentos interferentes, outros).	Agravamento do quadro clínico	Controle de procedimento clínicos Cuidado ao paciente
<b>Complicações da administração</b>	Vias de administração invasivas, erros de administração, erros de dosagens, erros ou violações dos procedimentos de administração do produto (Ex.: diferentes procedimentos utilizados por diferentes estabelecimentos de saúde/profissionais de saúde, resultados divergentes), Procedimentos cirúrgicos especializados (entrega do produto <i>in loco</i> ), Manuseio correto do produto previamente, Falta de padronização na coleta de material de partida.	Agravamento do quadro clínico (gravidade dependente da intervenção)	Controle do Procedimento Clínico Cuidado ao paciente

Elaborada pelo autor

As **citopenias prolongadas** são complicações observadas nas avaliações de produtos de terapia gênica *ex vivo*, por exemplo, no ABECMA®, CARVYKTI®, KYMRIAH®, SKYSONA®, TECARTUS®. A maioria destes produtos utilizam a tecnologia de alteração de linfócitos T para expressar antígenos tumorais, Células CAR-T, para o tratamento de malignidades de células B refratárias ou recidivantes. O SKYSONA® também é um produto de terapia gênica *ex vivo*, porém utiliza células progenitoras hematopoiéticas CD34+, geneticamente modificadas, para tratamento de adrenoleucodistrofia, uma doença genética que afeta o sistema nervoso e as glândulas adrenais. Observa-se que estes produtos são produzidos a partir de células do sistema hematológico. As citopenias prolongadas referem-se a uma diminuição nas células sanguíneas, que pode durar mais de um mês após a infusão dos produtos de terapia gênica. Essa complicação pode ocorrer em 20-40% dos pacientes e pode ser um desafio clínico na estratificação de risco, diagnóstico e manejo. As causas das citopenias prolongadas não são bem compreendidas, mas observa-se que alguns fatores estão ligados aos pacientes como o número de terapias prévias, idade, citopenias basais, presença de citocinas inflamatórias e outras respostas inflamatórias. Os autores enfatizam a importância de monitorar e gerenciar a toxicidade hematológica em pacientes que recebem terapia com células CAR-T para otimizar os resultados (NEELAPU et al., 2017b), (SHARMA; REAGAN; LIESVELD, 2022).

Na avaliação do ABECMA®, por exemplo, foi descrito um risco significativo de citopenia grave e prolongada, com pacientes que receberam seis ou mais linhas prévias de tratamento apresentando maior probabilidade de desenvolver trombocitopenia e neutropenia persistente. O ABECMA® (*idecabtagene vicleucel*) é um produto de terapia gênica *ex vivo*, que consiste em células T autólogas, geneticamente modificada por meio de vetor lentiviral que codifica um receptor antigênico quimérico (CAR) que reconhece o antígeno de maturação das células B, para o tratamento de mieloma múltiplo recidivante e refratário.

Outro risco identificado são as **hipogamaglobulinemias** observadas como reações adversas ao tratamento de terapia gênica *ex vivo* que utiliza a tecnologia CAR-T. Este achado foi comum a todos os produtos CAR-T analisados. A complicação clínica se caracteriza pela diminuição dos níveis de imunoglobulinas no sangue, em particular as classes de imunoglobulina G (IgG) e A (IgA). A hipogamaglobulinemia pode levar a uma maior susceptibilidade a infecções bacterianas, virais e fúngicas, o que pode ser especialmente perigoso em pacientes imunocomprometidos (KAMPOURI et al., 2022). Alguns estudos relatam uma alta incidência de hipogamaglobulinemia em pacientes tratados com células CAR-T, principalmente em pacientes com linfoma de células B de alto grau e mieloma múltiplo (NEELAPU et al., 2017a), (RAJE et al., 2019). Nos documentos analisados e na literatura há discussões sobre as causas potenciais ou agravamento da hipogamaglobulinemia em pacientes tratados com CAR-T, incluindo principalmente a depleção de células B normais e a toxicidade da quimioterapia de linfodepleção (TEACHEY

et al., 2016), (TURTLE et al., 2016), ambas relacionadas aos tratamentos prévios a infusão do produto. Para minimizar o risco de hipogamaglobulinemia e suas consequências a literatura aponta a importância de monitorar os níveis de imunoglobulinas e tratar precocemente as infecções oportunistas em pacientes. Além disso, alguns estudos sugerem que a terapia de reposição de imunoglobulina pode ser útil para prevenir infecções em pacientes com hipogamaglobulinemia (TEACHEY et al., 2016), (TURTLE et al., 2016).

Como exemplo de relato de caso, pode-se utilizar o BREYANZI® (*lisocabtagene maraleucel*), o qual é um produto de terapia gênica *ex vivo* a base de células T autólogas, geneticamente modificadas, utilizando vetor lentiviral incompetente na replicação que expressa um receptor antigênico quimérico (CAR) anti-CD19, para o tratamento de linfomas de grandes células B. Os documentos analisados deste produto descrevem a hipogamaglobulinemia como um evento adverso que ocorreu em uma proporção significativa de pacientes tratados, com 15,5% a 20,3% de qualquer grau. Os documentos fornecem informações sobre o tempo de início e a duração da hipogamaglobulinemia, bem como os sintomas mais frequentemente, incluindo infecções e imunodeficiência. As análises observaram também informações sobre correlações entre parâmetros farmacocinéticos/biomarcadores com hipogamaglobulinemia, bem como correlações entre idade, carga tumoral e estado inflamatório do paciente.

Os riscos de ocorrerem **infecções graves** em pacientes foram relatados de alguma forma em todos os produtos de terapia gênica avaliados neste estudo. Por exemplo, no TECARTUS®, segundo os documentos estudados, as infecções graves observadas como eventos adversos em pacientes tratados podem ser causadas por neutropenia devido à quimioterapia linfodepletora preparatória, hipogamaglobulinemia pré-existente ou induzida, tratamentos prévios contra o câncer e a malignidade de células B subjacentes (doença de base). Além disso, o risco de infecção pode ser aumentado em pacientes com mais de 65 anos. O TECARTUS® (*brexucabtagene autoleucel*) é um produto de terapia gênica *ex vivo* à base de células T autólogas, geneticamente modificadas, utilizando um vetor retroviral que expressa um CAR anti-CD19, para o tratamento de adultos com linfomas. Outro caso de infecções graves é o observado no LUXTURNA® (*voretigene neparvovec*), sendo um produto de terapia gênica *in vivo* que utiliza um vetor viral adenoassociado de sorotipo 2 (AAV2) como um veículo de transporte do gene (cDNA) da proteína do epitélio pigmentado da retina humana de 65 kDa (hRPE65), para células-alvo da retina, para o tratamento de pacientes pediátricos e adultos com perda de visão devida a distrofia retiniana hereditária causada por mutações bialélicas no RPE65. É mencionado que a inflamação e/ou infecção intraocular relacionada ao procedimento de administração do produto na retina é uma complicação conhecida da cirurgia intraocular e pode ocorrer durante o acompanhamento pós-administração. Nos relatos de pacientes que participaram dos estudos clínicos observaram-se 2% das reações referentes as infecções intraoculares. Um outro achado interessante foi o do HEMGENIX®, referente a manifestação de doença semelhante à

influenza ocorrido em vários pacientes em estreita relação temporal após a administração de produto. Os termos literais de “sintomas semelhantes aos da gripe”, “sintomas semelhantes aos da gripe sem febre” ou “sensação de rubor” foram usados para descrever esses eventos. HEMGENIX® (*etranacogene dezaparvovec*) é um medicamento de terapia gênica *in vivo* que expressa o gene humano do Fator IX de coagulação, por meio de vetor recombinante, não replicante, baseado no sorotipo 5 do vírus adenoassociado (AAV5). Trata-se de um evento adverso leve frequentemente observado nos pacientes do ensaio clínico com o produto, no entanto, sem causalidade definida nos documentos analisados. Outro exemplo de risco de infecções graves é o do IMYLGIC® (*talimogene laherparepvec*) em que foi descrito o risco de infecção herpética disseminada em pacientes gravemente imunocomprometidos. É uma condição na qual o vírus do Herpes se espalha pelo corpo, causando sintomas como febre, erupção cutânea e falência de órgãos. Pacientes com deficiência imunológica celular e/ou humoral congênita ou adquirida grave, como aqueles com HIV/AIDS, leucemia, linfoma, imunodeficiência variável comum ou aqueles que necessitam de altas doses de esteroides ou outros agentes imunossupressores, podem estar em maior risco após receber o produto. O IMYLGIC® é um produto de terapia gênica *in vivo* derivado do vírus Herpes Simplex do tipo 1 (HSV-1) atenuado, carreador do transgene para o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (do inglês, *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* - GM-CSF) para o tratamento de adultos com melanoma não ressecável. Este último caso é um exemplo do uso de vírus atenuado como vetor para terapia gênica e as preocupações de infecção viral em pacientes imunocomprometidos. Segundo documentos analisados a infecção herpética sintomática generalizada devido à possível reativação de IMYLGIC® deve ser considerada.

As infecções graves são um importante risco mapeado em produtos de terapia gênica devido às condições do paciente por imunodeficiência causada pela doença de base ou adquirida, ou pelo procedimento médico invasivo necessário para a entrega do vetor no tecido-alvo. No entanto, terapia gênica são produtos biológicos sujeitos a contaminações durante o processo produtivo. É importante destacar que a contaminação de produtos de terapia gênica pode representar um risco significativo para a segurança dos pacientes e também para o sucesso do tratamento. A contaminação pode ocorrer em várias etapas do processo de fabricação e inclui a presença de microorganismos, vírus, endotoxinas e outros contaminantes (EMA, 2018). A aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) é fundamental para minimizar o risco de contaminação microbiológica em produtos de terapias avançadas (PIC/S, 2022).

A **Síndrome de Lise Tumoral** (SLT) é uma possível complicação grave em pacientes com câncer, especialmente aqueles com carga tumoral elevada, ocorrendo quando as células tumorais são destruídas rapidamente, levando à liberação abundante de conteúdo intracelular, como potássio, fosfato e ácido úrico, na corrente sanguínea. Isso pode causar desequilíbrios eletrolíticos, danos nos rins e outras complicações graves (PURI et al.,

2020). Os fatores de risco para SLT incluem níveis elevados de ácido úrico, potássio, fosfato e lactato desidrogenase (LDH) antes do tratamento, bem como a carga tumoral e o tipo de tratamento utilizado. A SLT é mais comum em pacientes com tumores sólidos de crescimento rápido e alto grau, bem como em pacientes com linfomas de alto grau (WILSON; BERNIS, 2013). A SLT foi descrita em todos os produtos de terapia gênica *ex vivo* do tipo CAR-T para tratamentos de malignidades hematológicas. Nos documentos analisados do KYMRIAH® mostra que o número de pacientes com pelo menos um evento de SLT foi de 3,8%, considerado pelos autores como um risco baixo, mas passível de monitoramento do paciente em busca de sinais e sintomas para medidas de prevenção e manejo. O KYMRIAH® (*tisagenlecleucel*) é um produto de terapia gênica *ex vivo* à base de células T autólogas, transduzidas utilizando vetor lentiviral, que expressa CAR anti-CD19 para o tratamento de leucemias e linfomas. No caso do TECARTUS®, foi informado que 16% dos participantes de determinados ensaio clínico tiveram um aumento do ácido úrico de grau  $\geq 3$ , que pode estar associado ao risco de Síndrome de Lise Tumoral. Outro exemplo, é o CARVYKTI® (*ciltacabtagene autoleucel*), outro produto de terapia gênica *ex vivo* autólogo à base de células T geneticamente modificadas, utilizando vetor lentiviral não replicativo, que codifica o CAR contra o antígeno de maturação das células B (*B cell maturation antigen*, BCMA), para o tratamento de adultos com mieloma múltiplo. Além de relatar a SLT como importante reação adversa esperada, os documentos recomendam reduzir a carga tumoral antes da infusão do produto em pacientes com alto volume tumoral.

Outro risco apontado é a **infecção viral proveniente de vacinas** de vírus vivos (atenuados). Um vírus atenuado presente nas vacinas tem potencial teórico de retornar à forma patogênica original e causar infecção pela cepa vacinal, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. Há relatos de pacientes com HIV/AIDS, leucemia e imunodeficiências hereditárias com manifestação de infecções graves e até mesmo mortes como resultado da vacina de vírus vivo atenuado. Ademais as vacinas podem ser menos eficazes em indivíduos com sistema imunológico comprometido (CROCE et al., 2017). Nos documentos de estudo do ZOLGENSMA® há preocupação sobre uso de vacinas durante tratamento. ZOLGENSMA® (*onasemnogene abeparvovec*) é um produto de terapia gênica *in vivo*, que utiliza um vetor baseado no vírus adenoassociado, sorotipo 9 (AAV9) recombinante e não-replicante, carregando um gene que expressa a proteína humana de sobrevivência do neurônio motor (do inglês, *survival motor neuron* - SMN) para tratamento de pacientes com atrofia muscular espinal (AME tipo 1), até 2 anos. O fabricante do produto afirma que não foram realizados estudos sobre a relação entre vacinação e a infusão do produto e recomenda que se faça ajustes no cronograma de vacinação para acomodar o tratamento com corticosteroides. Importante destacar que para a infusão do ZOLGENSMA® é administrado corticoides como imunomoduladores de resposta imunológica, com aplicação de prednisolona pré-infusão e pós-infusão por 30 dias. Esta condição de imunossupressão pode sugerir riscos ao paciente ou a eficácia da imunização.

Também nas documentações analisadas do KYMRIA<sup>®</sup> descreve-se que não é recomendado administrar vacinas de vírus vivos pelo menos 6 semanas antes do início da quimioterapia linfodepletora, durante o tratamento e até a completa recuperação imunológica após o tratamento. Isso ocorre porque o tratamento com produtos de terapia gênica a base de células CAR-T pode causar uma supressão temporária do sistema imunológico, aumentando o risco de infecção por vacinas com vírus vivos atenuados. Na mesma direção para minimizar os riscos deste tipo de vacinas, nas documentações do CARVYKTI<sup>®</sup> há menção que a vacinação deve ser evitada em 4 semanas antes da infusão do produto e por 100 dias após a infusão.

A terapia gênica é uma abordagem promissora para o tratamento de doenças genéticas, mas também apresenta riscos, especialmente em **populações vulneráveis** com maiores probabilidades de reações adversas relacionadas ao uso de um produto de terapia gênica. Essas populações podem ser mais suscetíveis aos efeitos prejudiciais dos medicamentos devido a uma série de fatores, como características fisiológicas, idade, condições médicas subjacentes ou o uso concomitante de outros medicamentos (FDA, 2020; EMA, 2009).

O primeiro exemplo de caso é o do STRIMVELLIS<sup>®</sup>, um produto de terapia gênica *ex vivo* a base de células autólogas CD34+ estaminais/progenitoras hematopoéticas humanas transduzidas com vetor retroviral que codifica a sequência do gene da adenosina desaminase humana (ADA), para o tratamento de pacientes com imunodeficiência combinada grave por deficiência de ADA, para os quais não está disponível um doador de células compatível com o antígeno leucocitário humano (HLA). Os documentos analisados mencionam que o produto foi estudado em pacientes com deficiência de ADA com idade entre 0,5 meses e 6,1 anos. No entanto, há uma falta de dados em neonatos e adolescentes. Outro grupo vulnerável apontado nos documentos do STRIMVELLIS<sup>®</sup> relaciona-se a mulheres em idade fértil, feto e lactentes. O documento menciona não haver estudos de toxicidade reprodutiva ou de desenvolvimento embriofetal disponíveis para o produto. Estudos de toxicidade reprodutiva são conduzidos para avaliar os possíveis efeitos adversos de uma substância no sistema reprodutivo, incluindo fertilidade, gravidez e lactação. Para mulheres em idade fértil, há uma grande preocupação com a exposição acidental de um embrião ou feto antes que informações estejam disponíveis sobre os riscos potenciais. Neste sentido estudos pré-clínicos de toxicidade reprodutiva, em espécies animais relevantes, são importantes para caracterizar e minimizar o risco de exposição acidental do embrião ou feto ao incluir mulheres em idade fértil nos ensaios clínicos. Uma segunda abordagem é limitar o risco com medidas de precauções para evitar a gravidez durante os ensaios clínicos (ICH, 2009). Estudos de transmissão em linhagem germinativa padrão, aplicados a medicamentos convencionais, geralmente não são necessários antes do primeiro uso em seres humanos do produto de terapia gênica, a menos que as características biológicas do produto ou a indicação proposta e conforme a população de

pacientes sugeriram um risco para os órgãos ou função reprodutiva (EMA, 2008). Nos documentos do STRIMVELLIS® observa-se que, como o produto é administrado após o condicionamento com bussulfano, pacientes com potencial de engravidar devem usar contracepção de barreira confiável durante o tratamento. Outra observação neste caso foi a questão do uso em pediatria. Quando pacientes pediátricos são incluídos em ensaios clínicos, os dados de segurança provenientes de experiências humanas anteriores em adultos geralmente representam as informações mais relevantes e devem estar disponíveis antes do início dos ensaios clínicos pediátricos. Pode não haver uma extensa experiência em adultos disponíveis antes das exposições infantis (por exemplo, para indicações específicas). Neste caso se deve prover dados de gerenciamento de riscos com o produto em animais e *in vitro* robustos antes de iniciar os estudos clínicos (ICH, 2009).

Na avaliação do IMYLGIC® os documentos descrevem um estudo de toxicidade em desenvolvimento embrionário realizado em camundongos para avaliar a capacidade do *talimogene laherparepvec* em atravessar a barreira placentária. Foi detectado DNA viral em amostras de sangue fetal em concentrações muito baixas, representando menos de 0,001% da concentração simultânea de DNA viral no sangue materno. Isso sugere que o *talimogene laherparepvec* consegue atravessar a barreira placentária. Por causa desses resultados, foi incluído um alerta na bula do produto (informação técnica disponibilizada ao profissional da saúde e paciente) sobre o risco potencial de transferência placentária. A preocupação do risco de transferência do produto para o feto foi observada também no YESCARTA® (*axicabtagene ciloleucel*). Este é um produto de terapia gênica *ex vivo* à base de células T autólogas, geneticamente modificadas, utilizando um vetor retroviral que expressa um receptor CAR anti-CD19 para tratamento de linfomas. Segundo documentos analisados não há estudos sobre o potencial de transferência do YESCARTA® para o feto. Com base no mecanismo de ação, se as células transduzidas cruzarem a placenta, elas podem causar toxicidade fetal, incluindo linfocitopenia de células B. Portanto, o uso do produto não é recomendado para mulheres grávidas ou para mulheres em idade fértil que não usam contracepção. Cosgrove (2019) (COSGROVE et al., 2019) discute a possibilidade de mães grávidas transmitirem células T modificadas geneticamente a seus filhos ainda não nascidos, o que poderia moldar as respostas imunes na criança e potencialmente causar efeitos adversos.

No contexto da análise do documento do UPSTAZA® foi detectado um distúrbio caracterizado por movimentos anormais e involuntários do corpo, denominado **discinesia**. UPSTAZA® (*eladocagene exuparvovec*) é um produto de terapia gênica *in vivo*, baseado no AAV2 com gene humano (gene da dopa descarboxilase -DDC) que expressa a enzima humana descarboxilase dos L-aminoácidos aromáticos (AADC), para tratamento de deficiência de AADC, com um fenótipo grave. As mutações no gene DDC resultam na redução ou ausência de atividade da enzima AADC, causando uma redução dos níveis de dopamina e a falha em alcançar marcos de desenvolvimento da maioria dos pacientes com

deficiência de AADC. Após a perfusão no putâmen, o medicamento promove a expressão da enzima AADC e subsequente produção de dopamina, e conseqüentemente, desenvolvimento da função motora (EMA, 2023a). A discinesia é considerada um evento esperado em pacientes tratados com UPSTAZA®, pois indica que a substância ativa do produto está funcionando e produzindo dopamina no cérebro. À medida que os níveis de dopamina são inexistentes ou baixos antes da terapia gênica, a ocorrência de discinesia pode ser atribuída à hipersensibilidade dos receptores dopaminérgicos à dopamina recém-disponível. Eventos de discinesia foram relatados em 24 (92%) participantes de ensaio clínico. No entanto, este distúrbio nos movimentos pode ser prolongado em alguns pacientes, sendo considerado uma reação adversa importante. A maioria dos eventos de discinesia relatados em ensaios clínicos se resolveu dentro de 4 meses após a terapia gênica. Os eventos de discinesia foram geridos com cuidados médicos de rotina, tais como tratamento anti-dopaminérgico (EMA, 2023b).

Outro grupo de riscos mapeados referem-se às **complicações por tratamentos prévios** ao início da terapia gênica. A devida seleção e preparo do paciente para o início do tratamento são preocupações importantes a serem analisadas considerando a especificidade da natureza genética do alvo e/ou gravidade da doença de base do paciente. Foi descrito nos documentos sobre a realização de terapia ponte (“*bridging therapy*”, em inglês) com tratamento temporário enquanto o paciente aguarda a infusão das células CAR-T, como mecanismo de controle da doença. A terapia ponte refere-se a um tratamento sistêmico, incluindo o uso de esteroides, quimioterapia e/ou terapia direcionada, radioterapia ou terapia combinada recebida antes da quimioterapia para linfodepleção e dentro de 60 dias da infusão de CAR-T (LADBURY et al., 2023). Nos documentos analisados observaram-se vários ensaios clínicos que serviram de base para a aprovação de diferentes produtos CAR-T com o uso de terapia ponte, com protocolos diversificados, principalmente para pacientes com doença agressiva, de alto volume tumoral e em espera para o tratamento. Já o tratamento de condicionamento (“*conditioning treatment*” em inglês) refere-se a um tratamento dado antes da terapia com células CAR-T, com o objetivo de preparar o corpo do paciente para receber as células T modificadas geneticamente. O tratamento de condicionamento pode incluir quimioterapia, radioterapia ou outras terapias imunossupressoras. Tanto no tratamento ponte ou de acondicionamento envolvem riscos relevantes, que incluem toxicidade do agente de quimioterapia utilizado, incluindo supressão da medula óssea, náusea, vômito e diarreia. Também observam-se riscos de infecções, incluindo infecções graves, como pneumonia e sepse devido à imunossupressão do paciente (SUN; LIU, 2022).

Estes tipos de riscos aos tratamentos prévios devem ser avaliados em todos os tipos de terapia gênica. Por exemplo, nos documentos analisados, foi detectado que os pacientes não devem tomar medicamentos anti-retrovirais ou hidroxiureia pelo menos um mês antes da mobilização e até pelo menos 7 dias após a infusão do ZYNTEGLO®. O ZYNTEGLO

(*betibeglogene autotemcel*) é produto de terapia gênica *ex vivo*, baseado em células-tronco hematopoiéticas CD34+ autólogas, geneticamente modificada, transduzidas com vetor lentiviral codificando o gene da  $\beta$ A-T87Q - globina para o tratamento de  $\beta$  talassemia dependente de transfusões. A hidroxiureia é um medicamento frequentemente usado para tratar a talassemia beta, mas pode afetar a mobilidade e a qualidade das células-tronco, comprometendo o material de partida (as células) e conseqüentemente a eficácia da terapia gênica (AKRAM; KHATTAK; KHAN, 2022). Os anti-retrovirais podem inibir a divisão celular e afetar a mobilidade das células-tronco, além de interferir no processo de integração e replicação do vetor viral (ZHAO et al., 2018).

As **vias de administração** de certos produtos de terapia gênica, como a intraputamina, vitrectomia retiniana e outras, podem ser fatores de riscos para o paciente. Há relatos de estudos vias de administração não invasivas, como a administração intranasal para direcionar o cérebro, a administração tópica retiniana para doenças oculares e formulações aerossolizadas inalatórias para o tratamento de doenças pulmonares (ANDRIEU-SOLER et al., 2006), (ALQAWLAQ et al., 2012), (HARMON et al., 2014), (ZHOU et al., 2022). Conforme os documentos analisados, o exemplo do UPSTAZA® é importante para este estudo devido a via de administração intraputamina, via orifício no crânio. Um dos principais riscos de complicações do procedimento são os vazamentos de líquido cefalorraquidiano (LCR). Além disso, a cirurgia e a anestesia necessárias para a administração podem aumentar os riscos de eventos adversos graves, como hemorragia intracraniana, infecção e morte, exigindo estruturas clínicas e profissionais especializados em neurocirurgia estereotáxica. Observou-se que várias medidas rotineiras de minimização de risco foram designadas frente aos riscos de administração, incluindo tomografia computadorizada pós-cirúrgica e informações sobre monitoramento de pacientes para vazamentos de LCR após a administração.

Outro exemplo analisado na coorte estudada foi o caso do LUXTURNA®, com preocupações de segurança associadas ao procedimento cirúrgico para administração de *voretigene neparvovec* por meio de cirurgia de vitrectomia e injeção subretiniana. Os riscos associados ao procedimento cirúrgico incluem infecção intraocular, perda permanente da visão, anormalidades retinianas, como ruptura da retina e buracos maculares, pressão intraocular elevada, formação de catarata ou progressão de cataratas existentes. Esses riscos podem ter conseqüências a longo prazo, especialmente se não forem tratados. No entanto, os documentos também mencionam que o plano de gerenciamento de risco inclui o devido treinamento para farmacêuticos na preparação prévia do produto e para cirurgiões que realizam as injeções subretinianas.

As análises também detectaram exemplo de riscos relacionados às reações adversas devido ao uso de cateteres venosos centrais (CVCs) na administração do STRIMVELIS®. Os documentos observam que eventos adversos relacionados ao uso de CVCs foram relatados, incluindo infecções graves e trombose. Os documentos também relatam que

infecções relacionadas ao dispositivo de cateter foram as infecções graves mais frequentes em pacientes tratados com o produto.

#### 8.4.2.2 **Riscos Mapeados referentes à Fabricação**

Na **Tabela 12** são descritos os riscos e os seus fatores ligados aos aspectos do processo produtivo do produto de terapia gênica que podem interferir no risco real ou potencial à qualidade do produto e conseqüentemente riscos ao paciente. Nesta tabela são apontados possíveis danos ao paciente e determinadas propostas de mitigação dos riscos. Em geral, o manejo deste tipo de risco observa-se no processo fabril ou de controle mitigado por requisitos de Boas Prática de Fabricação (BPF) e outros elementos da garantia da qualidade.

A definição da qualidade de produtos de terapia gênica sob sistemas de qualidade farmacêutica baseados em gerenciamento de riscos são elos fundamentais para o acesso a esses produtos inovadores com segurança, qualidade e eficácia (ICH, 2009), (ICH, 2023). A informação e o conhecimento adquiridos com os estudos de desenvolvimento não-clínico e clínico, a experiência fabril e o uso do produto em pacientes fornecem uma compreensão científica capaz de projetar a qualidade na perspectiva de fornecer o produto consistentemente o desempenho pretendido sob Boas Práticas de Fabricação, bem como aprimorar os elementos do cuidado clínico (ICH, 2009). A abordagem regulatória baseada em risco está condicionada ao nível de conhecimento científico relevante fornecido na solicitação de registro e no acompanhamento do ciclo de vida do produto (ICH, 2023).

Tabela 12 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados ao processo fabril de produtos de terapia gênica. Brasil, 2023.

RISCO	FATORES	DANOS	MITIGAÇÃO
Incompatibilidade imunológica por troca de produtos	Troca de produtos autólogos ou alogênicos compatíveis. Rastreabilidade total comprometida	Ineficácia do produto. Agravamento do quadro clínico	Rastreabilidade. Controle de processos de produção, de distribuição, de manipulação e administração.
Contaminação por impurezas	Impurezas provenientes: de reagentes e insumos, do processo de fabricação (partículas subdivisíveis), álcool benzílico, resíduos de gentamicina, de Dimetilsulfóxido (DMSO), de beads (advindas da cultura celular), de poloxamer 188, de material particulado; de agregados virais, de extráveis e lixiviáveis devido ao contato com polímeros, de nitrosaminas, de células residuais, outros.	Ineficácia do produto. Toxicidade celular. Agravamento do quadro clínico	Controle de processos de produção
Contaminação por agentes adventícios	Contaminação por vírus, micoplasma, prions, bactérias, fungos. Matérias-primas e materiais de partidas infectados. Sangue, tecidos e células infectados. Capacidade de depuração e inativação viral. Processos de fabricação abertos. Contaminação cruzada	Indisponibilidade do produto. Agravamento do quadro clínico	Controle do processos de produção
Falhas de Fabricação	Influência do microambiente tumoral na qualidade e sobrevivência das células. Inibição da expansão de CAR-T por células e elementos associados ao câncer. Estado molecular de exaustão e senescência das células oriundas de pacientes. Procedimentos de coleta e criopreservação das células	Indisponibilidade do produto. Agravamento da doença por falta de tratamento	Estratégia no desenvolvimento do produto. Qualificação dos processos de produção e criopreservação. Uso de produto fora da especificação sob responsabilidade médica
Deterioração do produto	Armazenamento em temperaturas ultrabaixas. Diluentes e crioprotetores em diferentes pH. Componentes das embalagens. Estrutura especializada de armazenamento, transporte e manuseio. Excursão no transporte (desvio, temperatura). Vida útil curta. Sensibilidade à luz	Indisponibilidade do produto por descarte	Estratégia de desenvolvimento do produto. Qualificação dos processos de produção e criopreservação. Estudo de estabilidade: identidade, segurança (esterilidade, endotoxina), potência, pH, aparência, integridade da embalagem.
Instabilidade dos Bancos de Células e de Vírus	Contaminação microbiológica. Variação (instabilização) genética e epigenética. Perda de viabilidade e função das células.	Indisponibilidade do produto	Estratégia de desenvolvimento do produto. Qualificação dos processos de produção e criopreservação. Estudo de estabilidade: identidade, segurança (esterilidade, endotoxina), potência, pH, aparência, integridade da embalagem.
Toxicidade por Sobrecarga Viral	Citotoxicidade/morte celular por sobrecarga viral. Expressão excessiva de proteínas virais (não terapêuticas). Aumento da frequência de integração do vetor com inserção aleatória e mutações	Agravamento do quadro clínico agudo e tardio	Controle de Processo de Produção Cálculo MOI (prevenção de sobrecarga viral e manutenção da viabilidade celular)
Incertezas nos dados de qualidade	Produto de desenvolvimento diferente do produto para registro. Necessidade de estudos de comparabilidade. Diferenças no material de partida, processos de enriquecimento celular e armazenamento (fresco e criopreservado). Equivalência nos atributos de qualidade. Diferentes fornecedores de vetores virais. Complexidade das mudanças de fabricação	Não disponibilidade do produto. Não comprovação de qualidade e segurança	Estudo de comparabilidade Definição dos atributos de qualidade críticos (COA) Métodos analíticos qualificados e validados

Elaborada pelo autor

O primeiro risco a ser discutido conforme a **Tabela 12** é o da **incompatibilidade imunológica por troca de produtos**. Uma das principais preocupações com produtos autólogos ou produtos fabricados para pacientes específicos é a possibilidade de troca de produto durante o processo de produção e de administração em paciente diferente. Nos documentos de todos os produtos avaliados foi observado forte preocupação com a troca ou misturas de produtos de terapia gênica e a necessidade de uma sistemática de rastreabilidade de processos e dos produtos. Os erros de administração de medicamentos em geral são a causa de milhares de mortes por ano, sendo a troca de produto uma dos erros mais frequentes (TSEGAYE et al., 2020). Para os produtos de terapia gênica a administração em pacientes diferentes pode ser ainda mais grave, devido às características inerentes do produto, em geral, produzidos em pequena escala para um número reduzido de pacientes ou podem ser produtos personalizados, fabricados a partir de células do próprio pacientes (produto autólogo). Segundo as Boas Práticas de Fabricação de Produtos de Terapias Avançadas (PIC/S, 2022) a rastreabilidade completa ou total refere-se a capacidade de registrar e documentar todas as matérias-primas, materiais de partida e quaisquer substâncias que entram em contato com células, tecidos ou o produto final, desde o momento da coleta até a confirmação do recebimento dos produtos para uso no paciente. O sistema de rastreabilidade pressupõe manutenção de privacidade dos indivíduos, doadores e pacientes, e a confidencialidade das informações relacionadas à saúde (PIC/S, 2022). Estratégias de fabricação de lote único; no caso dos produtos autólogos, por exemplo, células CAR-T; em sistemas de bolsas, tem sido empregadas, bem como a distribuição personalizada para paciente específico direto da fábrica ao hospital. Na análise dos documentos avaliativos do CARVYKTI® observou-se que foram implementados sistemas eletrônicos e em papel para controlar, revisar, rastrear e registrar a cadeia de identidade e custódia das células CAR-T do produto. Estudos de validação também foram realizados para demonstrar a capacidade desses sistemas de garantir o rastreamento bidirecional. Neste sentido, observa-se na avaliação do YESCARTA® que um processo robusto de validação da sistemática da rastreabilidade do produto final foi estabelecida para todos os lotes enviados à fábrica dos EUA e na Holanda e, em seguida, para um centro de tratamento simulado. Isso sugere importantes preocupações e medidas referentes a garantia da rastreabilidade do produto durante o processo de fabricação e transporte.

Com relação às **impurezas** em produtos de terapia gênica, observou-se nos descritos documentais várias discussões e exigências das agências reguladoras relacionadas a este tópico. As impurezas podem surgir durante o processo de fabricação ou a partir do próprio produto, ou seja, variantes do produto desejado, como vírus competentes para replicação, células não transduzidas ou capsídeos vazios que não possuem as mesmas propriedades que o produto desejado em relação à atividade, eficácia e segurança. As impurezas relacionadas ao processo são aquelas que se originam durante a

fabricação do produto. Elas podem ser derivadas de substratos celulares, como proteínas ou DNA da célula hospedeira, ou de elementos usados na cultura celular, como indutores, antibióticos ou componentes de meio de cultura (EMA, 2018). Essas impurezas podem ter diversos efeitos negativos no corpo humano, como toxicidade, reações alérgicas e mutagenicidade. Além disso, as impurezas podem afetar a estabilidade do produto, alterando sua concentração e potência (ICH, 2006).

Dentre as impurezas discutidas nos documentos têm-se as partículas subvisíveis que não são visíveis sob microscopia óptica, mas podem ser detectadas por outras técnicas de análise de partículas, como a microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *Transmission Electron Microscopy* - TEM) e a cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *High-Performance Liquid Chromatography* - HPLC). Essas partículas podem incluir agregados de proteínas, fragmentos de DNA ou RNA, lipídeos, solventes, resíduos de células hospedeiras e outras impurezas. Alguns estudos sugerem que a presença de partículas subvisíveis pode induzir respostas imunogênicas e reduzir a eficácia da terapia gênica (CARPENTER et al., 2008), (DAS, 2012), (GRABAREK et al., 2020).

Outra impureza muito observada nos produtos avaliados foi os resíduos de cultura celular com presença de beads. As *beads* são pequenas esferas ou nanopartículas, magnéticas ou de vidro, usadas em processos de purificação de proteínas e ácidos nucleicos. Essas partículas podem ficar retidas nas células durante a cultura e, se não forem removidas adequadamente, podem contaminar o produto final (PLOUFFE; MURTHY; LEWIS, 2014). A presença de resíduos de cultura celular com *beads* pode ser detectada por técnicas como microscopia eletrônica de transmissão e análise de imagem de partículas. É importante que os fabricantes de terapia gênica implementem medidas para minimizar a presença de *beads* e resíduos de cultura celular no produto final. Isso pode incluir o uso de colunas de purificação de alta qualidade e a realização de etapas de lavagem adicionais para remover as partículas residuais (FDA, 2020). No KYMRIA®<sup>®</sup>, por exemplo, o número máximo de *beads* residuais no produto *tisagenlecleucel* para injeção em crianças (4480 beads/kg) é mais de 20 vezes menor do que a dose baixa em ratos (96.000 beads/kg), onde nenhuma bead foi detectada em qualquer tecido e não representa um risco de segurança excessivo para o paciente.

Outra impureza identificada neste estudo, que merece destaque, é o álcool benzílico que se metaboliza em ácido benzóico no organismo humano. Ele é usado como excipiente devido às suas propriedades conservantes, como agente solubilizante ou como fragrância (uso cutâneo). Segundo a *European Medicines Agency* (EMA, 2017) o principal problema associado ao uso de álcool benzílico é o risco de acumulação em recém-nascidos (pré-termo e a termo) devido à imaturidade metabólica. A administração intravenosa de álcool benzílico na faixa de 100 a 200 mg/kg/dia foi relacionada à “síndrome do suspiro” em vários recém-nascidos pré-termo, caracterizada por acidose metabólica que resultou em deterioração do estado neurológico, insuficiência cardiovascular e anomalias hematológicas. Essa síndrome

está associada ao acúmulo de álcool benzílico e a maioria dos envenenamentos foi fatal. Como na formulação do KYMRIA® há a presença do álcool benzílico os pacientes que recebem o produto são expostos a um nível máximo de 21 µg de álcool benzílico por dose/dia (equivalente a 1,5 µg/kg de peso corporal para uma criança de 2 anos com peso corporal de 13,8 kg). Esta dose é 66000 vezes menor do que o nível de exposição intravenosa mais baixo de 99 mg/kg de peso corporal/dia por 2 a 28 dias, que foi associado à “síndrome do suspiro” em lactentes prematuros no início da década de 1980. A Agência Europeia definiu que o álcool benzílico não deve ser usado em recém-nascidos, mas pode ser usado com cautela em crianças com idade superior a 4 semanas (EMA, 2017).

Nos documentos do SKYZONA® observou-se a preocupação relacionada ao material plástico utilizado na bolsa de criopreservação do produto, referente ao risco de liberação de substâncias tóxicas ou prejudiciais. Foram realizados teste de extraíveis e lixiviáveis. Resíduos extraíveis e lixiviáveis são substâncias químicas que podem ser encontradas em produtos farmacêuticos (lixiviáveis) e que podem ser liberadas a partir das embalagens ou recipientes (extraíveis) utilizados durante o processo de fabricação ou armazenamento. Esses estudos devem incluir a avaliação da toxicidade e dos efeitos sobre a expressão gênica e a viabilidade celular (ICH, 2006) (EMA, 2008).

Outra impureza específica dos produtos de terapia gênica a base de vetores adeno-associados (AAVs) é a presença de capsídeos vazios ou “*empty capsids*”, do inglês. Os capsídios vazios são compostos por uma capa proteica do AAV, mas sem o genoma do vetor, encontradas em proporções variáveis nas preparações de vetor AAV de grau clínico. Os capsídeos vazios são produzidos durante o processo de fabricação de vetores baseados em AAVs (PENAUD-BUDLOO et al., 2018). A presença de capsídeos vazios pode ter um impacto negativo na eficácia da terapia gênica, uma vez que esses capsídeos competirão com os capsídeos contendo o gene terapêutico para se ligarem às células-alvo. Isso leva a uma diminuição da eficácia, uma vez que menos células-alvo são transduzidas com o gene terapêutico. Além disso, também podem desencadear uma resposta imunológica indesejada, pois aumentam a carga antigênica geral e potencialmente exacerbam as respostas imunes inatas e adaptativas desencadeadas pelo capsídeo (WRIGHT, 2020). Para superar esse desafio, os fabricantes de vetores AAVs estão desenvolvendo métodos para remover os capsídeos vazios durante o processo de purificação. A separação dos capsídeos vazios e cheios é possível devido às diferenças de carga superficial e densidade dos dois tipos de partículas, permitindo a utilização de técnicas de centrifugação e cromatografia apropriadas (DROUIN et al., 2016), (WANG et al., 2019). A eliminação dos capsídeos vazios pode potencialmente melhorar a margem de segurança quando altas doses de vetor são administradas. Além disso, os avanços na fabricação de vetor AAV têm mostrado melhorias na qualidade com uma proporção reduzida de capsídeos vazios (WRIGHT, 2017) (WRIGHT, 2020) (MCINTOSH et al., 2021).

Os **agentes adventícios** são microorganismos contaminantes que podem estar

presentes no ambiente, na cultura de células ou em insumos utilizados na fabricação de um produto biológico, tais como vírus, bactérias, fungos, micoplasmas, micobactérias, rickettsia, protozoários, parasitas, agentes causadores de Encefalopatia Espongiforme Transmissível (do inglês, *Transmissible Spongiform Encephalopathy*-TSE) introduzidos acidentalmente no processo de fabricação, como contaminantes. A fonte da contaminação pode ser a linhagem celular, as matérias-primas utilizadas no meio de cultura para propagar as células, o ambiente, o pessoal, os equipamentos ou outros (WHO, 2015). O uso de bancos de células e bancos de vírus bem caracterizados pode reduzir o risco de contaminação por agentes adventícios (ICH, 1999). Para terapia gênica existem vários tipos de vírus que podem ser considerados como adventícios, incluindo vírus de animais, como retrovírus endógenos de ratos, vírus de células de insetos, como o baculovírus, e vírus respiratórios humanos, como o adenovírus. Esses vírus podem contaminar as células usadas na produção dos vetores ou dos próprios produtos finais, podendo ser introduzidos no processo de fabricação por várias fontes, tais como: 1) matérias-primas e materiais de partida, 2) culturas de células e 3) manipulações abertas (BARONE et al., 2020). Por exemplo, matérias-primas de origem animal como soro, tripsina, proteínas plasmáticas e extratos de tecidos podem conter contaminantes virais. Da mesma forma são fontes de contaminação os materiais de partida de origem humana, como células e tecidos de doadores vivos ou falecidos. Os contaminantes virais nas linhagens celulares produtoras podem vir da fonte celular, dos materiais usados na cultura celular ou da exposição ao operador, ou ao ambiente. As células podem ter uma infecção viral latente ou persistente (por exemplo, vírus do Herpes ou retrovírus endógeno). Operações de fabricação abertas, como transferências de cultura celular em ambientes abertos, podem expor o processo às contaminações ambientais (BARONE et al., 2020; FDA, 2021). Importante discutir que para produtos de terapia gênica e terapias a base de células pode não ser possível aplicar as tecnologias de redução viral como se aplica no processo de fabricação de medicamentos biológicos. Desta forma, implantar controles em processo, como seleção, qualificação e medidas de redução viral de todas as matérias-primas e materiais de partida utilizadas na produção é de extrema importância, tanto para a segurança do produto quanto do trabalhador. Além disso, aplicar dispositivos e tecnologias de fabricação de produtos estéreis, em ambientes limpos, segundo as especificidades de cada produto, tem sido as diretrizes regulatórias prevalentes (PIC/S, 2022).

No caso do KYMRIA<sup>®</sup> a questão da contaminação viral foi amplamente discutida com os reguladores, segundo descrito nos documentos analisados. Como medida de segurança viral para todas as coletas de células T (leucaférese) de pacientes, mesmo que seja para uso autólogo, foram realizados testes laboratoriais para a detecção do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), vírus da hepatite B humana (HBV), vírus da hepatite C humana (HCV) e vírus linfotrópico de células T humana tipo 1 (HTLV-1) e tipo 2 (HTLV-2) e outros, a fim de evitar a contaminação do produto final. Nos ensaios clínicos

os pacientes com resultados positivos para estes marcadores laboratoriais foram excluídos dos estudos. O fabricante não recomenda a produção de CAR-T com o material de partida destes pacientes. Um questionamento apontado nos documentos da Anvisa refere-se ao vírus HTLV. O documento menciona que, do ponto de vista bioanalítico, se o HTLV-1 ou 2 estiver presente no material de leucaférese (células T do paciente), não há etapa para eliminá-lo e o vírus pode se amplificar durante o processo de fabricação. No entanto, o grau exato de amplificação é desconhecido. Além disso, há a possibilidade teórica de que o transgene CAR se integre às sequências pré-existentes provirais do HTLV-1 e 2, mas o risco de recombinação homóloga é considerado baixo devido às poucas sequências do vetor HIV-1 presentes no transgene CAR e na diferença distinta nos perfis de integração entre HIV e HTLV. Nos documentos descreve-se que não há nenhum evento adverso associado ao HTLV-1 e 2 relatado até o momento e não há conhecimento do produto *tisagenlecleucel* contaminado com HTLV. Neste caso, importante ressaltar que diferentemente dos Estados Unidos e Europa, no Brasil o vírus HTLV está presente na maioria das regiões ([MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022](#)) e há preocupações de impactos com o uso populacional do produto, sendo obrigatório no Brasil a testagem para HTLV de todos os pacientes submetidos ao CAR-T.

Outro elemento de risco investigado são as **falhas de fabricação**. Considerando os produtos de terapia gênica, em geral, com altos custos produtivos agregados, bem como a destinação aos pacientes em situação grave e, na sua maioria, produtos autólogos ou personalizados, perder o produto por falhas de fabricação torna-se um risco relevante. Considerando os produtos de terapia gênica *ex vivo*, do tipo CAR-T, a taxa geral de falhas na fabricação varia em torno de 14%. A expansão inadequada das células é a principal razão para essas falhas ([BERSENEV, 2017](#)), ([LAMTURE et al., 2021](#)). Em comparação com medicamentos biológicos tradicionais, as taxas de sucesso e falhas na fabricação de CAR-T autólogos é muito mais crítica, pois cada falha é potencialmente fatal ([ABOU-EL-ENEIN et al., 2021](#)). As limitações do produto de células CAR-T incluem altos custos, longos tempos de produção e possíveis falhas de fabricação, limitando significativamente sua aplicação para um número maior de pacientes. Alguns pacientes requerem duas aféreses para atingir a dose-alvo e/ou duas séries de aférese devido à falha de produção ([SCHMIDTS et al., 2020](#)), ([VASIC et al., 2022](#)). Devido à natureza do produto, à grande variabilidade do material celular de pacientes e à complexidade do processo de fabricação, em geral, os limites de especificação do material de partida são estabelecidos de forma bastante ampla. O uso de produto de terapia gênica fora das especificações é altamente desencorajado, pois pode representar um risco significativo para a segurança do paciente. As diretrizes regulatórias internacionais estabelece que se um produto de terapia avançada estiver fora das especificações, é necessário realizar uma investigação completa para determinar a causa raiz do problema e avaliar o impacto na qualidade do produto. O Guia de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Terapias Avançadas do

*Pharmaceutical Inspection Convention* (PIC) estabelece que a administração de um produto fora de especificação, desde que não comprometa a segurança, pode ser realizada em circunstâncias excepcionais, desde que seja utilizado em pacientes no tratamento de doenças sem alternativa terapêutica disponível no país, acordado entre o fabricante, médico assistente, paciente e agência reguladora (PIC/S, 2022). No contexto da terapia com células CAR-T autólogas, o uso de produtos fora da especificação pode ter implicações significativas na eficácia do tratamento do paciente. Falhas de fabricação na linha de produção podem se traduzir em falha no tratamento de um paciente. Alternativas regulatórias para o uso controlado de produtos fora das especificações em situações específicas parece ser razoável no contexto de riscos e benefícios. Para exemplificação, segundo os dados descritos nos documentos analisados, o ABECMA® reportou uma taxa geral de falha de fabricação de 1,4%. No caso do KYMRIAH®, os documentos mencionam que 9% dos pacientes foram excluídos do ensaio clínico de desenvolvimento por receberem uma dose menor de células T viáveis, devido a problemas na fabricação do produto ou a dificuldades na coleta, ou processamento das células T do paciente. Uma importante discussão atualmente é o desenvolvimento de CAR-Ts alogênicos com possibilidade de fornecer produto “*off-the-shelf*” e custos de fabricação reduzidos. Ensaio clínico para avaliação de segurança e eficácia estão sendo cuidadosamente avaliados. Produtos “*off-the-shelf*” são produtos prontos para uso imediato, disponíveis comercialmente sem a necessidade de personalização ou adaptação significativa (DEPIL et al., 2020; VASIC et al., 2022).

O risco de **deterioração de produtos** biológicos é uma preocupação importante devido à sua natureza sensível e complexa, suscetíveis a condições ambientais adversas que podem comprometer sua eficácia e segurança e também a sua vida útil curta. Vários fatores podem afetar o armazenamento e a estabilidade a longo prazo, como a flutuação de temperatura (armazenamento de temperatura estável e ciclos de congelamento e descongelamento), diversidade de diluentes (incluindo soro e soluções com vários pH), componentes do recipiente (vidro, plástico e aço) e outras considerações ambientais (temperatura, umidade). A maioria dos produtos de terapia gênica é armazenada em temperaturas abaixo de -60°C, geralmente em nitrogênio líquido ou freezers para temperaturas ultrabaixas. Temperaturas mais altas podem levar à desestabilização do produto, como a agregação de proteínas e mudanças no pH do meio de armazenamento, o que pode levar à perda de atividade terapêutica (RODRIGUES et al., 2018). No entanto, é importante ressaltar que a estabilidade dos produtos de terapia gênica pode variar dependendo da natureza do produto e das condições de armazenamento. Alguns produtos podem ser estáveis em temperaturas mais elevadas por um período limitado de tempo. É difícil manter a cadeia de frio a -80°C com o mínimo de excursões, especialmente quando os freezers -80°C não estão disponíveis nas estruturas hospitalares. A umidade pode ser um fator crítico na conservação dos produtos de terapia gênica, e muitos produtos são

lioofilizados para remover a umidade antes do armazenamento. O uso de crioprotetores também pode ser útil para proteger o produto durante o armazenamento e descongelamento. Outro fator importante é a duração do armazenamento. Os produtos de terapia gênica são geralmente armazenados por um período limitado de tempo, e a estabilidade do produto pode diminuir com o tempo. Durante a fase de estudos clínicos iniciais, estudos de estabilidade podem ser realizados concomitantemente com o uso clínico experimental. Testes realizados a 25°C e 37°C podem ser úteis para acelerar os estudos de estabilidade e obter dados longo prazo para informar a vida útil e as condições de armazenamento (RODRIGUES et al., 2018).

O ABECMA® é uma suspensão com células CAR-T, de dose única, para administração intravenosa, preservada em um meio de criopreservação adequado para infusão. Descongelamento e infusão do produto são etapas críticas para manutenção da qualidade, devendo o produto ser infundido dentro de 1 hora a partir do início do descongelamento. No caso do BREYANZI® a redução da viabilidade do produto é um risco potencial e se refere à diminuição da capacidade das células CAR-T de permanecerem vivas e funcionais. Isso pode ocorrer devido ao manuseio inadequado do produto, o que pode afetar a qualidade e eficácia do tratamento. Os documentos avaliados descrevem que o IMLYGIC®, um produto a base de vetor viral *in vivo*, é sensível à luz e precisa ser protegido da luminosidade durante o armazenamento e o manuseio. A estabilidade do produto congelado foi avaliada com base em testes de identidade, segurança (esterilidade, endotoxina), potência, pH, aparência e integridade do fechamento do recipiente, sendo encontrado que o produto é estável por 48 meses quando armazenado nas condições recomendadas (a -80°C ± 10°C) e protegido da luz.

Outro risco reconhecido é a **instabilidade dos Bancos de Células e de Vírus**. A produção dos elementos do vetor e das células devem ser baseadas em sistemas de bancos. Os bancos de células desempenham um papel fundamental no processo produtivo de terapias gênicas. No entanto, eles também apresentam riscos potenciais de instabilidade que podem afetar a qualidade e a eficácia dos produtos terapêuticos. Alguns dos riscos associados aos bancos de células no processo produtivo de terapias gênicas incluem: contaminação microbiológica, variação genética, perda de função e viabilidade celular, instabilidade epigenética. A contaminação por microrganismos, como bactérias, fungos e vírus, pode ocorrer nos bancos de células e comprometer a qualidade do produto final, exigindo testes microbiológicos regulares e a utilização de boas práticas assépticas, para prevenir a contaminação e garantir a segurança do produto (COBO et al., 2005). Especialmente quando se utiliza células de origem humana, além dos testes para o vírus HIV-1 e 2, HBV, HCV e HTLV-1 e 2, devem ser realizados testes para vírus Epstein-Barr (EBV), citomegalovírus (CMV) e parvovírus B19, testes de esterilidade, ausência de micoplasmas e vírus, e quando for o caso, testes para detecção de vírus competente de replicação. Especialmente ao produzir vetores virais diferentes dos derivados de retrovírus, importante

considerar se há contaminação no sistema de bancos por retrovírus, utilizando, por exemplo, um teste de transcriptase reversa ou microscopia eletrônica. Caso sejam usados materiais derivados de bovinos ou suínos na cultura celular a segurança deve ser testada (ICH, 1999), (EMA, 2018), (YUSA; YUSA; UCHIDA, 2020). Ao longo das passagens celulares, as células podem sofrer alterações genéticas, como mutações ou rearranjos cromossômicos. Essas variações genéticas podem afetar a estabilidade do produto terapêutico e sua capacidade de expressar corretamente o gene de interesse. É importante monitorar a estabilidade genética das células ao longo do processo produtivo e utilizar técnicas como análise de cariótipo e sequenciamento genômico para identificar eventuais alterações (DASHNAU et al., 2022). A depender do número de passagens celulares, as células podem perder sua capacidade de proliferação e diferenciação, bem como sua função terapêutica desejada. Isso pode levar a uma diminuição na produção de produtos terapêuticos ou à perda de eficácia do tratamento. É crucial manter um controle adequado das passagens celulares e implementar estratégias para preservar a viabilidade e a função das células durante o processo produtivo (DASHNAU et al., 2022). Alterações na marcação epigenética das células podem ocorrer durante o processo produtivo, o que pode afetar a expressão gênica e a função das células terapêuticas. A estabilidade da marcação epigenética dos bancos de células deve ser monitorada e medidas devem ser tomadas para minimizar a instabilidade epigenética, como otimização das condições de cultivo e uso de inibidores de metilação do DNA, quando apropriado (PÉREZ-CAMPO; RIANCHO, 2016). Para mitigar esses riscos de instabilidade dos bancos de células, é essencial a definição de sistema de bancos, tais como Banco de Células Mestre (do inglês, *Master Cell Bank - MCB*), Banco de Células de Trabalho (do inglês, *Working Cell Bank - WCB*), Banco Mestre de Semente de Vírus (do inglês, *Master Virus Seed - MVS*) ou Banco de Trabalho de Semente de Vírus (do inglês, *Working Virus Seed - WVS*), a fim de evitar o desvio indesejado de propriedades que podem resultar de subculturas repetidas ou múltiplas gerações, devendo ser garantido a rastreabilidade e as evidências de estabilidade dos referidos bancos. Além disso, deve-se determinar o controle de qualidade para a duração da preservação e o processo de renovação adequada dos bancos, com base nos resultados das análises características de comparabilidade, pureza e estabilidade, método de análise e seu controle de qualidade seguindo as diretrizes das Boas Práticas de Fabricação (BPF) (PIC/S, 2022).

Outro risco potencial discutido foi a **toxicidade por sobrecarga viral**, que se refere a altas doses de vetores virais na entrega de material genético com potencial efeitos adversos e tóxicos no paciente ou comprometimento do processo produtivo. Na terapia gênica, a medida chamada de multiplicidade de infecção (do inglês *Multiplicity of Infection - MOI*) é um parâmetro importante que descreve a relação entre o número de partículas virais ou vetores virais e o número de células-alvo presentes em uma cultura. A MOI é frequentemente expressa como uma relação numérica, representando o número de partículas virais por célula. Por exemplo, uma MOI de 1 indica que, em média, cada célula será infectada por

uma partícula viral. Uma MOI de 0,1 indica que, em média, uma célula será infectada a cada 10 partículas virais. Embora a MOI seja amplamente utilizada para otimizar a eficiência da transdução, é importante considerar os fatores de risco associados a valores inadequados. MOI excessivamente alta pode levar à sobrecarga viral, resultando em citotoxicidade e morte celular. Isso ocorre quando um número excessivo de partículas virais infectam uma única célula, causando estresse metabólico e desencadeando respostas inflamatórias ou apoptóticas, comprometendo a viabilidade celular. Alguns vetores virais usados na terapia gênica podem conter genes virais além do gene terapêutico. Assim uma MOI muito alta pode levar à expressão excessiva de proteínas virais não terapêuticas, que podem ter efeitos tóxicos nas células-alvo. Neste sentido um aumento da sobrecarga viral pode aumentar a frequência de integração do vetor, o que pode levar a eventos de inserção aleatória e potencialmente causar mutações genéticas indesejadas (SANJUÁN, 2018) (MISTRY; D'ORSOGNA; CHOU, 2018). A determinação da MOI ideal depende do tipo de vetor viral utilizado, do tipo de célula-alvo e dos objetivos específicos do tratamento. É um parâmetro que deve ser cuidadosamente considerado e otimizado durante o desenvolvimento e a aplicação da terapia gênica e mantido consistente de acordo com as BPF.

Devido aos riscos associados a frequências aumentadas de integração do vetor em produtos de terapia gênica *ex vivo* do tipo CAR-T, um teste importante que vem sendo exigido pelas agências reguladoras é a avaliação do número de cópias do vetor (do inglês, *Vector Copy Number* - VCN) no produto final (EMA, 2021), (FDA, 2022b). O valor ideal de VCN pode variar dependendo do produto de terapia gênica específico e das células-alvo. É importante determinar o valor seguro do VCN com base em estudos pré-clínicos e clínicos específicos para cada produto. O VCN é determinado através da quantificação do número de cópias do vetor viral presente nas células modificadas geneticamente. Esse número pode variar dependendo do tipo de vetor viral utilizado, da eficiência da transdução e das características das células-alvo. Geralmente, o VCN é expresso como o número médio de cópias do vetor viral por célula. A medição e o controle do VCN são importantes na segurança e eficácia do produto, pois um VCN muito baixo pode resultar em baixa expressão do gene terapêutico e ineficácia do tratamento, enquanto um VCN muito alto pode levar a efeitos indesejados, como mutações genéticas, desregulação gênica, tumorigenicidade. Se o sistema de vetor direcionar a integração do transgene, o número médio de integrações por célula CAR-positiva pode ser referido como VCN. Segundo a FDA (FDA, 2022b) usando a porcentagem de células CAR-positivas, o VCN médio por célula expressando CAR pode ser calculado. O VCN como uma função das células expressando CAR fornecerá uma representação mais precisa nas células transduzidas e, uma representação do risco potencial do produto para mutagênese insercional.

Enquanto o VCN é a quantidade de cópias do vetor viral presente em uma célula, a MOI é a proporção entre o número de partículas virais e o número de células infectadas em uma cultura celular.

Um exemplo de caso de discussão de faixa de VCN em células transduzidas foi com o LIDMELDY® (*atidarsagene autotemcel*), um produto de terapia gênica *ex vivo*, de células-tronco hematopoiéticas autólogas, geneticamente modificadas por vetor lentiviral expressando o gene da arilsulfatase A (ARSA) humana, para tratamento da leucodistrofia metacromática (LDM). Segundo os documentos analisados o VCN é uma medida da quantidade de cópias do vetor de terapia gênica integradas nas células do paciente após o tratamento. Os requisitos que foram realizados pelo regulador relacionados ao VCN incluem a necessidade de monitorização contínua de células circulantes (e seu VCN) em pacientes, bem como a necessidade de reavaliação das especificações do produto acabado, levando em consideração os dados de resultados clínicos. Isso se baseia no fato de que o VCN é uma medida indireta importante da eficácia do tratamento com terapia gênica. Além disso, pode haver preocupações com relação à eficácia sustentada se as células com alto VCN desaparecerem nos pacientes ao longo do tempo. O alto percentual de células com VCN > 10 (até 44% nos lotes de produto farmacêutico) pode ser motivo de cautela em relação à segurança. Portanto, é importante continuar analisando as células circulantes (e seu VCN) nos pacientes, levando em consideração os resultados do monitoramento clínico (por exemplo, a relação entre VCN, atividade da ARSA, eficácia clínica).

Outra questão de risco abordada são as **incertezas nos dados da qualidade** que podem comprometer a segurança e a eficácia do produto de terapia gênica. Praticamente em todos os produtos analisados foram observadas exigências de estudos de comparabilidade do processo de produção entre o produto investigacional e o produto comercial para o qual se solicitou o registro de uso populacional. A complexidade das mudanças introduzidas durante a fabricação também representa riscos. Por exemplo, se um desenvolvedor ou fabricante introduzir múltiplas mudanças simultaneamente, há um risco aumentado de impacto na qualidade do produto. Os produtos de terapia gênica, são heterogêneos e complexos, são descobertos e desenvolvidos em laboratórios acadêmicos ou pequenas empresas de biotecnologia (EMA, 2019). Assim fabricam o produto em pequena escala, muitas vezes em ambientes fabris adaptados. A ampliação para a escala comercial envolve processos complexos. Como resultado, alguns fabricantes podem enfrentar desafios para identificar locais e processos de fabricação em escala comercial segundo requisitos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (COCKROFT; WILSON, 2021). Isso às vezes envolve a transferência de tecnologia de um ambiente acadêmico para indústrias experientes ou organizações de fabricação por contrato com a introdução de várias mudanças de processo, por exemplo, nova plataforma de fabricação, novas linhas celulares, introdução de novos insumos críticos, que requerem estudos de comparabilidade. Para estabelecer os estudos de comparabilidade é necessário definir os atributos críticos de qualidade (do inglês, *critical quality attributes - CQA*) e os parâmetros críticos de processo (do inglês, *critical process parameters - CPP*), por exemplo, razões entre capsídeos vazios e cheios, modificações pós-traducionais, multiplicidade de infecção, infectividade, impurezas residuais e ensaios

de potência, por meio de métodos analíticos compendiais ou validados (ZHAO; STEPTO; SCHNEIDER, 2017), (DRAGO et al., 2021).

Os documentos avaliados do UPSTAZA® descreveu um exercício de comparabilidade realizado para determinar se haveriam diferenças na qualidade dos produtos fabricados pelos processos A, B e o processo comercial C. A principal diferença nas características de qualidade do produto comercial parece ser um aumento no número de capsídeos vazios. O desenvolvedor apresentou dados comparáveis de imunogenicidade, segurança e eficácia de indivíduos referentes aos processos A e B, onde há uma maior diferença no número de capsídeos vazios, para apoiar um perfil esperado de eficácia e segurança para o produto comercial. No geral, o exercício de comparabilidade de qualidade foi considerado uma grande preocupação pelas agências reguladoras. Assim foi fornecido dados suficientes para apoiar a comparabilidade do produto comercial com os produtos fabricados pelos processos A e B. Segundo os documentos ainda resta entender completamente as diferenças nas características de qualidade do produto comercial, especialmente em relação ao aumento do número de capsídeos vazios.

#### 8.4.2.3 **Riscos Mapeados referentes ao Produto**

Na **Tabela 13** são descritos os riscos e os seus fatores ligados às características inerentes ao produto ou às tecnologias envolvidas, por exemplo, às tecnologias de transferência gênica. Este tipo de risco pode ser detectado no processo de pesquisa e desenvolvimento frente ao conhecimento do produto. A mitigação do risco pode ser empregada na otimização do produto, ou seja, alterações das características do produto mediante aprofundamento do conhecimento. Da mesma maneira o controle dos riscos pode se dar também no processo de produção por meio de elementos de garantia da qualidade, bem como por estratégias de manejo de cuidados clínicos.

Tabela 13 – Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados aos produtos de terapia gênica. Brasil, 2023.

RISCO	FATORES	DANOS	MITIGAÇÃO
<b>Disseminação viral não desejada ou inadvertida</b>	Tipo de vetor viral (capacidade de replicação competente). Dose e rota de administração. Suscetibilidade genética do paciente. Contaminação por vírus selvagem, auxiliar ou híbrido na produção. Capacidade do vetor para replicação inadvertida após complementação. Capacidade de latência e reativação. Mobilização	Infeção viral disseminada. Agravamento do quadro clínico (gravidade dependente do vírus).	Controle de Processos Produtivos
<b>Agravamento da doença do enxerto contra hospedeiro</b>	Idade do paciente nível de expressão de antígeno-alvo dose e condições de armazenamento do produto estado imunológico do paciente	Agravamento do quadro clínico	Cuidado do paciente
<b>Imunogenicidade indesejada</b>	Resposta imunológica inata e adaptativa às proteínas do capsídeo, às células transduzidas, ao produto do transgene antes e após a administração. Expressão gênica persistente. Expressão alterada de transgene. Produtos que expressam fatores de crescimento, citocinas e proteínas imunogênicas. Características do produto: design da molécula, sistemas de expressão, modificações pós-traducionais, impurezas, produtos de degradação, formulação, embalagem. Imunidade pré-existente ao vírus ou produto transgênico. Doses elevadas de vetores e dosagem repetida. Condição imunológica do paciente	Inteficácia do produto Agravamento do quadro clínico	Estratégia de desenvolvimento do produto. Controle do Processo de Produção. Detecção de elementos de imunogenicidade, incluindo autoimunidade. Imunossupressão concomitante
<b>Síndrome de Liberação de Citocinas</b>	Elevada carga tumoral prévia. Comorbidades e estado de saúde geral do paciente. Regime de condicionamento. Resposta imunológica a antígenos específicos	Agravamento do quadro clínico	Cuidado do paciente
<b>Neurotoxicidade</b>	Histórico de doença do sistema nervoso central (SNC). Idade avançada	Agravamento do quadro clínico	Cuidado do Paciente
<b>Limitação dos dados de desenvolvimento clínico</b>	Vieses nos dados de desenvolvimento do produto. Falta de representatividade da amostra populacional, considerando epidemiologia da doença e heterogeneidade. Disparidades raciais. Interesses financeiros dos pesquisadores.	Não disponibilidade do produto. Não comprovação de eficácia, segurança e qualidade.	Plano de desenvolvimento de produto. Aleatorização, mascaramento, amostra representativa, pesquisadores independentes, comitês independentes, registro e divulgação dos resultados.
<b>Desenvolvimento de malignidades</b>	Oncogênese. insercional. Tumorigenicidade. Mutagênese insercional com potencial de carcinogenicidade. Capacidade do vetor de integração no DNA. Potencial de anormalidades cromossômicas. Potencial e extensão da integração cromossômica do vetor. Potencial para recombinação ou rearranjo. Sítio de integração, número de cópias do vetor integrado, elementos regulatórios. Malignidade secundárias ocasionado por múltiplos tratamentos anteriores	Agravamento do quadro clínico a longo prazo	Estratégia no desenvolvimento do produto. Estudo de acompanhamento a longo prazo.

Elaborada pelo autor

Tabela 13 – (continuação). Fatores condicionantes, possíveis danos e propostas de mitigação de riscos relacionados aos produtos de terapia gênica. Brasil, 2023.

RISCO	FATORES	DANOS	MITIGAÇÃO
<b>Toxicidade reprodutiva e transformação de linhagem germinativa</b>	Depende do tipo de produto, mecanismo de ação, distribuição, perfil de excreção e tipo de pacientes. Persistência de vetores/gene nas gônadas e órgãos reprodutivos. Possibilidade de distribuição em gametas (linhagem germinativa). Capacidade de integração em gametas.	Infertilidade. Danos ao feto. Preocupações hereditárias.	Estratégia no desenvolvimento do produto. Estudos não clínicos apropriados. Se produto utilizado em mulheres grávidas, necessidade de estudos de toxicidade de embrio-fetal e perinatal.
<b>Transmissão inadvertida e não intencional do vetor</b>	Manipulação inadequada do material (liberação acidental). Tipo de vetor viral utilizado (capacidade de replicação autônoma, sistema de expressão persistência). Excreção e fluidos corporais de paciente com presença de resíduos virais.	Infecção em terceiros (profissionais da saúde, familiares). Contaminação do meio ambiente.	Medidas de biossegurança. Protocolos de monitoramento ambiental. Estratégia no desenvolvimento do produto. Conhecimento da biodistribuição e disseminação do vetor viral.
<b>Interferência em resultados de triagem laboratorial de infecções virais</b>	Presença de partes do vírus no construído do vetor	Diagnóstico incorreto de infecção viral (por HIV)	Orientação ao profissional da saúde, paciente, cuidadores. Realização de diagnóstico laboratorial por meio de tecnologias de detecção de antígenos e anticorpos.
<b>Eventos tromboembólicos</b>	Uso de doses elevadas. Resposta imunológica ao vetor viral. Fatores de risco para tromboembolismo (hipertensão, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, diabetes, obesidade e doença arterial coronariana).	Agravamento do quadro clínico	Orientação ao profissional da saúde, paciente, cuidadores. Avaliação de fatores clínicos de predisposição e tratamento de prevenção.
<b>Hepatotoxicidade</b>	Histórico de infecção por hepatite B ou C. Abuso de álcool. Esteatose hepática. Relação com tipos de vetores virais (toxicidade não clínica com AAV). Uso concomitante de medicamentos hepatotóxicos	Agravamento do quadro clínico	Monitoramento do paciente
<b>Efeitos fora do alvo</b>	Tropismo do vetor viral. Persistência do produto fora do alvo. Biodistribuição para órgão(s)/tecido(s)/célula(s) não-alvo. Perda da eficácia.	Ineficácia do produto Agravamento do quadro clínico	Aprimorar construído do vetor. Sistema de entrega não virais. Monitoramento de eventos adversos.
<b>Uso em indicação não aprovada (off label)</b>	Eficácia desconhecida. Efeitos colaterais indesejados e desnecessários. Falta de monitoramento adequado. Alta especificidade.	Ineficácia do produto Agravamento do quadro clínico	Informação ao profissional da saúde
<b>Limitação dos dados de desenvolvimento não-clínico</b>	Uso de modelos animais irrelevantes. Modelos animais e in vitro não capturam complexidade imunológica humana. Estudos toxicológicos. Preocupações éticas.	Não disponibilidade do produto. Incertezas de segurança e eficácia.	Compreensão das limitações dos modelos animais. Uso concomitante de outros modelos, tais como células e tecidos humanos, modelos e simulações computacionais.

Elaborada pelo autor

A geração de vírus competente para replicação com a **disseminação viral não desejada ou inadvertida** é um risco associado ao produto de terapia gênica e tem sido objeto de preocupação por parte de reguladores e pesquisadores. A mobilização do vetor viral e a integração do DNA viral no genoma do hospedeiro podem levar à produção de partículas virais capazes de infectar outras células, resultando em uma possível disseminação do vetor viral e potencialmente levando a efeitos indesejáveis (MAEMONDO, 2021). Um vetor de replicação competente é um vetor viral com capacidade de se multiplicar, devido à presença dos genes responsáveis pela replicação do vírus. Por outro lado, o vetor viral de replicação incompetente é o vetor cujos genes responsáveis pela capacidade de replicação completa do vírus foram deletados. Há também um tipo de vetor viral de replicação limitada ou defeituosa ou condicional com capacidade restrita de replicação que precisa atingir um determinado tecido ou tipo de célula-alvo para uma integração planejada (PIC/S, 2022). Vários fatores de risco podem contribuir para a geração de vírus competente para replicação, como a escolha do tipo de vetor viral, o tamanho do gene terapêutico, a dose e a rota de administração, além da suscetibilidade genética do paciente. Alguns estudos sugerem que a escolha de vetores com alta capacidade de integração, como retrovírus e lentivírus, pode aumentar o risco de geração de vírus competente para replicação (YODER et al., 2021). Além disso, o tamanho do gene terapêutico e a dose administrada também podem influenciar a capacidade do vetor de se integrar no genoma do hospedeiro e gerar vírus replicante (MAEMONDO, 2021). A rota de administração também pode desempenhar um papel importante na geração de vírus competente para replicação. Por exemplo, estudos demonstraram que a administração intravenosa pode aumentar o risco de disseminação viral, enquanto a administração local pode reduzir esse risco (YODER et al., 2021; MAEMONDO, 2021). A *Food and Drug Administration (FDA)*, dos Estados Unidos, emitiu diretrizes para o desenvolvimento de produtos de terapia gênica, que exigem o uso de ensaios validados para detectar a presença de vírus competente de replicação tanto no material de partida do vetor viral quanto no produto final, com recomendação para o uso de vetores virais deficientes ou incompetentes em replicação. O limite de quantificação (do inglês, *limit of quantification - LoQ*) de vírus competente para replicação é uma medida importante para avaliar a segurança dos produtos, considerando limites aceitáveis para minimizar os riscos de efeitos adversos. O limite deve ser estabelecido caso a caso com base nas características específicas da terapia e do vetor utilizado (EMA, 2018), (FDA, 2020). Testes de controles com ensaios de alta sensibilidade devem ser aplicados para detectar vírus competente de replicação em casos de vetores não competentes/defectivos ou vetores condicionais. Para casos de vetores não competentes ou condicionais é importante também aplicar controles para evitar uma infecção ou contaminação cruzada da linha de produção celular por vírus tipo selvagem, auxiliar ou híbrido, o que pode resultar na formação de vírus recombinantes

competentes para replicação durante a produção. Se o vetor utilizado for competente para replicação, a detecção de sequências virais em locais não-alvo devem ser seguidos por ensaios quantitativos apropriados de infecciosidade, a fim de avaliar o potencial infeccioso do ácido nucleico detectado. (EMA, 2018). Para terapia gênica *ex vivo* uma avaliação de riscos deve abordar a potencial geração de vírus replicante durante a fabricação, considerando o nível de testagem na produção de vetor viral e a demonstração da ausência na produção das células geneticamente modificadas (FDA, 2022b). Os documentos de avaliação dos produtos analisados neste estudo mencionam em alguma medida as preocupações com geração de vírus competente e o potencial risco de disseminação viral. Como exemplo, nos documentos do KYMRIAH® se descreve um risco de mobilização do vetor como consequência da geração de lentivírus competentes para replicação (do inglês, *Replication-competent Lentivirus* - RCL) durante a fabricação do vetor. RCL refere-se a partículas lentivirais que adquiriram a capacidade de se replicar e empacotar seu próprio genoma de RNA, levando à produção de novas partículas lentivirais infecciosas. O documento observa que a geração de RCL após a infusão de células T transduzidas pelo vetor lentiviral continua sendo uma possibilidade teórica, ainda não relatada na literatura, embora com baixa probabilidade, uma vez que múltiplos eventos de recombinação seriam necessários para gerar RCL. O documento também menciona que, para todos os lotes fabricados durante o desenvolvimento clínico, os resultados dos testes de liberação para RCL estavam abaixo do limite de quantificação (LoQ), o que confirma que nenhum RCL foi detectado nos lotes. O documento sugere que o risco de mobilização do vetor devido à geração de RCL é considerado baixo e que o processo de fabricação inclui várias medidas de controle de qualidade para minimizar esse risco. O vetor lentiviral foi concebido para assegurar uma baixa probabilidade de formação de RCL, uma vez que seriam necessários múltiplos eventos de recombinação. No entanto, existe um potencial de recombinação do vetor com vírus estranhos presentes nas células T que atuariam como parceiros de recombinação para suplementar a funcionalidade ausente no vetor. Portanto, a avaliação da qualidade dos componentes utilizados na produção do produto, incluindo vetores virais e outros materiais biológicos, é uma preocupação importante. Observou-se nos documentos que a empresa desenvolvedora do KYMRIAH® realizou investigações sobre a multiplicidade de infecção (MOI), eficiência de transdução, análises e identificação do proteoma do vetor, determinação do número de partículas virais e análise da atividade biológica para garantir a qualidade do produto e minimizar o risco de RCL.

**O agravamento da doença do enxerto contra hospedeiro** (do inglês, *Graft-versus-Host Disease* - GvHD) é um evento adverso relatado em pacientes submetidos a terapia gênica *ex vivo*, observado na avaliação de todos os produtos com células CAR-T. A GvHD é uma complicação esperada do transplante de células-tronco hematopoiéticas, que ocorre quando as células do doador atacam os tecidos do receptor. Em pacientes tratados com CAR-T, por exemplo, a ativação e proliferação de células T geneticamente modificadas

desencadeia uma resposta inflamatória exacerbada que leva a esta doença (ZEISER, 2019), (HASLAUER et al., 2021). Algumas estratégias de prevenção e tratamento da GvHD incluem a administração de imunossupressores, como corticosteroides, ciclosporinas e tacrolimus, antes e após a infusão de células CAR-T. Vários fatores de risco foram identificados para o desenvolvimento de GvHD em pacientes tratados com CAR-T, incluindo idade do paciente, nível de expressão de antígeno-alvo, dosagem da terapia, estado imunológico do paciente e condições de acondicionamento antes da terapia. Este risco é um exemplo típico de evento ocasionado pelas características do produto em interação com as condições do paciente. Neste estudo optamos por classificá-lo como risco relacionado ao produto devido a aspectos importantes da natureza e qualidade do produto CAR -T, medida por parâmetros como viabilidade, função efetora e níveis de células T, bem como relatos da literatura da influência de um tempo prolongado de criopreservação afetando negativamente a viabilidade e a função das células CAR -T, aumentando o risco de GvHD (BREZINGER-DAYAN et al., 2022), (MARTINO et al., 2021). Um dos exemplos de produto que descreveu o risco de agravamento por GvHD foi o CARVYKTI®. Outro exemplo é o relatado nos documentos do ZALMOXIS®, apontando que este foi o evento adverso mais comum relacionado ao produto, ocorrendo em 33% dos pacientes durante a fase de tratamento em ensaio clínico. O ZALMOXIS® é um produto de terapia gênica *ex vivo* a base de células T alogênicas, geneticamente modificadas com um vetor retroviral que codifica uma forma truncada do receptor de baixa afinidade para fator de crescimento de nervo humano ( $\Delta$ LNGBFR) e a timidina cinase do vírus Herpes Simplex I (HSV-TK Mut2) para o tratamento adjuvante do transplante haploidêntico de células estaminais hematopoiéticas de pacientes adultos com malignidades hematológicas de alto risco.

A **imunogenicidade indesejada** é uma grande preocupação na terapia gênica, pois pode afetar a segurança e a eficácia do tratamento. Os riscos de imunogenicidade estão relacionados ao potencial de respostas imunes que podem atingir proteínas de capsídeo, células transduzidas e outros elementos imunogênicos dos produtos, influenciados especialmente pela multiplicidade e diversidade envolvida na construção de vetores, agravado por doses mais elevadas (BONILLO; PFROMM; FISCHER, 2022). A avaliação abrangente das respostas imunes inclui a caracterização da imunogenicidade humoral e celular específica tanto para o vetor viral quanto para o produto de transgene expresso (proteína) antes e após a administração da dose. A imunogenicidade indesejada pode ser observada, por exemplo, devido à expressão persistente do gene. As consequências de tais reações imunes variam desde a detecção transitória de anticorpos ou imunidade mediada por células sem qualquer significado clínico até condições graves que representam risco de vida (LUNDGREN et al., 2022). Reações de hipersensibilidade imediata seriam notadas no ensaio clínico, no entanto, reações tardias como anticorpos à proteína de expressão do gene podem ocorrer. Os anticorpos que interferem na atividade do vetor ou da proteína de expressão do gene podem levar à falta de eficácia (caso seja desejada uma expressão

contínua do gene) e podem reagir cruzado com a proteína endógena se esta ainda é produzida. Nesse caso, a consequência seria a autoimunidade (PILETSKA et al., 2019). Para mitigar o risco de imunogenicidade, o desenvolvimento de produtos de terapia gênica deve considerar fatores relacionados ao produto, como o design da molécula, sistema de expressão, modificações pós-traducionais, impurezas, contaminantes, tipo de formulação e excipientes, embalagens e produtos de degradação. Para produtos destinados a expressar fatores de crescimento, citocinas ou proteínas conhecidas por terem um impacto no sistema imunológico, a avaliação da imunotoxicidade (imunogenicidade) deve ser considerada, incluindo imunidade humoral ou mediada por células (PATEL et al., 2020). Vários estudos destacaram o risco de respostas autoimunes cruzadas em terapia gênica. Para mitigar o risco de respostas autoimunes cruzadas, é essencial a seleção cuidadosa do vetor viral e a escolha da proteína alvo. Além disso, é importante monitorar cuidadosamente os pacientes após a administração do produto para detectar quaisquer sinais de autoimunidade e tomar medidas adequadas para gerenciar as complicações (SINDHU et al., 2021).

O estudo de caso do HEMGENIX® mostrou um risco grave não desejado de sangramento devido à falha da ação farmacológica esperada do produto na presença de anticorpos neutralizantes (do inglês, *neutralizing antibody* - NAb) anti-AAV5 pré-existentes. O texto aborda o risco potencial de neutralização mediada pelo sistema imunológico do capsídeo do vetor AAV5. Os documentos fornecem várias discussões sobre a categoria basal de título de NAb anti-AAV5 e o impacto desses anticorpos na redução da eficácia do produto, medida pela taxa de sangramento anual em pacientes com hemofilia B.

Outro exemplo é o ROCTAVIAN® (*valoctocogene roxaparvovec*) sendo um produto de terapia gênica que expressa a proteína do fator VIII da coagulação humana por meio de vetor recombinante e não replicante baseado também no AAV5. Neste caso se observou o desenvolvimento de inibidores de FVIII como risco significativo do produto. Os inibidores de FVIII são anticorpos que o organismo produz em resposta ao tratamento com terapia de reposição de FVIII, que podem neutralizar o efeito terapêutico do fator e levar ao fracasso do tratamento. O risco de desenvolver inibidores de FVIII é gerenciado monitorando de perto os pacientes em busca de sinais de desenvolvimento de inibidores e ajustando o tratamento conforme necessário. Este tipo de risco é notado em tratamentos convencionais para hemofilia e os documentos sinalizam estudos adicionais em andamento para melhor avaliar estes riscos de desenvolvimento de inibidores dos fatores de coagulação no contexto da terapia gênica.

A resposta do anticorpo anti-CAR é um risco potencial imunogênico associado à terapia com células CAR-T. Ocorre quando o sistema imunológico do paciente reconhece a proteína CAR na superfície das células CAR-T infundidas como imunogênica levando à destruição das células geneticamente modificadas e à diminuição de sua eficácia no tratamento do câncer. Este é o exemplo detectado no ABECMA®. Os anticorpos anti-CAR também podem causar eventos adversos, como reações à infusão, síndrome de liberação

de citocinas e neurotoxicidades. Para mitigar o risco de resposta de anticorpos anti-CAR, os pacientes são rastreados quanto aos anticorpos pré-existentes antes de receber terapia com células CAR-T. Se presente, o paciente pode não ser elegível para tratamento ou pode necessitar de intervenções adicionais para reduzir o risco de eventos adversos. Além disso, alguns produtos de células CAR-T são projetados para usar construções CAR humanizadas ou totalmente humanas para reduzir o risco de reconhecimento imunológico e resposta de anticorpos. O monitoramento de desenvolvimento de anticorpos anti-CAR durante e após a terapia com células CAR-T foi observado nos casos analisados.

Outro caso que merece destaque é o LUXTURNA®. Os documentos analisados apontaram que houve mínimo ou nenhum aumento sustentado nos títulos de anticorpos para o capsídeo AAV2 e anticorpo específico contra RPE65 (proteína transgênica) em amostras de soro temporalmente. Isso sugere que o produto da terapia gênica não provocou uma resposta imune significativa nos pacientes que receberam o tratamento. O documento menciona que as respostas ao capsídeo AAV2 foram avaliadas em vários estudos relacionados ao *voretigene neparvovec*. Não houve evidência de resposta inflamatória, exceto vermelhidão leve ocasional e inflamação do olho, sendo uma ocorrência comum conhecida após procedimentos oculares invasivos. O documento também relata que houve um aumento no título de anticorpo contra o capsídeo AAV2 em seis indivíduos que tinham título baixo no início do estudo, mas não houve correlação clínica. Notou-se discussão referente a pouca observação de eventos imunológicos por ser utilizado a via da administração local (intrarretiniana) do produto, considerado um tecido imunologicamente protegido devido à barreira hematoretiniana, o que é corroborado pela literatura científica (CUNNINGHAM et al., 2012), (YANG et al., 2020). Por medida de precaução, para minimizar as possíveis respostas imunes, prednisona oral foi administrado antes e depois da aplicação. Neste mesmo sentido, outro exemplo é o que aconteceu com o ZOLGENSMA®, que após a infusão, houve aumentos em relação aos valores basais nos títulos de anticorpos anti-AAV9 em todos os pacientes dos estudos clínicos. Títulos elevados de anticorpos anti-AAV9 resultantes da infusão inicial do produto são esperados e podem impedir a possibilidade de re-administração de terapia gênica baseada em vetor AAV9.

A **Síndrome de Liberação de Citocinas- SLC** (do inglês, *Cytokine Release Syndrome*), é uma complicação potencialmente fatal que pode ocorrer após o tratamento com células CAR-T. É causada pela liberação de citocinas, moléculas sinalizadoras que ajudam a regular a resposta imune (BRUDNO; KOCHENDERFER, 2018). Quando as células CAR-T são ativadas, elas podem causar uma liberação maciça de citocinas, levando a sintomas como febre, pressão arterial baixa e disfunção de órgãos (COSENZA; SACCHI; POZZI, 2021). Os fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento da SLC em pacientes tratados com células CAR-T incluem: elevada carga tumoral prévia ao tratamento (NEELAPU et al., 2017b), estado de saúde geral do paciente, incluindo comorbidades e desequilíbrios eletrolíticos; intensidade do regime de condicionamento (por exemplo,

quimioterapia de alta dose); resposta imunológica anterior a antígenos específicos (NEELAPU et al., 2017b). Além desses fatores, estudos recentes identificaram biomarcadores específicos, como níveis séricos elevados de interleucina-6 (IL-6) e outras citocinas pró-inflamatórias, que podem ajudar a prever o risco de SLC em pacientes tratados com células CAR-T (COSENZA; SACCHI; POZZI, 2021). A síndrome de liberação de citocinas foi relatada em todos os produtos de terapia gênica *ex vivo* do tipo CAR-T, avaliados neste estudo. No ABECMA® foi observado que a SLC ocorreu em 95% dos pacientes que utilizaram o CAR-T e eventos de Grau  $\geq 3$  (maior gravidade) ocorreram em 5%. As manifestações mais comuns da SLC incluíram febre, hipotensão, aumento do aspartato aminotransferase (AST), calafrios, aumento da alanina aminotransferase (ALT) e taquicardia sinusal.

A terapia com células CAR-T tem sido associada também a diversos fatores de risco para **neurotoxicidades** com eventos neurológicos como resultados da resposta imunológica. Alta dose de células CAR-T infundidas, comorbidades neurológicas pré-existentes, ansiedade ou depressão pré-CAR-T, alta carga de doença maligna, regime de linfodepleção de alta intensidade, ativação endotelial pré-existente, trombocitopenia grave e concentrações elevadas de ácido 3-hidroxiantitranílico (3HAA) antes da infusão das células são alguns dos fatores associados a neurotoxicidade. Além disso, modelos animais e resultados em ensaios clínicos sugerem a influência da centralidade de monócitos, disfunção endotelial e barreira hematoencefálica no desenvolvimento da neurotoxicidade associada às células CAR-T (SANTOMASSO et al., 2018), (LE et al., 2018), (GUST et al., 2019).

Os documentos analisados do CARVYKTI® fornecem informações sobre reações adversas neurocognitivas, distúrbios psiquiátricos, síndrome de neurotoxicidade associada a células efectoras imunes (do inglês, *Immune Effector Cell-Associated Neurotoxicity - ICANS*). Há recomendações para que o paciente abstenha-se de dirigir e se envolver em ocupações ou atividades perigosas nas 8 semanas após a infusão do produto e procurar ajuda médica a qualquer sintoma de ICANS. Toxicidades neurológicas ocorreram em 26% de indivíduos que utilizaram o CARVYKTI®, com eventos de Grau  $\geq 3$  relatados em 11%. As manifestações mais comuns foram encefalopatias, afasias e cefaleias. Alguns pacientes (5%) desenvolveram algum sinal ou sintoma de parkinsonismo incluindo tremor, micrografia, postura anormal, bradicinesia, face mascarada, depressão, estereotipia, retardo psicomotor e encefalopatia.

No ABECMA® também foi observado o parkinsonismo de grau 3 em um paciente durante o ensaio clínico do produto. O parkinsonismo é um grupo de distúrbios neurológicos que causam problemas de movimento semelhantes aos observados na Doença de Parkinson, como tremores, rigidez e dificuldade de equilíbrio e coordenação. O parkinsonismo de grau 3 é uma forma grave dessa condição que pode afetar significativamente a qualidade de vida do paciente e a capacidade de realizar atividades

diárias (OEKELEN et al., 2021). A causa desse evento adverso não é totalmente clara, mas acredita-se que esteja relacionada ao tratamento com determinados produtos a base de células CAR-T (COHEN et al., 2022). Pela análise do KYMRIAH® nota-se que a história prévia de doença do sistema nervoso central (SNC) é considerada um fator de risco para ocorrência de eventos neurológicos, como encefalopatia, estado de confusão ou delírio, nível de consciência diminuído, convulsões e distúrbios na fala.

A toxicidade neurológica é listada como um risco importante identificado e relacionado ao BREYANZI®, com 28,6% a 31% dos pacientes manifestando qualquer grau de neurotoxicidade. Os documentos fornecem informações sobre o tempo de início e duração dos eventos, bem como os sintomas mais frequentes, incluindo encefalopatias, afasias e tremores. Os documentos também discutem o uso de medicamentos concomitantes para manejo, como tocilizumabe e corticosteroides. Há uma perspectiva de considerar um aumento do risco de eventos neurológicos em idosos, mas, dado o pequeno número de idosos tratados nos ensaios clínicos, o desenvolvedor esclarece que nenhuma conclusão robusta pode ser tirada.

Um elemento frequente nas discussões regulatórias e presentes nos documentos estudados são as **limitações dos dados de desenvolvimento clínico** do produto de terapia gênica. Há vários fatores que podem afetar a representatividade da população em um estudo clínico, o que pode levar a conclusões imprecisas sobre a eficácia e a segurança da terapia gênica em diferentes grupos populacionais (BOUAZIZ et al., 2021). Um dos principais fatores é o viés de seleção, que ocorre quando a população do estudo não é representativa da população-alvo, quando certos grupos são excluídos do estudo, como pacientes idosos ou com comorbidades, o que pode limitar a generalização dos resultados. Além disso, pode haver disparidades na identificação de raça e etnia, com alguns grupos sendo super-representados e outros sub-representados na população do estudo (ROTHWELL, 2006), (ABOU-EL-ENEIN; HEY, 2019). A representatividade da amostra estudada é essencial para garantir que os resultados possam ser generalizados para toda a população-alvo. A representatividade relaciona-se à idade, sexo, etnia, comorbidades e outros fatores relevantes. Diferentes pacientes podem apresentar diferentes tipos de mutações genéticas e podem ter diferentes níveis de resposta à terapia (LAPTEVA et al., 2020). Por exemplo, em pacientes com beta-talassemia, existem diferentes tipos de mutações que podem afetar a resposta à terapia gênica. A projeção dos estudos clínicos devem incluir uma variedade de pacientes com diferentes características genéticas, a fim de avaliar a eficácia da terapia em diferentes subgrupos populacionais (RATTANANON et al., 2021). Estudos genômicos podem ajudar a identificar as diferenças genéticas entre os pacientes e os impactos na resposta à terapia (UFFELMANN et al., 2021). O desenvolvimento de produtos de terapia gênica apresenta diversos desafios na fase de desenvolvimento clínico, incluindo tamanho limitado da população estudada, falta de rotas clínicas estabelecidas e a ausência de desfechos clínicos (*endpoints*) validados (EMA, 2018; EMA, 2021). As técnicas de

randomização e mascaramento de informações (cegamento) podem reduzir o viés de seleção e o viés de desempenho. O mascaramento envolve ocultar a informação sobre o grupo de tratamento e controle dos participantes e dos pesquisadores, reduzindo o viés de informação e aumentando a objetividade dos resultados. Já a randomização ou a aleatorização é o processo de atribuição aleatória dos participantes aos grupos de tratamento e controle, reduzindo o viés de seleção e aumentando a probabilidade de que as características dos grupos sejam semelhantes. Grupos de controle apropriados podem reduzir o viés devido ao curso natural da doença ou outros fatores externos. O uso de tecnologia, como captura eletrônica de dados e monitoramento remoto, pode reduzir o viés devido a erro de medição ou viés do observador. Também apontado como mecanismo de mitigar riscos de vieses exige-se que os pesquisadores sejam independentes e não tenham conflitos de interesses financeiros, garantindo a integridade dos resultados (FDA, 2019), (BRADLEY et al., 2020), (CORTELLI et al., 2020). Um estudo de revisão, em 2016, destacou a importância da transparência na divulgação dos interesses financeiros dos pesquisadores e sua relação com os resultados dos estudos clínicos (KAUFMAN, 2016). Ilieva *et al* (2020) (ILIEVA; BORISSOV; TOUMI, 2020) apontou que apenas nove dos 159 ensaios clínicos europeus com terapia gênica, até julho de 2019, eram randomizados, duplo-cegos, com ou sem grupos paralelos e controle com placebo. Estudos de revisão da literatura apontam que a aprovação de produtos de terapia avançada, com destaque para os produtos de terapia gênica, é principalmente respaldada por estudos pivotais não controlados e de braço único, com uma tendência em direção a uma abordagem adaptativa. Metade dos estudos analisados avaliaram resultados substitutos em vez de resultados clínicos diretos podendo apontar incertezas na avaliação do verdadeiro impacto terapêutico (ARABI; MANSOURI; AHMADBEIGI, 2022).

Este risco de limitações nos dados clínicos de desenvolvimento foi apontado em diversos documentos analisados neste estudo. No caso do HEMGENIX®, para tratamento de hemofilia B, apontou-se a necessidade de explicações detalhadas sobre a confiabilidade dos resultados de desfecho primário, referente a taxa de sangramento anual, relatada pelo paciente ao centro clínico por meio de sistema eletrônico. Os reguladores apontaram preocupação com a aferição do desfecho primário de natureza subjetiva sujeita a vieses devido a variações potenciais. Neste caso, houve a necessidade de estudos de validação comparativa utilizando simultaneamente a descrição em papel e em sistema eletrônico, com devido treinamento e padronização dos procedimentos.

No LUXTURNA®, a preocupação regulatória se deu ao tamanho amostral reduzido do estudo de Fase 3 e à necessidade de avaliar dados individuais dos paciente para compreender os resultados de eficácia. O estudo incluiu um total de 31 indivíduos, com 21 no grupo de tratamento e 10 no grupo controle. Por se tratar de uma doença ultrarrara (distrofia retiniana genética), a amostra pequena pode restringir a generalização dos resultados para uma população maior, sendo fundamental a avaliação dos dados individuais dos

participantes.

Outro caso importante foi o detectado nos documentos do TECARTUS® relacionado à taxa de censura. A taxa de censura é um conceito estatístico que se refere à proporção de indivíduos em um estudo que não experimentam o evento de interesse durante o período de acompanhamento. Em outras palavras, é a proporção de indivíduos que não tiveram um desfecho definido no final do estudo (BAO et al., 2020), (JIANG; SWANSON; BETENSKY, 2021). Nos documentos estudados apontou-se uma alta taxa de censura de 69% após uma média de 240 dias de acompanhamento a partir do momento da primeira resposta, prejudicando a estimativa da duração da resposta (do inglês, *Duration Of Response* - DOR). A DOR pode ser entendida como o intervalo entre o momento em que a resposta é alcançada e o momento em que ocorre a progressão da doença (o tumor volta a crescer ou aparecem novas lesões). No caso em estudo, a mediana da DOR não foi alcançada, o que significa que mais da metade dos pacientes ainda estavam em remissão no momento da análise dos dados. A taxa de censura é importante porque pode afetar a interpretação dos resultados do estudo. Se muitos pacientes não tiverem um desfecho definido, pode ser difícil determinar a eficácia do tratamento. No entanto, neste caso analisado, não sendo possível estimar a DOR após um acompanhamento mediano de 240 dias desde a primeira resposta devido à taxa de censura, a robustez das altas taxas de resposta objetiva (do inglês, *Objective Response Rate* - ORR) observada de 87% e a taxa de resposta completa (do inglês, *complete response rate* - CR) de 62% sugerem que o tratamento é eficaz para pacientes com linfoma de células B, recomendando a continuidade do monitoramento a longo prazo.

No exemplo do CARVYKTI® observa-se que o estudo clínico não utilizou randomização e procedimentos de cegamento constituindo-se em um estudo aberto. A representatividade da população da doença tratada foi um ponto de preocupação, composta por pacientes relativamente jovens, com bom desempenho. Esta situação levantou preocupações sobre a validade externa dos dados e a extrapolação para a população geral de pacientes com mieloma múltiplo na prática clínica, onde tais restrições nem sempre podem ser aplicadas. Além disso, a população do estudo esgotou amplamente as opções de tratamento disponíveis, não deixando nenhum comparador para garantir o equilíbrio, podendo haver incertezas sobre o efeito real do tratamento, com recomendação para o monitoramento a longo prazo.

O **desenvolvimento de malignidades** é uma das principais preocupações sobre riscos de produtos de terapia gênica. As substâncias carcinogênicas são aquelas que após inalação, ingestão, aplicação dérmica ou injeção, induzem a formação de tumores (malignos), aumentam sua incidência ou malignidade ou encurtam o tempo de ocorrência de um tumor. É geralmente aceito que a carcinogênese é um processo de múltiplas etapas e impactos que ocorrem durante a transição de células normais para células cancerígenas, por meio de uma sequência de estágios e interações biológicas complexas, fortemente

influenciadas por fatores como genética, idade, dieta, ambiente, equilíbrio hormonal (EUROPEAN UNION, 2023). Uma vez que a indução do câncer envolve alterações genéticas que podem ser induzidas direta ou indiretamente, os carcinógenos têm sido convencionalmente divididos em duas categorias de acordo com seu suposto modo de ação: carcinógenos genotóxicos e carcinógenos não genotóxicos. Carcinógenos genotóxicos têm capacidade de interagir com o DNA e/ou o aparato celular, afetando assim a integridade do genoma, enquanto carcinógenos não genotóxicos exercem seus efeitos por meio de outros mecanismos que não envolvem alterações diretas no DNA (EUROPEAN UNION, 2023). A genotoxicidade está relacionada aos danos causados ao DNA e à capacidade de uma substância interagir com o material genético das células. Já o termo geral carcinogenicidade envolve a capacidade de uma substância causar tumor maligno, independentemente do seu mecanismo específico de ação. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera oncogenicidade como a capacidade de um agente acelular - um produto químico, vírus, ácido nucleico viral, gene(s) viral(is) ou elemento(s) subcelulares, de fazer com que células normais formem tumores (WHO, 2013), sendo este conceito sinônimo de carcinogenicidade. Em contraste, a tumorigenicidade está associada a capacidade de uma população de células inoculadas de produzir um tumor por proliferação no local de inoculação e/ou em um local distante. A oncogenicidade está relacionada à capacidade de causar a transformação de células normais em células cancerígenas, enquanto a tumorigenicidade está relacionada à capacidade de células potencialmente cancerígenas formarem tumores em um organismo vivo. Ambos os conceitos são importantes na compreensão do desenvolvimento e progressão do câncer, bem como na avaliação de agentes potencialmente carcinogênicos (WHO, 2013).

A mutagênese insercional é uma consequência inevitável da transposição de material genético, ou seja, refere-se ao processo de introdução de material genético exógeno no genoma de uma célula. Seja envolvendo um vírus integrativo, um elemento transponível, um vetor viral defeituoso em replicação ou mesmo um DNA de plasmídeo. A integração ectópica do DNA ao cromossomo é um evento mutagênico que pode perturbar a estrutura da cromatina ou do gene, alterando assim a transcrição, a regulação e/ou as sequências de codificação do gene (BUSHMAN, 2020). A maior preocupação associada a tais mutações é o risco de transformação celular. A aquisição do fenótipo maligno pode ocorrer após a inativação de genes supressores de tumor, tipicamente um evento recessivo, ou a transativação de oncogenes, que provavelmente exerce um efeito dominante, neste caso, pode-se dizer de uma oncogênese insercional (KNIGHT; COLLINS; TAKEUCHI, 2013).

A oncogênese insercional pode promover o desenvolvimento de câncer como resultado de uma mutagênese insercional, incluindo a ativação de oncogenes ou a inativação de genes supressores de tumores, onde o DNA inserido perturba a regulação normal do crescimento e divisão celular, levando à proliferação celular descontrolada. Além

disso, a inserção pode ocorrer em um local que regula a expressão de um gene, levando a uma expressão desregulada e excessiva de um oncogene. Outro mecanismo é a ativação de elementos de transposição endógenos, que podem promover a translocação de genes oncogênicos ou desestabilizar a estrutura cromossômica, levando à formação de tumores (CHANG; YEE, 2012). A inserção de um vetor viral pode levar à ativação do promotor viral e, assim, a uma expressão excessiva de genes adjacentes, o que pode levar à transformação celular (RANZANI et al., 2013).

O risco de mutagênese insercional é uma preocupação para produtos de terapia gênica que usam vetores integrativos. No caso do ABECMA® a análise do vetor lentiviral foi realizada em amostras do produto de vinte (20) pacientes, não sendo observado evidências de integração preferencial perto de genes preocupantes ou crescimento preferencial de células que abrigam locais de integração significantes. A análise do Local de Inserção do Vetor (LIV), local específico no genoma de uma célula em que um vetor de terapia gênica integrante se insere, foi realizada para avaliar o potencial risco de mutagênese insercional decorrente da integração do vetor lentiviral no genoma, o que pode levar à interrupção da função dos genes e/ou ativação de oncogenes, e potencialmente à transformação maligna. O design do vetor foi desenvolvido para reduzir significativamente a probabilidade de mobilização do provírus no genoma do hospedeiro e a ativação da transcrição de oncogenes adjacentes que poderiam estar próximos ao local de inserção. Os dados da análise do local de inserção não indicaram observações relativas à integração e a policlonalidade. Também não houve integração preferencial nos genes ou próximo a genes críticos, por exemplo, gene CCND2<sup>1</sup>, MN1<sup>2</sup>, MDS1/EVI1 (MECOM)<sup>3</sup> (MEDLINE PLUS, 2023), (GENECARDS, 2023). Estes genes estão envolvidos em rearranjos genéticos associados a certos tipos de câncer. Nenhuma transformação oncogênica de células T após a transdução no processo de fabricação foi observada. Além disso, não houve mudanças substanciais nos fenótipos de células CAR-T ou diminuições substanciais na diversidade clonal sob qualquer condição testada. Estes indicam que o risco tumorigênico relacionado ao processo de fabricação do ABECMA® é insignificante. Os resultados para a preferência de inserção do vetor lentiviral foram consistentes com o tipo selvagem de vírus HIV e outros vetores lentivirais descritos.

O risco mais importante do tratamento com o SKYSONA® é a oncogênese

---

<sup>1</sup> CCND2: O gene CCND2 fornece instruções para a produção da proteína ciclina D2. As ciclinas são uma família de proteínas que controlam como as células avançam através do ciclo de divisão celular, que ocorre em várias etapas. A ciclina D2 ajuda a regular uma etapa do ciclo celular denominada transição G1-S. O papel da ciclina D2 no ciclo de divisão celular torna-a um controlador fundamental da taxa de crescimento e divisão celular (proliferação) no corpo.

<sup>2</sup> MN1 proto-oncogene. O gene MN1 fornece instruções para a produção de uma proteína cuja função ainda não é clara. A proteína MN1 interage com outras proteínas conhecidas como fatores de transcrição. Essas proteínas se ligam a áreas específicas do DNA e ajudam a controlar a atividade de genes particulares, especialmente aqueles necessários para o desenvolvimento do crânio e do cérebro.

<sup>3</sup> MSD1/EVI1 (MECOM) - Funciona como um regulador transcricional ligando-se a sequências de DNA na região promotora de genes-alvo e regulando positiva ou negativamente sua expressão. É um oncogene que desempenha um papel no desenvolvimento, proliferação celular e diferenciação. Está envolvido na hematopoiese.

insercional. Três indivíduos nos ensaios clínicos com o produto desenvolveram malignidade hematológica, sendo observado que todos os pacientes tratados com SKYSONA® tiveram integração no MECOM, um oncogene que parece ser o condutor de dois dos três casos de malignidade hematológica relatados. MECOM é um gene humano também conhecido como EVI1 (*Ecotropic Viral Integration Site 1*) ou MDS1 and EVI1 Complex Locus. É um gene que desempenha um papel importante no desenvolvimento normal das células sanguíneas (GENECARDS, 2023). Alterações no gene MECOM estão associadas a certos distúrbios hematológicos, como a síndrome mielodisplásica (MDS) e a leucemia mieloide aguda. Os dois primeiros casos foram diagnosticados aproximadamente 1 a 2 anos após o tratamento com SKYZONA®, antes que esses pacientes pudessem ter experimentado qualquer benefício clínico como o produto. O terceiro caso de malignidade hematológica ocorreu aproximadamente 7 anos após o tratamento, portanto, teve o período mais longo de observação do desenvolvimento de malignidade. A incidência de malignidade hematológica após o tratamento com SKYSONA® é incerta devido ao curto período de acompanhamento para muitos dos indivíduos, com 99% tratados com menos de 7,5 anos monitorados. Para abordar esta preocupação, foi exigido estudos de segurança pós-comercialização por um longo prazo de 15 anos para avaliar o risco de ocorrência de malignidades secundárias após o tratamento com o produto.

O mapeamento apontou o risco potencial de malignidades devido à oncogênese insercional associada ao STRIMVELIS® e observou que todos, exceto um sujeito em um ensaio clínico, tiveram locais de inserção próximos a proto-oncogenes, não sendo observado nenhum caso de câncer durante um seguimento médio de 7 anos e máximo de 13 anos. Destaca-se que o produto utiliza um vetor retroviral, que apresenta inserção semi-seletiva no genoma, com o risco de inserção em locais próximos a genes associados ao câncer, podendo levar à mutagênese insercional e potencial expansão clonal e neoplasia. Foram realizados análises do local de inserção do vetor retroviral em amostras de células de medula óssea e sangue periférico de pacientes tratados com STRIMVELIS®. As integrações foram encontradas predominantemente dentro e ao redor do local de início da transcrição de genes e inserções em genes associados ao controle do ciclo celular, sinalização celular e perto de oncogenes conhecidos, como LMO-2<sup>4</sup> (GENECARDS, 2023b). Alterações no gene LMO2 têm sido associadas a certos tipos de câncer, em particular à leucemia linfoblástica aguda de células T. Embora os dados clínicos pareçam tranquilizadores, o potencial carcinogênico devido à mutagênese insercional e subsequente expansão clonal não pôde ser determinado no momento da avaliação, devido à incapacidade de obter enxerto de longo prazo de células transduzidas em camundongos ou outros modelos animais. Desta forma, a realização de

<sup>4</sup> LMO2: gene que codifica uma proteína rica em cisteína, necessária para a eritropoiese do saco vitelino. A proteína LMO2 tem um papel central e crucial no desenvolvimento hematopoiético e é altamente conservada. O local de início da transcrição do gene LMO2 está localizado aproximadamente a 25 kb a jusante do agrupamento de translocações onde ocorrem diversas translocações específicas de leucemia linfoblástica aguda de células T.

estudos de acompanhamento a longo prazo foi acordado no processo de aprovação do produto.

Riscos de **toxicidade reprodutiva e a transformação da linhagem germinativa** são importantes preocupações relacionadas aos produtos de terapia gênica. Se o produto persistir nos órgãos reprodutivos além de um determinado período, com impacto na expressão gênica, pode ocorrer alterações significativas nas células germinativas e riscos reprodutivos. Destacam-se riscos potenciais para anormalidades reprodutivas, ciclos irregulares, taxas de fertilização reduzidas, desenvolvimento embrionário pré-implantação defeituoso, bem como possibilidade de mutações genéticas indesejadas e transmissão para as gerações futuras (COUTELLE; ASHCROFT, 2012). Se o produto de terapia gênica utilizar um vetor com capacidade de integração, ou se houver evidências de que a distribuição persistente do vetor/gene aumenta a possibilidade de integração e que pode ser distribuído nos órgãos reprodutivos, são necessárias investigações em células germinativas ou impactos no potencial de fertilidade. Se a população-alvo incluir mulheres com potencial reprodutivo, que serão expostas ao produto, será importante realizar testes de toxicidade embriofetal e perinatal e estudos de transmissão germinativa. O potencial para toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento precisa ser abordado dependendo do tipo de produto, mecanismo de ação, perfil de distribuição e excreção e população-alvo de pacientes. Estudo padrão de segurança reprodutiva não clínico é um tipo de ensaio pré-clínico realizado em animais antes de testar novos medicamentos ou terapias em seres humanos. O objetivo deste tipo de estudo é avaliar os potenciais efeitos adversos que o tratamento pode ter sobre a fertilidade, o desenvolvimento fetal e a reprodução em geral, realizados em diferentes espécies de animais e podem incluir avaliações do ciclo menstrual, espermatogênese, ovulação, implantação embrionária, desenvolvimento fetal, amamentação, dentre outros (ICH, 2009), (EMA, 2018). Estudos padrão de toxicidade reprodutiva não clínica geralmente não são necessários antes do primeiro uso em seres humanos, a menos que as características biológicas do produto de terapia gênica e/ou a indicação proposta e/ou as características da população de pacientes sugiram um risco para os órgãos ou função reprodutiva (EMA, 2008), (EMA, 2018). Quando couber, principalmente em produtos de terapia gênica *in vivo*, estudos de risco de transmissão da linhagem germinativa e de reprodução devem investigar diretamente se o ácido nucleico administrado está sendo transmitido para a prole, bem como o tempo da espermatogênese e maturação do oócito, respectivamente, deve ser cuidadosamente considerado ao realizar estudos de reprodução. Risco de transmissão germinativa associado à administração de células humanas geneticamente modificadas pode ser considerado baixo e difícil de abordagem em estudos não clínicos. Segundo as diretrizes regulatórias atuais a omissão de tais estudos geralmente é justificável, a menos que as células geneticamente modificadas apresentem um risco significativamente maior de transmissão inadvertida em linhagem germinativa (por exemplo, devido à mobilização de sequências de vetores

integrativos) (EMA, 2018), (EMA, 2021). Uma das estratégias para mitigação de riscos de uso de produtos de terapia gênica ainda em fase de desenvolvimento com dados de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento ainda incipientes é a possibilidade de uso em humanos com controle de contracepção rigorosa e solicitação de consentimento livre e esclarecidos para impedir a gravidez por um grupo de pacientes com uma condição de risco de vida (EMA, 2008), (EMA, 2018), (ICH, 2023).

Foi detectado nos documentos analisados neste estudo discussões sobre os riscos da toxicidade reprodutiva. Por exemplo, no YESCARTA® foi descrito não haver dados disponíveis sobre o uso em mulheres grávidas. Nenhum estudo de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento animal foi conduzido com o produto para avaliar se ele pode causar danos fetais quando administrado durante gravidez. Com base no mecanismo de ação, se as células transduzidas atravessarem a placenta, elas podem causar toxicidade fetal, incluindo a linfocitopenia de células B. Desta forma, como medida de precaução não se recomenda o uso do produto em mulheres grávidas. No caso do ZYNTGLO®, foi informado não haver dados sobre os efeitos do produto na fertilidade humana, que não foram avaliados em estudos animais. Desta forma foi aconselhado no processo de gerenciamento de riscos criopreservar o sêmen ou os óvulos de pacientes antes do tratamento. No exemplo do produto de terapia gênica *in vivo*, o IMYLGIC®, o material documental avaliado descreve um estudo de toxicidade em desenvolvimento embriofetal realizado para avaliar a capacidade do *talimogene laherparepvec* em atravessar a barreira placentária. Foi detectado DNA viral em amostras de sangue fetal em concentrações muito baixas, representando menos de 0,001% da concentração simultânea de DNA viral no sangue materno. Isso sugere que o *talimogene laherparepvec* consegue atravessar a barreira placentária.

O risco de **transmissão inadvertida e não intencional do vetor** é uma preocupação inerente ao tipo de produto de terapia gênica, sendo o único risco mapeado neste estudo que não interfere diretamente no paciente. A disseminação de vetor viral (do inglês, *shedding*) pode ter impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente. A disseminação viral se dá através das excreções do paciente, sendo uma preocupação de segurança significativa para os profissionais da saúde, cuidadores e familiares. Existem vários fatores de riscos que podem contribuir para o derramamento de vetor viral, tais como: a) manipulação inadequada de materiais podendo levar à liberação acidental de vetor viral, com necessidade de implementação de medidas e barreiras de biossegurança (CDC, 2020); b) uso de vetores virais replicativos, como os retrovírus, que podem se integrar ao genoma hospedeiro e replicar de forma autônoma, aumentando o risco de derramamento de vetor viral (BULCHA et al., 2021); c) má escolha do sistema de expressão resultante em altos níveis de expressão em células não alvo, aumentando o risco de derramamento (WANG et al., 2013); d) uso de vetores virais persistentes, por exemplo, o adenovírus, podendo persistir no ambiente por longos períodos (WOLD; TOTH, 2013) e a falta de monitoramento ambiental adequada, comprometendo a detecção de derramamento de vetor viral (EMA, 2008). Um produto

de terapia gênica contém um organismo geneticamente modificado (OGM), que deve ser caracterizado quanto a sua capacidade de replicação, disseminação ou potencial transmissão não intencional. Essas análises de caracterização são fundamentais para avaliação dos riscos de transmissão para o meio ambiente (EMA, 2008). Importante discutir o risco potencial de transmissão horizontal desses vetores virais a terceiros, especialmente aqueles que entram em contato direto com os fluidos corporais do paciente. Os riscos são diretamente relacionados à capacidade do vetor viral de se replicar em células não alvo e a presença de resíduos virais em produtos derivados do paciente, como sangue, suor, lágrimas ou sêmen. Além disso, a possibilidade de transmissão horizontal de vetores virais também deve ser considerada durante a preparação e a administração do produto, bem como o manuseio de material biológico, como seringas, agulhas e outros equipamentos de administração. Para minimizar o risco de transmissão horizontal, medidas de biossegurança devem ser aplicadas durante todas as fases da terapia gênica, desde a preparação do vetor viral até a administração do produto ao paciente, com o uso de equipamentos de proteção individual, descarte seguro de resíduos biológicos e a adoção de boas práticas de higiene e limpeza (EMAMALIPOUR et al., 2020), (PAN et al., 2022).

O HEMGENIX® (*etranacogene dezaparpovec*) é um produto de terapia gênica *in vivo* baseado no vetor viral de AAV5. As modificações genéticas introduzidas no desenvolvimento do produto não afetaram seu amplo tropismo por diversos tecidos alvo, sendo um vetor não replicativo. Com base nos dados apresentados nos documentos, as partículas infecciosas só são demonstradas no soro durante os primeiros dias após a administração do produto, assim, o derramamento do vetor é altamente improvável, mas não pode ser excluída e o risco ao meio ambiente é considerado insignificante. As medidas de higiene e limpezas adotadas no hospital são suficientes. O desenvolvedor realizou estudo de biodistribuição do produto após administração única por via intravenosa em macacos *cynomolgus* machos com doses definidas, seguido por um período de investigação de 26 semanas. Os resultados mostraram que os níveis de DNA do vetor no soro, saliva e urina diminuíram temporalmente, sendo que no soro apresentaram-se as maiores concentrações em todos os pontos de tempo medidos. Os níveis de DNA do vetor estavam abaixo do limite de detecção na saliva e urina após a semana 8. Níveis baixos de DNA do vetor foram detectados nas amostras de sêmen do grupo que utilizou dose mais alta, enquanto no grupo de dose mais baixa os níveis estavam próximos aos limites de detecção. A presença de DNA do vetor em saliva e urina pode indicar o potencial de disseminação do vetor para outras pessoas ou para o meio ambiente. Outra preocupação descrita no HEMGENIX® é a recomendação presente em praticamente todas as avaliações de riscos e benefícios de produtos de terapia gênica que pacientes tratados não devem doar sangue, tecidos, células ou órgãos para transfusão e transplante para minimizar o risco de exposição a indivíduos.

A transmissão de IMYLGIC® (*talimogene laherparepvec*) para um receptor humano não intencional foi considerado nas análises documentais um risco potencial. No pior

cenário, presume-se que o produto pode se espalhar no ambiente, infectar um receptor humano, estabelecer latência/reativação, inclusive com riscos moderados a altos a indivíduos imunocomprometidos e grávidas. O tropismo e a capacidade de infecção de IMYLGIC não são considerados diferentes do vírus selvagem do Herpes Simplex (HSV1). No entanto, após a infecção, a capacidade de replicação, neurovirulência potencial, patogenicidade e potencial para estabelecer latência é atenuado em comparação com o tipo selvagem. As modificações facilitam a replicação em tumores em comparação com células normais. Os indivíduos prováveis que poderiam estar em risco de transmissão inadvertida seriam profissionais de saúde e trabalhadores envolvidos na administração e cuidados a doentes, bem como outros profissionais envolvidos em contatos próximos do indivíduo tratado (roupas, curativos, etc). Fora do hospedeiro, o vetor viral não sobrevive por longos períodos. Estima-se que o mecanismo provável de exposição durante a administração sejam exposições acidentais, como ferimentos por picada de agulha.

O TECARTUS®, produto de terapia gênica ex vivo, tipo CAR-T, representa um risco insignificante para o meio ambiente ou para as pessoas em geral. O risco de recombinação do vetor retroviral para uma forma competente de replicação foi avaliado como extremamente baixo ou insignificante. O potencial para o produto persistir no ambiente é insignificante. Existe risco potencial de exposição da equipe de saúde durante a administração do produto. Este risco pode ser efetivamente mitigado por precauções universais de Boas Práticas em Serviços de Saúde e por treinamento adicional aos profissionais durante a qualificação do local de tratamento.

A eliminação temporária do vetor do ZOLGENSMA® ocorre principalmente através dos resíduos corporais. Notaram-se recomendações aos cuidadores e familiares sobre o manejo adequado das fezes do paciente (bebês de 6 meses a 2 anos de idade), com o uso de fraldas descartáveis e descarte em sacos de lixo. Segundo orientações nas instruções do fabricante essas precauções devem ser seguidas por um mês após a infusão do ZOLGENSMA®.

A literatura científica indica que a análise do derramamento do vetor é um componente importante dos estudos de segurança clínica da terapia gênica, e diversos estudos já foram realizados para avaliar o derramamento de vetores virais em ensaios clínicos envolvendo diferentes tipos de vetores virais (SCHENK-BRAAT et al., 2007).

Outro risco apontado neste estudo foi a **interferência em resultados de triagem laboratorial de infecções virais**. Descreveram-se vários relatos de teste de ácido nucleico de HIV falso-positivo em pacientes que receberam terapias CAR-T baseadas em lentivírus. A interferência dos produtos das células CAR-T com o teste de amplificação do ácido nucleico do HIV-1 foi reconhecida como aspecto técnico inerente ao produto. Neste caso, importante discutir o risco social e psíquico envolvido em um resultado falso-positivo. Em todos os produtos de terapia gênica do tipo CAR-T que utilizaram vetores baseados no lentivírus HIV-1 alertaram-se para a questão dos resultados falsos.

Um exemplo foi no caso do BREYANZI®. Os documentos estudados mencionam que devido à existência de informações genéticas idênticas entre o vetor de lentivírus usado para produzir o produto e o vírus HIV selvagem, alguns testes de ácido nucleico (do inglês, *Nucleic Acid Amplification Test* - NAT) comerciais podem apresentar um resultado falso-positivo não refletindo uma verdadeira infecção pelo HIV. No entanto, esses resultados falsos positivos podem ser resolvidos usando testes sorológicos de triagem de HIV que detectam anticorpos e/ou antígenos do HIV-1.

Os **eventos tromboembólicos** com o uso da terapia gênica podem ser causados por uma interação complexa de fatores genéticos e adquiridos. Este tipo de risco foi relatado em diversos produtos de terapia gênica *in vivo* analisados neste estudo. Tromboembolismo é uma condição em que um coágulo sanguíneo se forma em um vaso sanguíneo e pode causar complicações graves, como acidente vascular cerebral ou embolia pulmonar (NIH, 2022).

Guillou *et al.* (GUILLOU *et al.*, 2022) relatou um caso de microangiopatia trombótica sistêmica fatal após o uso do ZOLGENSMA® (*onasemnogene abeparvovec*) em uma criança de 6 meses com AME tipo 1, que carregava uma possível predisposição genética no gene do fator I do complemento. Acredita-se que a microangiopatia trombótica sistêmica associada ao uso do produto de terapia gênica esteja relacionada à resposta imunológica ao vírus adenoassociado (AAV), usado como vetor. Isso pode resultar em ativação do sistema imunológico e deposição de fibrina, levando à formação de coágulos sanguíneos, principalmente nos pequenos vasos. Os sintomas da doença incluem diminuição da produção de urina, anemia, contagem baixa de plaquetas, icterícia e danos cerebrais (THOMPSON; KAVANAGH, 2022). Outros casos de eventos tromboembólicos também foram recentemente relatados (HODEIB *et al.*, 2021). Mecanismos de gerenciamento do risco envolvem o reconhecimento precoce dos sinais e sintomas e a imunoterapia direcionada para garantir a segurança dos pacientes (BOLT *et al.*, 2021). No estudo de caso do ZOLGENSMA® foi observado preocupações como dados de estudos de dose única em camundongos neonatais, em doses altas, com aumentos de incidências de gravidades de eventos cardíacos, incluindo trombose atrial mínima a moderada, acompanhada de inflamação.

Eventos tromboembólicos são um dos riscos potencialmente importantes associados ao uso de ROCTAVIAN® (*valoctocogene roxaparvovec*). Trata-se de um medicamento de terapia gênica que expressa o fator VIII da coagulação humana, baseado em um vetor recombinante e não replicante do AAV5, para o tratamento da hemofilia A grave. Os documentos observam que, embora nenhum evento tromboembólico tenha sido relatado após a infusão do produto, a superexpressão do transgene resultando em níveis de atividade de FVIII suprafisiológicos (>150%) é uma preocupação teórica de segurança, devido ao risco potencial aumentado de trombose. Segundo os documentos analisados nenhum evento tromboembólico surgiu no pequeno número de pacientes que expressaram níveis

suprafisiológicos de FVIII por um período prolongado.

Outro risco potencial mapeado associado aos produtos de terapia gênica é a **hepatotoxicidade**. Toxicidades não clínicas com achados laboratoriais, incluindo hepatotoxicidade, imunogenicidade, neurotoxicidade e os potenciais riscos de mutagênese insercional, podem ocorrer após a administração de terapias gênicas baseadas em vetores AAV (BOLT et al., 2021). Os estudos indicam haver uma ligação entre o vetor de AAV e a hepatotoxicidade. No entanto, os efeitos específicos e os mecanismos dessa associação podem variar com base no sorotipo do vírus e no contexto em que está sendo utilizado. Isso significa que diferentes sorotipos de AAV podem ter efeitos diferentes no fígado e os mecanismos pelos quais causam toxicidade também podem variar dependendo das circunstâncias específicas em que o vetor é aplicado (CHAND et al., 2020).

No estudo do caso do HEMGENIX® os documentos mencionam que a hepatotoxicidade é um importante risco identificado associado ao produto. As características do produto baseado no AAV5 relaciona-se a entrega de uma cópia funcional do gene do fator IX humano (hFIX) às células do fígado. A integração do vetor no genoma do hospedeiro e a produção da proteína hFIX podem ter o potencial de causar toxicidade hepática. Os documentos também descrevem um caso de carcinoma hepatocelular (CHC) em um indivíduo do sexo masculino com idade entre 65 e 74 anos que apresentava vários fatores de risco, incluindo histórico de hepatite B, hepatite C, alcoolismo e esteatose hepática. O carcinoma hepatocelular é um tipo de câncer de fígado com origem nos hepatócitos. É uma condição grave e potencialmente fatal que pode ser causada por vários fatores, incluindo infecção crônica pelo vírus da hepatite B ou C, abuso de álcool e doença hepática gordurosa não alcoólica (LLOVET et al., 2021). O paciente não apresentou evidências significativas de fibrose/cirrose ou esteatose na triagem, ou mesmo antes do tratamento com o produto em investigação. No entanto, no Dia 365 do estudo, um ultrassom revelou uma lesão subcapsular, que foi posteriormente confirmada como CHC. Os estudos de investigação revelaram que a integração do vetor ocorreu em grau mínimo, mas era improvável que tivesse relação causal com o desenvolvimento de carcinoma no paciente do estudo. O vetor AAV5 é não replicante cujo DNA persiste na forma episossomal, com uma integração aleatória do vetor ao DNA humano em baixa frequência. Em geral, o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular é uma preocupação significativa no tratamento de pacientes com hemofilia B e outras doenças hepáticas. Os reguladores ressaltaram a importância de monitorar os pacientes para o desenvolvimento de CHC durante o tratamento com produtos de terapia gênica, inclusive a longo prazo.

O estudo dos riscos do produto ROCTAVIAN® demonstrou que os pacientes sob tratamento tem potencial de desenvolver hepatotoxicidade, especialmente durante o primeiro ano após a administração. O risco de hepatotoxicidade é gerenciado evitando medicamentos concomitantes que são potencialmente hepatotóxicos e monitorando a função hepática. Uma fração muito pequena do vetor baseado em AAV5, em média menos

de 0,1%, foi encontrada integrado ao DNA cromossômico, segundo documentos analisados. Embora 0,1% de integração pareça baixo, em um fígado inteiro corresponde a 107 integrações (com um número de 1010 hepatócitos em um fígado adulto). A relevância clínica para humanos precisa de um período mais longo de observação para validar esse aspecto do perfil de segurança para o ROCTAVIAN®. Os documentos descrevem resultados de estudos em camundongos com o aparecimento de carcinoma hepatocelular (CHC) associado à integração do vetor. Segundo explicações do desenvolvedor é um evento provável dependente da espécie e da idade dos animais. No geral, a soma dos dados não clínicos sugere que o potencial de integração em hepatócitos é um risco comprovado associado ao uso de vetores AAV em terapia gênica, observado em diferentes espécies, roedores (camundongos) e não roedores (cães e primatas) (JONG; HERZOG, 2021). As agências reguladoras consideraram que o risco de carcinoma hepatocelular, embora potencial, deve ser cuidadosamente monitorado a longo prazo.

O perfil de segurança do ZOLGENSMA® também foi caracterizado principalmente por aumentos transitórios nas enzimas hepáticas conhecidas como transaminases e por uma diminuição temporária na contagem de plaquetas no sangue, também conhecida como trombocitopenia transitória. No entanto, é importante notar que esses eventos adversos são geralmente leves e transitórios, o que significa que eles geralmente se resolvem sem necessidade de intervenção médica adicional. Além disso, a terapia pode ser gerenciada com o regime de prednisolona usado nos ensaios clínicos de 1 mg/kg/dia, ajudando a reduzir o risco de eventos adversos.

Durante a administração de terapia gênica, é possível que os produtos terapêuticos persistam e promovam **efeitos em tecidos fora do alvo**, ou seja, em locais diferentes do desejado para a ação terapêutica. Isso pode acarretar riscos e desafios no desenvolvimento de terapias gênicas eficazes e seguras. A persistência de produtos fora do alvo pode apresentar várias consequências indesejadas. Algumas das principais preocupações incluem, riscos associados à segurança, como reações inflamatórias, toxicidades e outros danos aos tecidos circundantes, além dos riscos pela falta de eficácia terapêutica. Isso ocorre porque a concentração adequada do produto terapêutico não é alcançada no local correto (FDA, 2020), (NAEEM et al., 2020). Em ensaios clínicos, produtos de terapia gênica têm demonstrado eficácia terapêutica insuficiente devido à rápida disseminação para tecidos não alvo e à imunogenicidade dos vetores virais, resultando em baixa retenção no local da ação e indução de respostas inflamatórias adversas em pacientes. Na literatura há inúmeros estudos discutindo os efeitos fora do alvo como um risco da terapia gênica e da edição genômica (HAN; PANG; SOH, 2020), (CANCELLIERI et al., 2022).

Na avaliação do CARVYKTI® os documentos mencionam haver um baixo risco de efeitos adversos fora do alvo. Isso se deve ao fato da especificidade do alvo relacionado ao epítipo do Antígeno de Maturação de Células B (do inglês, *B-cell Maturation Antigen-BCMA*). O BCMA desempenha um papel importante na sobrevivência e proliferação das

células cancerígenas e tem sido um alvo terapêutico promissor para o desenvolvimento de tratamentos direcionados ao mieloma múltiplo. Estudos *in vivo* em camundongos e primatas não-humanos (do inglês, *Non-Human Primates* - NHPs) descritos nos documentos também não revelaram nenhum evento adverso devido a possíveis ligações fora do alvo. Esses dados reforçam que o risco de efeitos adversos fora do alvo em humanos é baixo. No entanto, é importante notar que os estudos em animais foram limitados devido à falta de uma espécie farmacologicamente relevante.

No caso do IMYLGIC®, produto de terapia gênica *in vivo* a base de vetor viral oncolítico, a infecção sintomática pelo produto em tecido não tumoral, ou seja, fora do alvo, em pacientes tratados, é uma preocupação de segurança relevante. Nas descrições analisadas nos documentos notam-se recomendações para que os pacientes sejam orientados a procurar atendimento médico diante de quaisquer sintomas tais como febre, erupção cutânea ou falência de órgãos. O mecanismo para infecção sintomática em tecido não tumoral em pacientes que receberam o tratamento com *talimogene laherparepvec* ainda não é completamente compreendido. No entanto, é possível que o vírus se replique e se espalhe pelo corpo, mesmo após a injeção no tumor. Além disso, a resposta imunológica do paciente pode ser afetada pelo tratamento, o que pode aumentar o risco de infecção em tecidos não tumorais, e segundo os documentos analisados, é um alerta para pacientes imunocomprometidos. Os documentos analisados também descrevem que os reguladores acordaram com o desenvolvedor a realização de estudo prospectivo de coorte após o registro do produto, com pacientes acompanhados para caracterizar o risco de doença herpética entre pacientes, contatos próximos e profissionais de saúde. Outra discussão presente nas avaliações de riscos e benefícios do IMYLGIC® (*talimogene laherparepvec*) refere-se a potencialidade da persistência do produto no sistema nervoso devido ao tropismo do vetor viral baseado no Herpes Simplex 1 (HSV-1). Embora nenhuma evidência da presença de DNA viral no cérebro tenha sido demonstrada em estudos clínicos, os dados de biodistribuição mostraram que o DNA viral também foi detectado na medula espinhal lombar e cervical após a injeção do produto na próstata de cães. Os dados demonstram que embora o vetor tenha sido desenhado removendo partes do genoma do vírus, observa-se que ainda tem alguma afinidade pelo tecido nervoso. Desta forma, o monitoramento de segurança relacionado a efeitos fora do alvo, no caso, sistema nervoso, torna-se importante.

**A utilização de terapia gênica fora da indicação aprovada** (do inglês, *off label*) pode levar ao uso não controlado e não aprovado da tecnologia de terapia gênica (LI et al., 2020). Os produtos de terapia gênica são produtos geneticamente específicos e o seu uso fora dos parâmetros genéticos devidamente definidos não atingirá sua eficácia e poderá promover efeitos significativos, como mutações e reações imunológicas inesperadas (DEAKIN; ALEXANDER; KERRIDGE, 2009). O uso de medicamentos fora da indicação aprovada por uma autoridade sanitária, com pouca ou nenhuma evidência científica, é

denominado uso *off label*, e pode ser classificado em diferentes categorias, como para uma indicação clínica não aprovada, uso em uma população especial não estudada, uma via de administração não aprovada ou uma dose não especificada na bula do produto, dentre outros (SAIYED; ONG; CHEW, 2017). Embora a terapia gênica seja uma área promissora, a lógica aplicada ao uso em medicamentos baseados em moléculas sintéticas ou biológica não se aplica na prática clínica devido à especificidade e riscos inerentes (HANNA et al., 2017). Além disso, a terapia gênica compõe um arsenal terapêutico relativamente novo e em constante evolução, e muitos tratamentos aprovados ainda estão em fase confirmatória sob monitoramento de longo prazo, não apresentando plausibilidade clínica para uso fora das indicações aprovadas. A perspectiva de uso *off-label* leva a especulações sobre a expansão descontrolada da tecnologia em usos inseguros, principalmente considerando as novas técnicas de edição genômica. Acredita-se que as especificidades dos produtos de terapia gênica podem limitar os usos *off-label* para indicações não relacionadas (FDA, 2020). Num exemplo hipotético é possível imaginar uma terapia gênica baseada na edição do genoma para distrofia muscular com potencial interesse *off label* para aqueles com tecido muscular saudável que desejam se tornar ainda mais fortes (LI et al., 2020; FDA, 2022).

A indicação aprovada para LIBMELDY® é para o tratamento de doença monogenética denominada leucodistrofia metacromática, caracterizada por mutações bialélicas no gene arilsulfatase (ARSA) com redução da atividade enzimática em crianças. O produto foi estudado e aprovado para o tratamento da forma infantil tardia ou juvenil precoce da doença, sem manifestações clínicas ou em crianças com a forma juvenil com manifestações clínicas precoces mas que ainda conseguem andar de forma autônoma e antes do início do declínio cognitivo. No entanto, pode haver outros subgrupos de pacientes que não se enquadram nesses critérios, mas ainda poderiam ser tratados com LIBMELDY® fora da indicação aprovada. Para abordar esse risco potencial, foram implementadas medidas rotineiras de minimização de risco, incluindo uma prescrição médica restrita, materiais educacionais para profissionais de saúde e pacientes e atividades de farmacovigilância de rotina.

Esta discussão se aplica a todos os produtos de terapia gênica aprovados. Importante destacar que estes produtos são aprovados sob compromisso de monitoramento ativo de dados de segurança e eficácia de longo prazo, muitas vezes utilizando dados de vida real dos pacientes. Neste sentido, o uso fora do aprovado e das condições clínicas pré-definidas podem acarretar alterações significativas no perfil de segurança e eficácia do produto que precisariam ser devidamente discutidas.

Um dos riscos inerentes aos produtos de terapia gênica são as **limitações dos dados de desenvolvimento não clínico**. Embora os modelos animais tenham limitações em fornecer informações apropriadas aos produtos de terapia gênica, os estudos pré-clínicos desempenham um papel crucial na avaliação da toxicidade, no planejamento de estratégias terapêuticas e nos testes de novas tecnologias de vetores (GOPINATH et al., 2015). Uma limitação em terapia gênica é que os modelos animais podem não refletir com

precisão a doença humana devido a diferenças na genética, fisiologia e progressão da doença (MCGREEVY et al., 2015). Outra limitação é que os modelos animais podem não capturar totalmente a complexidade do sistema imunológico humano (DU et al., 2014). Além disso, o uso de animais pode envolver altos custos e demora, limitando o número de experimentos a serem realizados. Além disso, as preocupações éticas associadas ao uso de animais em pesquisas não podem ser ignoradas (BLAGBROUGH; ZARA, 2008). Apesar das limitações, os modelos animais e *in vitro* continuam sendo ferramentas importantes para testar novas tecnologias, avaliar a segurança e a eficácia e otimizar os protocolos de terapia gênica antes de iniciar os ensaios clínicos em humanos (GOPINATH et al., 2015), (EMA, 2018; PATEL et al., 2020). Cada modelo animal possui suas próprias vantagens e limitações. A validação de resultados em diferentes modelos animais, ou combinado com modelos *in vitro*, é fundamental para prever eficácia e segurança (BLAGBROUGH; ZARA, 2008; DU et al., 2014), desde que seja comparável em fisiologia e anatomia em relação aos humanos, permissível e suscetível à infecção viral (e sua replicação) ou microbiana, a depender do vetor utilizado, tolerante imunologicamente e viável pela via de administração (FDA, 2019).

No estudo do caso do CARVYKTI®, observou-se que os ensaios em animais que avaliaram o perfil de segurança do produto foram limitados devido à falta de uma espécie animal farmacologicamente relevante. Portanto, a segurança de longo prazo frente ao risco de malignidades secundárias exigiram estudos de pós-comercialização para avaliar a ocorrência de mutagênese insercional e suas consequências. Na avaliação dos documentos do STRIMVELLIS®, os estudos de carcinogenicidade não foram conduzidos, visto que nenhum modelo animal adequado estava disponível para avaliar o potencial tumorigênico do produto devido à incapacidade de obter enxerto a longo prazo de células transduzidas em camundongos. Essas limitações de dados pré-clínicos somadas ao pouco quantitativo de pacientes nos estudos clínicos, bem como o curto prazo de acompanhamento dos desfechos de eficácia e segurança exigem acordos entre autoridades sanitárias competentes e o detentor do registro para o compromisso de acompanhamento e confirmação da eficácia e segurança de longo prazo por meio de estudos pós-registro e análises de dados de vida real.

## 8.5 Conclusão

Apesar da amostra estudada neste trabalho ser altamente representativa (82%) do cenário mundial dos produtos de terapia gênica aprovados, com a totalidade dos produtos registrados nos países mais importantes para o setor, Estados Unidos e Europa, esta é uma amostragem pequena, heterogênea e relativamente recente com experiência global

limitada no desenvolvimento, uso clínico e na regulação destas novas tecnologias. Portanto, qualquer interpretação e generalização dos dados deve ser feita com bastante cuidado, prevalecendo o caráter exploratório do conhecimento adquirido até o momento. Neste grupo de produtos de terapia gênica não foram observados aqueles a base de vetores não virais e com tecnologias de edição genômica, que agrega outros riscos peculiares.

Os riscos dos produtos de terapia gênica estão intrinsecamente relacionados à doença de base e às condições clínicas do paciente, sendo fundamental a garantia da qualidade do produto para o alcance de seus benefícios e minimização de riscos inerentes. O mapa de riscos dos produtos de terapia gênica aponta, numa abordagem representativa, para os riscos relacionados à tecnologia, ao processo de fabricação e aos aspectos clínicos centralizados no paciente. Fundamentalmente os riscos se manifestam nos indivíduos expostos e esta lógica deve estar totalmente integrada ao ciclo de vida do produto. Os produtos de terapia gênica são complexos em sua natureza e cada componente individual pode ter um impacto no perfil de risco, interferindo na sua eficácia e qualidade, incluindo o tipo de vetor, as sequências gênicas inseridas, as células-alvo modificadas pelo vetor e o mecanismo utilizado para a modificação celular (*in vivo* ou *ex vivo*), a proteína codificada pelo vetor, a dose e o modo de administração do produto, bem como a capacidade e a qualificação do cuidado ao paciente. Neste estudo foi possível explorar importantes riscos mapeados até o momento, identificando objeções, problemas ou preocupações regulatórias referentes à qualidade do produto, aos elementos não clínicos e clínicos do seu desenvolvimento. Em contexto, as inúmeras incertezas referentes ao produto, seus mecanismos de ação e efeitos benéficos e de riscos a longo prazo caracterizam a realidade das aprovações concedidas até o ano de 2022. Dada ao limitado conhecimento disponível em situações de tecnologias inovadoras, principalmente para doenças raras ou sem alternativas de tratamento disponíveis, muitas vezes o perfil de risco de um produto pode estar insuficientemente caracterizado.

Nestes cenários é relevante utilizar medidas de precaução e modelagens utilizando avaliações de riscos teóricos baseados nas características específicas do produto e do seu modo de ação, e de igual maneira importante aplicar análises comparadas nos achados de riscos de produtos semelhantes. Quando a tomada de decisão diante de alta incerteza não pôde ser sanada observa-se nas medidas adotadas pelas Agências Reguladoras para a aprovação dos produtos a necessidade do fortalecimento e incremento da vigilância e monitoramento pós-registro ampliado, incluindo estratégias de geração de evidências ou monitoramento de reações adversas a longo prazo. Nota-se nos documentos uma abundância de acordos pós-aprovação do produto para a realização de estudos clínicos de Fase 4, estudos observacionais, utilização de informações de pacientes, como dados de mundo real, mantidos pela empresa detentora do registro e/ou programas de apoio e grupos focais ao paciente, dentre outros.

A avaliação de benefício-risco dos produtos de terapia gênica, com subsequente

aprovação para uso populacional, é um exercício complexo e multifatorial. A experiência na avaliação desses produtos tem se acumulado ao longo dos anos e o mapeamento dos riscos consubstanciado e integrado aos esforços de pesquisadores, fabricantes e reguladores parece ser um mecanismo de avanços rumo a otimização dos benefícios. A expectativa é que os produtos de terapia gênica continuem na vanguarda da inovação e se tornem estratégias de tratamento cada vez mais importantes aos pacientes.

## 9 DISCUSSÃO GERAL

Esta Tese teve como objetivo mapear e investigar os riscos sanitários relevantes dos produtos de terapia gênica na perspectiva de melhor compreensão destes produtos inovadores sob a ótica da sua segurança, eficácia, qualidade e implicações no cuidado ao paciente.

A discussão geral versa sobre os principais achados desse estudo conforme o caminho metodológico trilhado e estabelece as perspectivas para o futuro. O caminho da pesquisa norteou-se primordialmente em explorar os conhecimentos produzidos frente as tecnologias inovadoras envolvidas nas terapias gênicas e instrumentalizá-los para promover avanços em novas pesquisas e desenvolvimento, bem como no fomento de modelos regulatórios baseados em evidências.

Na fase de contextualização da Tese foi possível relacionar a evolução regulatória e o desenvolvimento dos medicamentos biológicos clássicos, devido aos avanços da biotecnologia moderna, com as experiências de regulação aplicada aos produtos originados do sangue, células, tecidos e órgãos humanos destinados a procedimentos terapêuticos. A experiência adquirida com esses dois tipos de produtos biológicos convencionais, cada qual com seu modelo regulatório de controle e avaliações de riscos e benefícios, parece ter sido crucial para compreender os novos produtos biotecnológicos em crescente desenvolvimento, denominados produtos de terapias avançadas (PTA)([WHO, 2023](#)). Essa nova classe terapêutica, considerada medicamentos especiais, que envolve a utilização de tecnologias moleculares de manipulação de genes e células, já vem rompendo a vanguarda no tratamento de condições patológicas sem alternativas terapêuticas, como uma nova fronteira da medicina.

Na Fase 1 deste trabalho realizamos estudos exploratórios sobre os elementos de conhecimentos técnicos de base regulatória dos produtos de terapias avançadas, com foco em produtos de terapia gênica. Apontamos que as autoridades sanitárias do Brasil, dos Estados Unidos, do Japão e da União Europeia utilizaram para a regulação de produtos de terapias avançadas a estratégia de acomodação aos requisitos legais aplicados aos medicamentos. Importante destacar que estas autoridades integram os principais grupos de reguladores internacionais, tais como o *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)* e *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)*. Em geral, observa-se que foi ampliado os limites das regulamentações já existentes dos medicamentos, principalmente medicamentos biológicos, implementando novas normativas específicas para as terapias avançadas, na perspectiva de maior proteção da saúde coletiva.

Ao descrever sobre o modelo regulatório adotado no Brasil, consonante com as principais autoridades reguladoras internacionais da Europa, Estados Unidos e Japão,

demonstramos que os PTAs pressupõem exigências regulatórias especializadas. Ao adotar os requisitos padronizados de medicamentos estabeleceu-se a necessidade de avaliação de elementos de desenvolvimento pré-mercado e incremento das ações de monitoramento pós-mercado. A avaliação prévia a liberação para o uso populacional inclui a análise de diversos elementos do desenvolvimento, como dados de estudos pré-clínicos, ensaios clínicos e demonstração de adequação às Boas Práticas de Fabricação (BPF). Esses requisitos induzem aos desenvolvedores na busca pela comprovação de segurança, eficácia e melhoria contínua da qualidade dos produtos de terapia gênica. A experiência brasileira consonante às práticas regulatórias das principais autoridades sanitárias competentes discutidas neste trabalho condiz com expectativa da Organização Mundial de Saúde (OMS). Recentemente a organização disponibilizou documento para consulta a todos os países membros na perspectiva de avançar na convergência global sobre a regulamentação de produtos de terapia avançada. Dentre as diretrizes propostas estão a necessidade de modelos regulatórios que deem conta de uma supervisão adequada que abranja todo o ciclo de vida do produto, desde a fase de pesquisa até a vigilância pós-comercialização (WHO, 2023).

Observa-se a partir das análises deste estudo uma tendência ao deslocamento da necessidade de ações regulatórias da fase de avaliação pré-mercado para o incremento de práticas de monitoramento intensivo pós-mercado. O monitoramento pós-aprovação envolve a coleta e análise de dados de pacientes que receberam o produto de terapia gênica, a fim de detectar eventuais eventos adversos não observados e monitorar os efeitos terapêuticos a longo prazo. Diante da demanda às necessidades médicas não atendidas as Agências Reguladoras estudadas implementaram esforços na direção de caminhos adaptativos para a aprovação destes produtos. Utilizaram-se estratégias baseadas em abordagens de riscos integradas a todo o ciclo de vida do produto, incluindo condições específicas de monitoramento a longo prazo. Somados aos usos terapêuticos em situações clínicas graves sem alternativas e as características tecnológicas e inovadoras dos produtos de terapia gênica, observam-se cenários de incertezas científicas e efeitos desconhecidos de longo prazo, sendo estes fatores os promotores para o desenvolvimento de modelos regulatórios adaptativos e focados no monitoramento pós-comercialização. O foco das estratégias regulatórias baseadas em monitoramento a longo prazo observado neste estudo também foi apontando em discussões científicas e regulatórias como inerentes aos produtos de terapia avançada. Por exemplo, a maioria dos produtos de terapia gênica visa a obtenção de efeitos terapêuticos duradouros ou permanentes, aumentando a probabilidade de riscos tardios (EDITORIAL NATURE MEDICINE, 2021).

Quando o Anvisa publicou a primeira normativa técnica específica para produtos de terapias avançadas, EMA e FDA já demonstravam experiências em normativas e avaliações regulatórias desses produtos a mais de 10 anos. O estudo das estratégias brasileiras adotadas para definir as primeiras normativas aplicadas descreve desafios e complexidades

num cenário de incertezas. Nossa pesquisa descreveu que a experiência brasileira na regulação de produtos do sangue para transfusão, de bancos de tecidos e células destinados aos transplantes proporcionaram à Anvisa oportunidades de desenvolver um arcabouço regulatório para PTA centrado em medicamentos, mas integrado a determinados elementos específicos dos produtos de terapia convencional de sangue, tecidos e células. O modelo integrativo parece ter sido útil ao Brasil na compreensão das necessidades de adaptações aos requisitos regulatórios básicos de medicamentos frente à inovação dos produtos de terapias avançadas. Por um lado era fundamental que os PTAs fossem submetidos a critérios rigorosos de desenvolvimento coordenado por meio da estrutura de construção de conhecimentos em estudos pré-clínicos, ensaios controlados em seres humanos e o alcance da garantia de qualidade farmacêutica. No entanto, a experiência em situações excepcionais e emergenciais típicas envolvidas na regulação dos produtos para transfusão e transplantes foram decisivas na compreensão e definição de normativas específicas com foco nas necessidades não atendidas dos pacientes. Nesta mesma direção o documento, em consulta popular, da OMS propõe modelagem que considere integração entre regulação de sangue, tecidos e células com a regulação de medicamentos para a definição de requisitos para os PTAs (WHO, 2023). Importante discutir que o cenário favorável à aplicação de modelo regulatório inovador na Anvisa, demonstrado neste estudo, deve-se o fato da sua estruturação como Agência Reguladora de referência na região das Américas e participante de grupos internacionais de reguladores, o que proporcionou maior aproximação com modelos regulatórios prevalentes numa estrutura já amadurecida no Brasil.

Apesar das principais Agências Reguladoras internacionais já acumularem anos de experiências normativas o pequeno número de produtos aprovados e a diversidade de tipos e tecnologias envolvidas ainda é um impedimento para procedimentos de padronização internacional. Observa-se que a cada ano, a medida que vão surgindo novos produtos, as autoridades sanitárias competentes estabelecem novas normativas e guias técnicos para promover adaptações nos requisitos regulatórios de avaliações de riscos e benefícios. Neste sentido a padronização de técnicas e requisitos regulatórios ainda é um desafio devido ao constante avanço tecnológico, a heterogeneidade das tecnologias envolvidas e a aplicação clínica em abordagens de medicina personalizada. Assim a tomada de decisão regulatória tem ocorrido caso a caso em meio as questões científicas inovadoras e experiências regulatórias limitadas. Conforme observado nos estudos desta Tese uma comunicação aprimorada com as autoridades reguladoras pode ser benéfico aos desenvolvedores de terapia gênica neste cenário de incertezas e variações de entendimentos sobre as tecnologias e seus riscos. Experiências e discussões sobre a maior interação entre Anvisa, bem como outros reguladores internacionais, durante a pandemia de COVID-19, foi determinante para o rápido desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes (LURIE; SHARFSTEIN; GOODMAN, 2020).

Nos estudos de mapeamento de risco foram possíveis analisar os documentos

regulatórios de aprovação dos produtos de terapia gênica e observamos que a abordagem de avaliação de riscos está presente em todo o ciclo de vida do produto. Notou-se que grande parte dos estudos com produtos de terapia gênica iniciaram seu desenvolvimento em centros acadêmicos ou pequenas empresas relacionadas, sem experiências regulatórias de desenvolvimento de medicamentos destinados ao uso populacional. Este cenário parece ser desafiante principalmente considerando o Brasil, devido aos escassos investimentos em pesquisa e tecnologias, observados nos últimos anos. Os processos de produção empregados em produtos de terapia gênica para ensaios clínicos às vezes não conseguem atender as boas práticas de fabricação imprescindíveis para a produção em larga escala. O desafio seria a introdução de aspectos mínimos de BPF em instituições acadêmicas e pequenas empresas para minimamente padronizarem seus protocolos de produção em grau clínico e facilitar a comparabilidade para certificação de BPF ou a transferência para fabricação em empresa certificada.

Relatamos em nosso estudo riscos observados devido a deficiências no processo de desenvolvimento, por exemplo, falta de dados não-clínicos e clínicos, mudanças substanciais nos processos produtivos sem a devida comparabilidade e a necessidade de aplicação de requisitos regulatórios mínimos desde o início do desenvolvimento. No campo da qualidade destacamos achados referentes aos riscos relacionados ao incipiente nível de validação dos testes de liberação do produto, limitações nos ensaios de potência e controles em processos e a incomparabilidade entre produtos do ensaio clínico e produtos comerciais. Esses achados estão condizentes com as preocupações abordadas pelo PIC/s na recente publicação sobre a produção de produtos de terapia avançada para uso humano e os desafios para demonstrar a consistência dos produtos (PIC/S, 2022).

Analisando a maioria dos produtos de terapia gênica aprovados até o ano de 2022, mostramos que muitas incertezas científicas foram preocupações e motivos de discussões entre reguladores e empresas solicitantes do registro. Essas questões caracterizam desafios no desenvolvimento destes produtos, destacando um número substancial de riscos relacionados ao desenho de estudo clínico. Por exemplo, desenhos de braço único sem grupos comparadores, incertezas dos desfechos clínicos aplicados, controle por meio de dados de história natural da doença e a falta de biomarcadores relevantes demonstrando limitações nas interpretações dos resultados clínicos. Notou-se que a não utilização de ensaios clínicos randomizados convencionais se deu devido à pequena população-alvo e pela expectativa de benefícios significativos em situações de alta necessidade clínica não atendida. Observa-se a necessidade de validação pela comunidade científica e regulatória de métodos para desenhos e análises de ensaios clínicos em populações pequenas como uma medida útil, por exemplo, em estudos em doenças raras. Essa é uma discussão prevalente nos meios científicos e reguladores (MARKS, 2022; DRUMMOND et al., 2023) sobre desenvolvimento de produtos de terapia gênica, com proposições de uso de coortes comparadoras de tratamento ou história natural

da doença. Demonstrar o sucesso do produto por meio de desfechos tradicionais e de qualidade de vida, refletindo o bem-estar dos pacientes como sintomas, funcionalidade e sobrevida é o padrão desejável. No entanto, alcançar efeitos estatisticamente significativos em doenças raras pode ser desafiador devido ao número limitado de participantes nos ensaios clínicos, sendo útil o uso de desfechos substitutos, como biomarcadores com valor prognóstico aceitável. Neste sentido se compreende um achado predominante em todas as análises dos produtos deste estudo a estratégia acordada entre desenvolvedor e regulador para a continuidade de estudos específicos de monitoramento, mesmo após aprovado para uso populacional. A geração de evidências pós-registro como perspectiva de confirmação a longo prazo de questões como validade e efetividade dos desfechos (padrões ou substitutos relevantes para os pacientes), dentre outros monitoramentos foi essencial para a aprovação dos produtos de terapia gênica no mundo.

As questões científicas levantadas durante os procedimentos de avaliação para registro de produtos de terapia gênica na Anvisa, EMA e FDA, detectadas neste estudo, são demonstrativos dos desafios científicos enfrentados pelos desenvolvedores, especialmente em relação à qualidade farmacêutica, aos ensaios clínicos e não clínicos e as estratégias de manejo do paciente. Neste sentido estimular à pesquisa sobre práticas regulatórias pode ampliar o conhecimento da comunidade científica, bem como disseminar boas práticas e acelerar processos de desenvolvimento de produtos terapêuticos destinados à população. Com este estudo fica evidente que os desenvolvedores de produtos de terapia gênica, e podemos estender para outros produtos de terapias avançadas, precisam interagir com as autoridades regulatórias desde as fases iniciais do desenvolvimento. Discussões sobre questões da qualidade do produto, especificações de processos, requisitos de liberação apropriados, desenhos de ensaios clínicos adaptativos para comprovação de segurança e eficácia, desde as fases clínicas iniciais são essenciais para mitigar riscos desnecessários aos pacientes (participante da pesquisa) e, ao mesmo tempo acelerar o processo de aprovação e disponibilidade à população.

O mapeamento de riscos de produtos de terapia gênica foi uma estratégia para sua compreensão geral, explorando a dimensão dos aspectos de segurança ao paciente, desde as características inerentes dos produtos, passando pelos riscos agregados na produção e por fim a interação e danos ao paciente. Apesar de não termos encontrado estudos específicos de mapeamento de riscos de produtos de terapia gênica foi possível observar estudos de casos e revisões de literatura que de alguma forma descreveram riscos observados em determinados produtos. Como era esperado em estudos deste tipo notou-se uma amplitude e diversidade de fatores considerando a dimensão complexa do risco. Intensifica o quadro o ambiente inovador dos produtos de terapia gênica quando o risco permeia o uso terapêutico personalizado dificultando padronizações e enquadramentos fatoriais sistematizados.

Nosso estudo demonstrou a possibilidade de realizar avaliações e enfrentar

questões científicas inovadoras mediadas por experiências anteriores. Essa ideia de se utilizar o conhecimento de outros produtos similares para avaliações de riscos e até mesmo para compreensão de estruturas comuns dos produtos de terapia gênica foi também proposta por Peter Marks (2022) (MARKS, 2022). Por exemplo, em todos os produtos de terapia gênica do tipo CAR-T foram observados padrões de riscos que já direcionam para discussões futuras frente a produtos que se utilizam desta mesma tecnologia, como indução de síndrome de liberação de citocinas, neurotoxicidades, citopenias. Da mesma forma, para produtos a base de células autólogas, pode-se esperar riscos de incompatibilidade imunológica devido às potenciais trocas ou erros nos processos produtivos e falhas na sistemática de rastreabilidade. Outro risco prevalente nos produtos autólogos e de relevância para os produtos CAR-T referem-se as falhas de fabricação e os impactos frente a escassez de material de partida, considerando a situação clínica do paciente. O estudo apontou também riscos inerentes ao produto de terapia gênica e sua tecnologia, por exemplo, produtos a base de vetores virais carregam riscos relacionados ao vírus utilizado no processo de produção do vetor. Demonstrou-se que importantes preocupações relacionam-se aos tipos de vetores virais utilizados, tais como riscos de disseminação viral não esperada frente a sua capacidade de replicação. Este tipo de risco deve ser avaliado em todos os tipos de vetores, com exigências de controles a depender das características da construção do vetor. Já riscos de desenvolvimento de malignidades secundárias e tardias devido à integração no genoma, promovendo anormalidades cromossômicas e formação de tumores, foram principalmente relacionados a vetores de vírus integrativos, como lentivírus e gamaretrovírus, mas também observados esses riscos teóricos em produtos derivados dos vírus adenoassociados. Eventos ligados a imunogenicidade indesejada são riscos importantes mapeados em qualquer produto de origem biológica, e neste caso, acrescentam-se elementos imunogênicos derivados do produto de terapia gênica em si e relacionados aos transgenes de interesse.

É possível discutir de forma geral a partir dos dados deste estudo sobre a necessidade de definir elementos críticos, caso a caso, para a compreensão dos riscos e uma adequada avaliação de benefícios dos produtos de terapia gênica. Dentre as informações básicas, podemos elencar a descrição do método de transferência gênica selecionado, suas características e utilidade na aplicação em uma doença específica. Também é importante para a avaliação do risco compreender a estrutura do vetor viral, destacando as diferenças em relação ao vírus selvagem e a análise das sequências do vetor para determinar sua segurança. Os principais sítios de restrição e a configuração dos componentes (transgene, elementos reguladores para expressão gênica, como promotor ou potencializador, origem de replicação, genes marcadores de seleção de droga, entre outros) e a sequência de bases completas da construção de expressão parece ser fundamental para a avaliação dos riscos. Deve-se descrever as propriedades do vetor viral, como especificidades e alcance de infecção, eficiência da transferência gênica e

competência de replicação. Conforme os riscos mapeados neste estudo torna-se importante compor dados sobre a construção do vetor viral e as células utilizadas na produção, incluindo a justificativa para seu uso, bem como controles de qualidade dos bancos de produção e caracterização dos materiais utilizados na produção do vetor viral. Além disso, é importante caracterizar biologicamente as células ou tecidos-alvo e avaliar as mudanças em suas características causadas pela transferência gênica. No caso da terapia gênica *ex vivo*, observou-se neste mapeamento que foi essencial para mitigação dos riscos a identificação da origem e das características biológicas das células humanas utilizadas como alvo da transferência gênica. Isso inclui informações sobre o tipo das células ou tecidos como materiais de partida, se são células autólogas (do próprio paciente) ou alogênicas (de outro doador), características morfológicas, potencial de crescimento, marcadores bioquímicos, marcadores imunológicos, dentre outros, e estabelecer controles adequados, como testes de identidade, pureza, testes de segurança viral e avaliação de impurezas. No caso de células geneticamente modificadas por vetores virais, foi observado a necessidade de avaliar o potencial residual de infectividade do vetor viral. Outro ponto que merece destaque em todos os produtos estudados é a importância da doença de base e as condições clínicas do paciente como fator de risco para o sucesso da terapia gênica, por exemplo, complicações prévias devido ao tratamento anterior e complicações no próprio procedimento de administração do produto. Desta forma para promover elementos de avaliação de riscos e benefícios é fundamental discutir sobre o método, local e instrumentos utilizados para a administração em pacientes.

Os dados gerados sobre os modelos e desafios regulatórios frente aos inovadores produtos de terapia gênica e o mapa de riscos descrito a partir de estudos de produtos aprovados para uso populacional obtidos nesta Tese deve atrair cada vez mais interesse devido à importância desses dados para uso em gerenciamento de riscos preditivos. O corpo de dados produzidos pode permitir fontes congruentes para instrumentalização da identificação e avaliação de riscos, bem como colaborar nas discussões de evidências de padrões e análises eficazes de lacunas e esforços de novas pesquisas focadas em segurança de produtos de terapias avançadas, principalmente terapia gênica.

## **9.1 Limitações**

Esta Tese apresenta um mapeamento das principais modelagens regulatórias e conceituais vigentes e o mapeamento dos riscos relevantes dos produtos de terapia gênica aprovados para uso populacional. No entanto, algumas limitações devem ser destacadas e discutidas no contexto dos resultados relatados. Os resultados deste estudo referem-se a avaliação regulatória de 18 produtos de terapia gênica, *in vivo* e *ex vivo*, aprovados pelas

autoridades sanitárias do Brasil, Estados Unidos e União Europeia. Apesar de corresponder a 100% dos produtos aprovados até o ano de 2022 nestes países e 82% considerando todos os produtos mundiais, pode-se afirmar que no cenário de inovação envolvido a experiência regulatória com estes produtos ainda é pouca. Ademais os tipos, as características e as aplicações clínicas são diversos, heterogêneos e que avanços científicos e acumulação de experiência estão sendo rapidamente alcançados nessa área. Portanto, qualquer interpretação e generalização dos dados deve ser feita com cautela, prevalecendo o caráter exploratório do conhecimento adquirido. Desde a conclusão desta pesquisa, com dados até dezembro de 2022, mais 3 produtos de terapia gênica foram aprovados no FDA no ano de 2023, a citar: ADSTILADRIN® (*nadofaragene firadenovec*), terapia gênica *in vivo*, baseado em vetor adenoviral, não replicante, indicado para o tratamento de pacientes adultos com câncer de bexiga; ELEVIDYS® (*delandistrogene moxeparvovec*), terapia gênica *in vivo*, baseado em vetor adenoassociado para o tratamento de pacientes pediátricos com distrofia muscular de Duchenne (DMD) e VYJUVEK® (*beremagene geperpavec*), produto de terapia gênica *in vivo*, baseado em vetor do vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) para o tratamento de feridas em pacientes com 6 meses de idade ou mais com epidermólise bolhosa distrófica.

Outra limitação referente aos produtos de terapia gênica analisados neste estudo é que são todos desenvolvidos usando vetores virais, não sendo possível agregar informações relacionadas aos riscos a base de produtos de vetores não virais. Importante salientar não haver produtos com vetores não virais aprovados para uso populacional no Brasil, Estados Unidos e Europa. Além disso, outras tecnologias utilizadas, tais como edição genômica, estão emergindo e novos riscos devem ser observados e acrescidos ao mapeamento proposto.

Desta forma não é possível a generalização dos achados em virtude da inovação e da pouca experiência com estes produtos no mundo e conseqüentemente nesta pesquisa.

Com relação à fonte de dados da análise realizada no mapeamento dos riscos dos produtos registrados, optamos por utilizar apenas os dados publicamente disponíveis nos sites da Anvisa, EMA e FDA. Isso significa que alguns dados confidenciais não foram incluídos no estudo. Destaca-se que os documentos de avaliação pública disponibilizados pelas autoridades sanitárias competentes, apesar da completude necessária aos propósitos da Tese, podem não descrever sucintamente sobre determinada informação ou discussão realizada, além das restrições omitidas quanto as informações refere-se a segredos industriais. Teoricamente, essas limitações não impactaram nas análises devido ao caráter exploratório proposto neste estudo.

Além disso, utilizamos uma categorização dos riscos em 3 grupos (ao produto, à produção e às condições clínicas) para classificar qualitativamente os achados e sistematizar as discussões. Apesar de termos desenvolvido esta classificação conceitual baseada na lógica dos documentos *Quality Risk Management (QRM)Q9(R1)* do ICH (2023) (ICH, 2023)

e *Pharmaceutical Development Q8(R2)* do ICH (2009) (ICH, 2009), não temos informações de classificação semelhante na literatura científica para riscos em produtos de terapia gênica ou outro tipo de produto terapêutico, sendo dependente da interpretação individual dos pesquisadores deste estudo. No entanto, ao comparar nossos resultados com estudos que apresentaram determinados riscos de produtos de terapia gênica e documentos da Agência Europeia de Medicamentos (EMA, 2009) sobre planos de gerenciamento de riscos para monitoramento de produtos de terapia avançada, incluindo terapia gênica, nossos resultados parecem estar bastante alinhados, o que nos leva a concluir que a classificação proposta neste estudo sem a validade comprovada é uma limitação de impacto reduzido. Neste sentido, importante reforçar o caráter exploratório proposto nesta Tese.

Outro ponto que merece destaque é a delimitação do escopo de risco que discutimos neste trabalho. Não foi explorado e discutidos os riscos ambientais envolvidos nos produtos de terapia gênica, como um organismo geneticamente modificado. Outros riscos não abordados neste estudo são os riscos econômicos e sociais, principalmente ligados ao acesso a produtos de alto custo. Também não foram discutidos neste trabalho os riscos e implicações éticas referentes ao uso de material de partida de origem humana para produção de medicamentos e as alterações genéticas do genoma humano. A delimitação de escopo não interferiu nos resultados encontrados em virtude dos objetivos deste estudo.

## 10 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A Tese contribuiu para o desenvolvimento de uma compreensão abrangente sobre os inovadores medicamentos ou produtos de terapia gênica, desde aspectos do seu desenvolvimento até as estratégias de avaliação e monitoramento regulatório.

Embora em desenvolvimento há décadas, nos últimos anos os produtos de terapia gênica tem comprovado sua segurança e eficácia tornando-se uma realidade para uma parcela pequena da população mundial, mas potencialmente crescente. A terapia gênica está na vanguarda da medicina moderna. Operando no nível genômico, essas tecnologias sofisticadas são projetadas para tratar a causa raiz da doença, possibilitada pelos avanços na engenharia genética e nas tecnologias de entrega celular. A cada ano mais ensaios clínicos estão sendo desenvolvidos no mundo e mais produtos aprovados para uso populacional.

Mais da metade das terapias gênicas têm como alvo o câncer, enquanto outras áreas terapêuticas incluem indicações relacionadas a doenças neurológicas, musculares, metabólicas, sanguíneas e de coagulação, respiratórias e imunológicas. Espera-se que o tamanho do mercado global de terapia gênica avance a uma taxa de crescimento anual composta de 30,1% de 2022 a 2027 ([MARKET DATA FORECAST, 2023](#)). A coleta e a modificação *ex vivo* de células é a estratégia principal de terapia gênica aplicada atualmente, representando 73% das terapias gênicas em desenvolvimento ([ASGCT, 2022](#)). Há um esforço considerável dedicado à melhoria dos vetores virais adeno-associados (AAV) e dos sistemas de vetores lentivirais para a entrega *in vivo*, além do desenvolvimento de novos veículos de entrega baseados em lipídios e nanopartículas ([LINNIK et al., 2021](#)). Os altos custos associados à fabricação de produtos de terapia gênica, principalmente de vetores virais, são um dos principais impulsionadores dos preços elevados das terapias gênicas, que variam de mais de 300.000 a 3 milhões de dólares ([FIORENZA et al., 2020](#)), ([HERZOG; VANDENDRIESSCHE; OZELO, 2022](#)). Esses preços também refletem os gastos acumulados com pesquisa e desenvolvimento, a natureza curativa e de longo prazo dos tratamentos, e as pequenas populações de pacientes, no caso de doenças raras, bem como os custos relacionados à administração terapêutica, logística e monitoramento dos pacientes a longo prazo ([FIORENZA et al., 2020](#)).

Mas como promover que pacientes tenham acesso oportunamente a esses produtos com segurança, eficácia e qualidade comprovadas para suas necessidades de saúde e qualidade de vida? Esta questão não é simples e envolve múltiplos fatores e diversos atores científicos, industriais, políticos e sociais no processo de solução. O desenvolvimento e a implementação bem-sucedida da terapia gênica em qualquer país dependem da capacidade funcional e da coordenação efetiva entre três esferas distintas: acadêmica, governamental e comercial. Esses domínios não se aplicam exclusivamente à

terapia gênica; eles também integram à pesquisa pré-clínica, pesquisa clínica, aprovação regulatória e integração no mercado de muitas tecnologias de saúde. No entanto, os equipamentos sofisticados, o pessoal altamente treinado e os caminhos regulatórios complexos necessários para desenvolver e fornecer produtos de terapia gênica exigem um alto grau de capacidade e habilidades únicas em cada uma das esferas acadêmica, governamental e comercial.

Um dos elementos cruciais no complexo sistema de promoção a saúde da população é a regulação sanitária de produtos e serviços destinados à saúde individual e coletiva, sendo essa a principal dimensão de contribuição proposta por essa Tese. Os marcos regulatórios orientam sobre requisitos para o desenvolvimento do produto, a fim de obter autorização ou registro para uso populacional. Como regra geral, as autoridades sanitárias competentes só concedem autorização para novos produtos terapêuticos caso haja comprovação do equilíbrio positivo entre benefícios e riscos ao paciente. Essencialmente os marcos regulatórios estão em vigor para garantir a medicina baseada em evidências ao longo do ciclo de vida do produto terapêutico.

Uma compreensão mapeada dos principais riscos relacionados aos produtos de terapia gênica é fundamental e certamente contribuirá para o desenvolvimento de novos produtos e de mecanismos regulatórios adaptados e baseados em abordagens de riscos. Fazer análises preditivas e de precaução mediadas por experiências com produtos semelhantes anteriormente avaliados parece ser adequada ao propósito da proteção da saúde e da otimização de recursos, tanto do ponto de vista do regulador quanto dos desenvolvedores. Por conseguinte, continuar mapeando novos riscos e promover discussões constantes com a comunidade científica e clínica, com reguladores nacionais e internacionais, formuladores de políticas públicas e primordialmente, com pacientes, é um caminho promissor para o desenvolvimento e acesso a produtos de terapia gênica e, por similaridades, produtos de terapias avançadas.

Neste sentido esta Tese representa um ponto de partida na compreensão básica sobre os produtos de terapia gênica fomentando a discussão e a proposição de estratégias de superação de obstáculos científicos e tecnológicos, subsidiadas por mecanismos regulatórios eficientes com o foco no acesso terapêutico ao paciente. O Brasil avançou no arcabouço regulatório inicial, definido pela Anvisa, que envolvem as regras para o desenvolvimento e aprovação dos produtos de terapia gênica no país. Importante o avanço e o pioneirismo da Anvisa na América Latina em buscar soluções inovadoras para a emergente evolução tecnológica no campo das terapias avançadas. No entanto, as circunstâncias políticas, econômicas e de infraestrutura do país influenciam como as esferas acadêmica, governamental e industrial devem evoluir e interagir para tornar os produtos de terapia gênica uma opção real de tratamento dos pacientes. A falta de acesso equitativo aos cuidados de saúde é um problema persistente em quase todos os países, e será ainda mais exacerbada pela introdução dessas terapias gênicas de alto custo.

A avaliação de riscos e benefícios é o palco central e primordial neste complexo cenário de acesso aos produtos de terapia gênica. Antes de qualquer solução, primeiramente é necessário aprimorar a compreensão dos aspectos não clínicos e clínicos do produto em desenvolvimento, do uso de boas práticas de fabricação para a produção consistente e de qualidade e da demonstração de segurança e eficácia para o uso pretendido.

Aqui se insere a contribuição essencial desta Tese que apresenta elementos de conhecimento dos produtos de terapia gênica, seus riscos e estratégias regulatórias como pressupostos para a tradução dos avanços científicos em tecnologias práticas. Foram apontados elementos que permitem compreender o papel desafiador e necessário dos mecanismos regulatórios adaptados, baseados numa abordagem de avaliações de riscos e benefícios, com efetivo controle pré-mercado conjugados com instrumentos pós-mercado. Acrescenta-se ainda, a comunicação qualificada entre desenvolvedores e autoridades regulatórias e a convergência regulatória global como contribuições significativas no processo de garantir às populações afetadas por condições tratáveis a obtenção dos benefícios potenciais da terapia gênica. Além do resultado inovador no campo científico brasileiro, a discussão de conceitos e princípios de uma nova classe terapêutica em emergência na ciência permite melhor entendimento da sociedade científica sobre as perspectivas terapêuticas, regulatórias e econômicas. A disseminação de uma visão conceitual sobre a terapêutica contribui para gestão da relação de riscos e benefícios e da gestão do conhecimento científico, promovendo base sólida para o desenvolvimento destes produtos inovadores no Brasil e no mundo.

Uma das perspectivas desta Tese é o estímulo a estudos e práticas regulatórias no meio acadêmico para compartilhar preocupações e incertezas no avanço da pesquisa e desenvolvimento. Neste contexto esta Tese centra-se nas ciências regulatórias como campo de conhecimento onde se oportuniza a conciliação dos frutos das ciências e da tecnologia para o alcance de produtos seguros, eficazes e de qualidade à população. O debate da regulação sanitária, apesar de pouco observado na academia, é um campo da ciência fundamental que deve ultrapassar as agências reguladoras e o Estado e fazer partes das discussões científicas e sociais. Promover a disseminação de conhecimento e informações das Agências Reguladoras, principalmente referentes aos produtos inovadores, proporciona ambiente competitivo por questões científicas em aberto. Assim a sociedade se beneficiaria de uma base sólida e real de conhecimentos coletivos sobre os avanços científicos e tecnológicos em andamento, bem como sobre os métodos para o desenvolvimento clínico, processos de fabricação e controle de qualidade dos produtos de terapia gênica.

## REFERÊNCIAS

- ABD-AZIZ, N.; POH, C. L. Development of oncolytic viruses for cancer therapy. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 237, p. 98 – 123, 4 2021.
- ABOU-EL-ENEIN, M. et al. Scalable Manufacturing of CAR T cells for Cancer Immunotherapy. **Blood cancer discovery**, v. 2, p. 408 – 422, 9 2021.
- ABOU-EL-ENEIN, M.; GRAINGER, D. W.; KILI, S. Registry Contributions to Strengthen Cell and Gene Therapeutic Evidence. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 26, p. 1172 – 1176, 4 2018.
- ABOU-EL-ENEIN, M.; HEY, S. P. Cell and Gene Therapy Trials: Are We Facing an 'Evidence Crisis'? **EClinicalMedicine**, v. 7, p. 13 – 14, 6 2019.
- ACHEAMPONG, E. et al. Replication of lentiviruses. **Frontiers in bioscience : a journal and virtual library**, v. 8, p. s156 – 74, 11 2002.
- ADAMI, G. et al. Balancing benefits and risks in the era of biologics. **Therapeutic advances in musculoskeletal disease**, v. 11, p. 1759720X19883973 –, 11 2019.
- ADLI, M. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. **Nature communications**, v. 9, p. 1911 –, 5 2018.
- AGARWAL, R.; SALTZ, L. B. Understanding the Right to Try Act. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 26, p. 340 – 343, 11 2019.
- AKKER, E. van den et al. Environmental risk assessment of replication competent viral vectors applied in clinical trials: potential effects of inserted sequences. **Current gene therapy**, v. 13, p. 395 – 412, 1 2014.
- AKRAM, S.; KHATTAK, S. A. K.; KHAN, M. A. Efficacy and Safety of Hydroxyurea as Adjuvant Therapy in Pediatric Patients of Transfusion-Dependent Beta-Thalassemia Major at Zhob, Balochistan. **Cureus**, v. 14, p. e26691 –, 8 2022.
- ALBA, R.; BOSCH, A.; CHILLON, M. Gutless adenovirus: last-generation adenovirus for gene therapy. **Gene therapy**, v. 12 Suppl 1, p. S18 – 27, 10 2005.
- ALQAWLAQ, S. et al. Challenges in neuroprotective nanomedicine development: progress towards noninvasive gene therapy of glaucoma. **Nanomedicine (London, England)**, v. 7, p. 1067 – 83, 8 2012.
- ANCANS, J. Cell therapy medicinal product regulatory framework in Europe and its application for MSC-based therapy development. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 253 –, 8 2012.
- ANDRIEU-SOLER, C. et al. Ocular gene therapy: a review of nonviral strategies. **Molecular vision**, v. 12, p. 1334 – 47, 11 2006.
- ANSAH, E. O. Ethical Challenges and Controversies in the Practice and Advancement of Gene Therapy. **Advances in Cell and Gene Therapy**, v. 2022, p. 1 – 5, Aug 2022. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/acgt/2022/1015996/>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Anvisa aprova registro de produto de terapia avançada para câncer.** 2022a. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-registro-de-produto-de-terapia-avancada-para-cancer#:~:text=A%20Anvisa%20aprovou%20o%20registro,empresa%20Janssen%2DCilag%20Farmac%C3%AAutica%20Ltda>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Anvisa concede registro ao medicamento Spinraza.** 2022b. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2017/anvisa-concede-registro-ao-medicamento-spinraza>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Anvisa ganha câmara técnica para terapias avançadas.** 2016. Online. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=2976580&\\_101\\_type=content&\\_101\\_groupId=219201&\\_101\\_urlTitle=anvisa-ganha-camara-tecnica-para-terapias-avancadas&inheritRedirect=true](http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2976580&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=anvisa-ganha-camara-tecnica-para-terapias-avancadas&inheritRedirect=true). Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. **Conceitos e definições.** 2020. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentees/medicamentos/conceitos-e-definicoes#:~:text=Medicamento%20biol%C3%B3gico%3A%20os%20medicamentos%20biol%C3%B3gicos,ou%20altera%C3%A7%C3%A3o%20dos%20genes%20que>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. **Ensaios clínicos autorizados.** 2023a. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/ensaios-autorizados>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Estabelecimentos de sangue, tecidos e células.** 2023b. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/estabelecimentos-sangue-tecidos-celulas>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. Farmacovigilância. **Fiscalização e monitoramento,** 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/fiscalizacao-e-monitoramento/farmacovigilancia>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. **Onpattro (patisirana sódica): novo registro.** 2020. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/novos-medicamentos-e-indicacoes/onpattro-patisirana-sodica-novo-registro>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Produtos Registrados.** 2023. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/produtos-registrados>. Acesso em: 22 de maio de 2023.

ANVISA. RDC 505, de 27 de maio de 2021. **Dispõe sobre o registro de produto de terapia avançada e dá outras providências,** 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-505-de-27-de-maio-de-2021-323002775>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC 508, 27 de maio de 2021. **Dispõe sobre as Boas Práticas em Células Humanas para Uso Terapêutico e pesquisa clínica, e dá outras providências,** 2021c. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-508-de-27-de-maio-de-2021-323013606>. Acesso em: 10/09/2021.

ANVISA. RDC nº 214, de 07 de fevereiro de 2018. **Dispõe sobre as Boas Práticas em Células Humanas para Uso Terapêutico e pesquisa clínica, e dá outras providências**, 2018. Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0214\\_07\\_02\\_2018.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0214_07_02_2018.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 34, de 11 de junho de 2014. **Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue**, 2014. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2867975/%282%29RDC\\_34\\_2014\\_COMP.pdf/140dc780-ac2e-4829-8e2a-6fbc680677dc](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2867975/%282%29RDC_34_2014_COMP.pdf/140dc780-ac2e-4829-8e2a-6fbc680677dc). Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. RDC nº 36, de 25 de julho de 2013. **Institui ações para a segurança do paciente em serviços de saúde e dá outras providências**, 2013a. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/29068>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 38, de 12 de agosto de 2013. **Aprova o regulamento para os programas de acesso expandido, uso compassivo e fornecimento de medicamento pós-estudo**, 2013b. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3795687/%281%29RDC\\_38\\_2013\\_COMP.pdf/40d3904e-5e15-4ca4-a8bc-a9e507a97ada](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3795687/%281%29RDC_38_2013_COMP.pdf/40d3904e-5e15-4ca4-a8bc-a9e507a97ada). Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 413, de 20 de agosto de 2020. **Dispõe sobre alterações pós-registro e cancelamento de registro de produtos biológicos**, 2020. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/4247824/RDC\\_413\\_2020\\_.pdf/8f16d69f-a8ba-43d0-9a99-732da1583bac](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/4247824/RDC_413_2020_.pdf/8f16d69f-a8ba-43d0-9a99-732da1583bac). Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 506, de 27 de maio de 2021. **Dispõe sobre as regras para a realização de ensaios clínicos com produto de terapia avançada investigacional no Brasil, e dá outras providências**, 2021b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-506-de-27-de-maio-de-2021-323008725>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 508, de 27 de maio de 2021. **Dispõe sobre as Boas Práticas em Células Humanas para Uso Terapêutico e pesquisa clínica, e dá outras providências**, 2021. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6278627/%282%29RDC\\_508\\_2021\\_COMP.pdf/f7887768-24dc-4c61-acc4-464ef7a04f7d](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6278627/%282%29RDC_508_2021_COMP.pdf/f7887768-24dc-4c61-acc4-464ef7a04f7d). Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. RDC nº 546, de 30 de agosto de 2021. **Dispõe sobre os requisitos essenciais de segurança e eficácia aplicáveis aos produtos para saúde**, 2021d. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/460095>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 63, de 25 de novembro de 2011. **Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Saúde**, 2011. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/28791>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ANVISA. RDC nº 707, de 01 de julho de 2022. **Dispõe sobre as Boas Práticas em Tecidos humanos para uso terapêutico**, 2022. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC\\_707\\_2022\\_.pdf/cb3640e6-bd0f-46d3-a8be-64484c3e6c37](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_707_2022_.pdf/cb3640e6-bd0f-46d3-a8be-64484c3e6c37). Acesso em: 23 de maio de 2023.

ANVISA. **Rede Nacional de Especialistas em Terapias Avançadas (RENETA)**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.renetas.org.br/>.

- ANVISA. **Seminário Nacional sobre Regulação em Terapias Celulares**. 2012. 5 – 62 p. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/sangue-tecidos-celulas-e-orgaos/outras-publicacoes/outras-relatorios/relatorio-seminario-nacional-regulacao-em-terapias-celulares-2012.pdf>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- ANZALONE, A. V. et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. **Nature**, v. 576, p. 149 – 157, 10 2019.
- ARABI, F.; MANSOURI, V.; AHMADBEIGI, N. Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 153, p. 113324 –, 7 2022.
- ARM. **Available Products**. Alliance for Regenerative Medicine. 2023a. Online. Disponível em: <https://alliancerm.org/available-products/>. Acesso em: 22 de maio de 2023.
- ARM. **Cell and Gene Therapy Sector Data. Q4 2022 Data. Clinical Trials**. 2023b. Online. Disponível em: <https://alliancerm.org/data/>. Acesso em: 22 de maio de 2023.
- ARTUSI, S. et al. Herpes Simplex Virus Vectors for Gene Transfer to the Central Nervous System. **Diseases (Basel, Switzerland)**, v. 6, 8 2018.
- ASGCT. **Gene, Cell, & RNA Therapy Landscape: Q3 2022 Quarterly Data Report 2022**. American Society of Gene and Cell Therapy. [S.l.], 2022. Disponível em: <https://asgct.org/global/documents/asgct-citeline-q3-2022-report.aspx>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- AU, P. et al. FDA oversight of cell therapy clinical trials. **Science translational medicine**, v. 4, p. 149fs31 –, 8 2012.
- AVEN, T. An Emerging New Risk Analysis Science: Foundations and Implications. **Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis**, v. 38, p. 876 – 888, 9 2017.
- AYYUB, B. M.; MCGILL, W. L.; KAMINSKIY, M. Critical asset and portfolio risk analysis: an all-hazards framework. **Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis**, v. 27, p. 789 – 801, 10 2007.
- BABAN, C. K. et al. Bacteria as vectors for gene therapy of cancer. **Bioengineered bugs**, v. 1, p. 385 – 94, 4 2011.
- BAO, W. et al. Strengthening the interpretability of clinical trial results by assessing the effect of informative censoring on the primary estimand in PRECISION. **Clinical trials (London, England)**, v. 17, p. 535 – 544, 7 2020.
- BARMAN, H. K. et al. Gene editing tools: state-of-the-art and the road ahead for the model and non-model fishes. **Transgenic research**, v. 26, p. 577 – 589, 7 2017.
- BARONE, P. W. et al. Viral contamination in biologic manufacture and implications for emerging therapies. **Nature biotechnology**, v. 38, p. 563 – 572, 4 2020.
- BECK, U. **Sociedade do Risco: Rumo a uma outra modernidade**. 2a. ed. São Paulo: Ed.34, 2011. 384 p. ISBN 978-85-7326-450-0.
- BECKER, H. S. **Métodos de Pesquisa em Ciências Sociais**. São Paulo: EDITORA HUCITEC, 1993. ISBN 85.271.0222.6.

- BELOV, A. et al. Opportunities and challenges for applying model-informed drug development approaches to gene therapies. **CPT: pharmacometrics & systems pharmacology**, v. 10, p. 286 – 290, 2 2021.
- BENNEKOU, S. H. Moving towards a holistic approach for human health risk assessment – Is the current approach fit for purpose? **EFSA Journal**, S1, n. 17, mai 2019. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.e170711>. Acesso em: 26 de maio de 2023.
- BERSENEV, A. CAR-T cell manufacturing: time to put it in gear. **Transfusion**, v. 57, p. 1104 – 1106, 4 2017.
- BIEBACK, K. et al. Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 27, p. 2331 – 41, 6 2009.
- BILSLAND, A. E.; SPILIOPOULOU, P.; EVANS, T. R. J. Virotherapy: cancer gene therapy at last? **F1000Research**, v. 5, 9 2016.
- BJURSTRÖM, C. F. et al. Reactivating Fetal Hemoglobin Expression in Human Adult Erythroblasts Through BCL11A Knockdown Using Targeted Endonucleases. **Molecular therapy. Nucleic acids**, v. 5, p. e351 –, 1 2017.
- BLAGBROUGH, I. S.; ZARA, C. Animal models for target diseases in gene therapy—using DNA and siRNA delivery strategies. **Pharmaceutical research**, v. 26, p. 1 – 18, 10 2008.
- BOLT, M. W. et al. Development challenges associated with rAAV-based gene therapies. **The Journal of toxicological sciences**, v. 46, p. 57 – 68, 2 2021.
- BONDY-DENOMY, J. et al. Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins. **Nature**, v. 526, p. 136 – 9, 9 2015.
- BONILLO, M.; PFROMM, J.; FISCHER, M. D. Challenges to Gene Editing Approaches in the Retina. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, v. 239, p. 275 – 283, 3 2022.
- BOUARD, D.; ALAZARD-DANY, D.; COSSET, F. Viral vectors: from virology to transgene expression. **British journal of pharmacology**, v. 157, p. 153 – 65, 9 2008.
- BOUAZIZ, M. et al. Controlling for human population stratification in rare variant association studies. **Scientific reports**, v. 11, p. 19015 –, 9 2021.
- BRADLEY, S. H. et al. Reducing bias and improving transparency in medical research: a critical overview of the problems, progress and suggested next steps. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 113, p. 433 – 443, 11 2020.
- BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. **Dispõe sobre a utilização das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados, criando a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, e dá outras providências**, 2005. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm). Acesso em: 23 de maio de 2023.

BRASIL. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. **Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências**, 1973. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/15991.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/15991.htm). Acesso em: 05 de junho de 2023.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. **Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências**, 1976. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/16360.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/16360.htm). Acesso em: 05 de junho de 2023.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. **Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências**, 1990. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/18080.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/18080.htm). Acesso em: 28 de maio de 2023.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. **Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências**, 1999. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/19782.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19782.htm). Acesso em: 05 de junho de 2023.

BREZINGER-DAYAN, K. et al. Impact of cryopreservation on CAR T production and clinical response. **Frontiers in oncology**, v. 12, p. 1024362 –, 10 2022.

BRUDNO, J. N.; KOCHENDERFER, J. N. Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. **Blood reviews**, v. 34, p. 45 – 55, 12 2018.

BULCHA, J. T. et al. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 6, n. 53, February 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00487-6>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

BURNOUF, T. Blood products: unmet needs for essential medicines. **The Lancet. Haematology**, v. 6, p. e598 – e599, 10 2019.

BUSHMAN, F. D. Retroviral Insertional Mutagenesis in Humans: Evidence for Four Genetic Mechanisms Promoting Expansion of Cell Clones. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 28, p. 352 – 356, 1 2020.

BUTLER-KISBER, L.; POLDMA, T. The power of visual approaches in qualitative inquiry: The use of collage making and concept mapping in experiential research. **Journal of Research Practice**, v. 6, January 2011. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Power-of-Visual-Approaches-in-Qualitative-The-Butler-Kisber-Poldma/89e09d5f86a047e6315174e3b3e0b02a0281244e>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

CANCELLIERI, S. et al. Human genetic diversity alters off-target outcomes of therapeutic gene editing. **Nature genetics**, v. 55, p. 34 – 43, 12 2022.

CAREW, J. S. et al. Reolysin is a novel reovirus-based agent that induces endoplasmic reticular stress-mediated apoptosis in pancreatic cancer. **Cell death & disease**, v. 4, p. e728 –, 7 2013.

- CARPENTER, J. F. et al. Overlooking subvisible particles in therapeutic protein products: gaps that may compromise product quality. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 98, p. 1201 – 5, 8 2008.
- CARVALHO, M.; SEPODES, B.; MARTINS, A. P. Patient access to gene therapy medicinal products: a comprehensive review. **BMJ Innovations**, v. 7, p. 123 – 134, 2021. Disponível em: <https://innovations.bmj.com/content/7/1/123>. Acesso em: 04 de junho de 2023.
- CDC. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)**: 6th Edition. [S.l.], 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>. Acesso em: 10 de junho de 2023.
- CDC. **Centers Disease Control Prevention. Data Collection Methods for Evaluation: Document Review**. 2018. Online. Disponível em: <https://www.cdc.gov/healthyyouth/evaluation/pdf/brief18.pdf>. Acesso em: 23 de maio de 2023.
- CELEC, P.; GARDLIK, R. Gene therapy using bacterial vectors. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 22, p. 81 – 95, 11 2016.
- CHABANNON, C. et al. Hematopoietic stem cell transplantation in its 60s: A platform for cellular therapies. **Science translational medicine**, v. 10, 4 2018.
- CHAND, D. et al. Hepatotoxicity following administration of onasemnogene abeparvovec (AVXS-101) for the treatment of spinal muscular atrophy. **Journal of hepatology**, v. 74, p. 560 – 566, 11 2020.
- CHANG, T.; YEE, J. General principles of retrovirus vector design. **Methods in enzymology**, v. 507, p. 1 – 14, 2 2012.
- CHERY, J. RNA therapeutics: RNAi and antisense mechanisms and clinical applications. **Postdoc journal : a journal of postdoctoral research and postdoctoral affairs**, v. 4, p. 35 – 50, 8 2016.
- CHEW, W. L. et al. A multifunctional AAV-CRISPR-Cas9 and its host response. **Nature methods**, v. 13, p. 868 – 74, 9 2016.
- CHULPANOVA, D. S. et al. Recombinant Viruses for Cancer Therapy. **Biomedicines**, v. 6, 9 2018.
- COBO, F. et al. Microbiological control in stem cell banks: approaches to standardisation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 68, p. 456 – 66, 7 2005.
- COCKROFT, A.; WILSON, A. Comparability: what we can learn from the review of advanced therapy medicinal products. **Regenerative medicine**, v. 16, p. 655 – 667, 7 2021.
- CODINACH, M. et al. Design and validation of a consistent and reproducible manufacture process for the production of clinical-grade bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells. **Cytotherapy**, v. 18, p. 1197 – 208, 7 2016.
- COHEN, A. D. et al. Incidence and management of CAR-T neurotoxicity in patients with multiple myeloma treated with ciltacabtagene autoleucel in CARTITUDE studies. **Blood cancer journal**, v. 12, p. 32 –, 2 2022.

COHEN, I. G.; ADASHI, E. Y. SCIENCE AND REGULATION. The FDA is prohibited from going germline. **Science (New York, N.Y.)**, v. 353, p. 545 – 6, 8 2016.

COLLER, B. S. Ethics of Human Genome Editing. **Annual review of medicine**, v. 70, p. 289 – 305, 1 2019.

CONITEC. Recomendações da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde. **Avaliação de Tecnologias em Saúde**, 01 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/assuntos/avaliacao-de-tecnologias-em-saude/recomendacoes-da-conitec>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

CORTELLI, S. C. et al. Clinical trials sponsored by industry and other private organizations. **Brazilian oral research**, v. 34 Suppl 2, p. e077 –, 8 2020.

COSENZA, M.; SACCHI, S.; POZZI, S. Cytokine Release Syndrome Associated with T-Cell-Based Therapies for Hematological Malignancies: Pathophysiology, Clinical Presentation, and Treatment. **International journal of molecular sciences**, v. 22, 7 2021.

COSGROVE, C. et al. Transgenerational transfer of gene-modified T cells. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 7, n. 186, 2019. Disponível em: <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-019-0657-2#citeas>. Acesso em: 06 de junho de 2023.

COUTELLE, C.; ASHCROFT, R. Risks, benefits and ethical, legal, and societal considerations for translation of prenatal gene therapy to human application. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 891, p. 371 – 87, 6 2012.

CROCE, E. et al. Safety of live vaccinations on immunosuppressive therapy in patients with immune-mediated inflammatory diseases, solid organ transplantation or after bone-marrow transplantation - A systematic review of randomized trials, observational studies and case reports. **Vaccine**, v. 35, p. 1216 – 1226, 2 2017.

CRUNKHORN, S. Reducing AAV vector associated neurotoxicity. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 20, p. 20 –, 12 2020.

CRYSTAL, R. G. Adenovirus: the first effective in vivo gene delivery vector. **Human gene therapy**, v. 25, p. 3 – 11, 1 2014.

CUI, Z. et al. The comparison of ZFNs, TALENs, and SpCas9 by GUIDE-seq in HPV-targeted gene therapy. **Molecular therapy. Nucleic acids**, v. 26, p. 1466 – 1478, 12 2021.

CUMMINGS, C. L.; KUZMA, J. Societal Risk Evaluation Scheme (SRES): Scenario-Based Multi-Criteria Evaluation of Synthetic Biology Applications. **PloS one**, v. 12, p. e0168564 –, 1 2017.

CUNNINGHAM, M. A. et al. Proliferative vitreoretinopathy may be a risk factor in combined macular hole retinal detachment cases. **Retina (Philadelphia, Pa.)**, v. 33, p. 579 – 85, 12 2012.

CYRANOSKI, D. CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. **Nature**, v. 539, p. 479 –, 11 2016.

- DALBA, C. et al. Replication-competent vectors and empty virus-like particles: new retroviral vector designs for cancer gene therapy or vaccines. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 15, p. 457 – 66, 1 2007.
- DALWADI, D. A. et al. AAV integration in human hepatocytes. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 29, p. 2898 – 2909, 8 2021.
- DAS, T. K. Protein particulate detection issues in biotherapeutics development—current status. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, p. 732 – 46, 5 2012.
- DASGUPTA, A. et al. Regulatory Framework for Academic Investigator-Sponsored Investigational New Drug Development of Cell and Gene Therapies in the USA. **Current stem cell reports**, v. 7, p. 129 – 139, 10 2021.
- DASGUPTA, I.; FLOTTE, T. R.; KEELER, A. M. CRISPR/Cas-Dependent and Nuclease-Free . **Human gene therapy**, v. 32, p. 275 – 293, 3 2021.
- DASHNAU, J. L. et al. A risk-based approach for cell line development, manufacturing and characterization of genetically engineered, induced pluripotent stem cell-derived allogeneic cell therapies. **Cytotherapy**, v. 25, p. 1 – 13, 9 2022.
- DAVID, R. M.; DOHERTY, A. T. Viral Vectors: The Road to Reducing Genotoxicity. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 155, p. 315 – 325, 11 2016.
- DEAKIN, C. T.; ALEXANDER, I. E.; KERRIDGE, I. Accepting risk in clinical research: is the gene therapy field becoming too risk-averse? **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 17, p. 1842 – 8, 9 2009.
- DEIDDA, R. et al. Risk-based approach for method development in pharmaceutical quality control context: A critical review. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 161, p. 110 – 121, 8 2018.
- DENG, L. et al. Oncolytic therapy with vaccinia virus carrying IL-24 for hepatocellular carcinoma. **Virology journal**, v. 19, p. 44 –, 3 2022.
- DEPIL, S. et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 19, p. 185 – 199, 1 2020.
- DETELA, G.; LODGE, A. EU Regulatory Pathways for ATMPs: Standard, Accelerated and Adaptive Pathways to Marketing Authorisation. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 13, p. 205 – 232, 3 2019.
- DILLIARD, S. A.; SIEGWART, D. J. Disrupting off-target Cas9 activity in the liver. **Nature biomedical engineering**, v. 6, p. 106 – 107, 2 2022.
- DISMUKE, D. J.; TENENBAUM, L.; SAMULSKI, R. J. Biosafety of recombinant adeno-associated virus vectors. **Current gene therapy**, v. 13, p. 434 – 52, 11 2013.
- DJURISIC, S. et al. Barriers to the conduct of randomised clinical trials within all disease areas. **Trials**, v. 18, p. 360 –, 8 2017.
- DOUDNA, J. A. The promise and challenge of therapeutic genome editing. **Nature**, v. 578, p. 229 – 236, 2 2020.

DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science (New York, N.Y.)**, v. 346, p. 1258096 –, 11 2014.

DOWNING, N. S. et al. Clinical trial evidence supporting FDA approval of novel therapeutic agents, 2005-2012. **JAMA**, v. 311, p. 368 – 77, 1 2014.

DRAGO, D. et al. Global regulatory progress in delivering on the promise of gene therapies for unmet medical needs. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 21, p. 524 – 529, 5 2021.

DROUIN, L. M. et al. Cryo-electron Microscopy Reconstruction and Stability Studies of the Wild Type and the R432A Variant of Adeno-associated Virus Type 2 Reveal that Capsid Structural Stability Is a Major Factor in Genome Packaging. **Journal of virology**, v. 90, p. 8542 – 51, 7 2016.

DRUMMOND, M. et al. How are health technology assessment bodies responding to the assessment challenges posed by cell and gene therapy? **BMC health services research**, v. 23, p. 484 –, 5 2023.

DU, L. et al. Improved animal models for testing gene therapy for atherosclerosis. **Human gene therapy methods**, v. 25, p. 106 – 14, 2 2014.

EDITORIAL NATURE MEDICINE. Gene therapy needs a long-term approach. **Nature Medicine**, v. 27, p. 563 –, 4 2021.

EMA. **Comparability considerations for Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP): Questions and answers**. [S.l.], 2019. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-comparability-considerations-advanced-therapy-medicinal-products-atmp\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-comparability-considerations-advanced-therapy-medicinal-products-atmp_en.pdf). Acesso em: 10 de junho de 2023.

EMA. **Compassionate use**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compassionate-use>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMA/CAT/600280/2010 rev.1 Committee for Advanced Therapies (CAT). **Reflection paper on classification of advanced therapy medicinal products**, 2015. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-classification-advanced-therapy-medicinal-products\\_en-0.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-classification-advanced-therapy-medicinal-products_en-0.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMA/CAT/80183/2014 Committee for Advanced Therapies (CAT). **Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products**, 2018. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/quality-preclinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products-scientific-guideline>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

EMA. EMA/CAT/94295/2020. **EMA warns against using unproven cell-based therapies**, 2020. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/ema-warns-against-using-unproven-cell-based-therapies\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/ema-warns-against-using-unproven-cell-based-therapies_en.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMA/CAT/CPWP/686637/2011. **Guideline on the risk-based approach according to annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to Advanced therapy medicinal products**, 2013. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-risk-based-approach-according-annex-i-part-iv-directive-2001/83/ec-applied-advanced-therapy-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-risk-based-approach-according-annex-i-part-iv-directive-2001/83/ec-applied-advanced-therapy-medicinal-products_en.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMA/CAT/GTWP/671639/2008 Rev. 1. Committee for Advanced Therapies (CAT). **Quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells - Scientific guideline**, 2021. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-medicinal-products-containing-genetically-modified-cells>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMA/CHMP/QWP/735423/2022. **Concept Paper on the Establishment of a Guideline on the Development and Manufacture of Synthetic Oligonucleotides**, 2022. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/concept-paper-establishment-guideline-development-manufacture-synthetic-oligonucleotides\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/concept-paper-establishment-guideline-development-manufacture-synthetic-oligonucleotides_en.pdf). Acesso em: 22 de maio de 2023.

EMA. EMEA/149995/2008. **Guideline on safety and efficacy follow-up - risk management of advanced therapy medicinal products**, 2009. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/guideline-safety-efficacy-follow-risk-management-advanced-therapy-medicinal-products-scientific>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. EMEA/CHMP/GTWP/125459/2006. **Non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products - Scientific guideline**, 2008. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/non-clinical-studies-required-first-clinical-use-gene-therapy-medicinal-products-scientific>. Acesso em: 06 de junho de 2023.

EMA. EMEA/CHMP/SWP/28367/07 Rev. 1. **Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human and early clinical trials with investigational medicinal products**, 2018. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/strategies-identify-mitigate-risks-first-human-early-clinical-trials-investigational-medicinal>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

EMA. Guideline on Scientific Requirements for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products. **EMEA/CHMP/GTWP/125491/2006**, 2008. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/scientific-requirements-environmental-risk-assessment-gene-therapy-medicinal-products-scientific>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

EMA. **Human Regulatory. Scientific recommendations on classification of advanced therapy medicinal products**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation/advanced-therapies/advanced-therapy-classification/scientific-recommendations-classification-advanced-therapy-medicinal-products>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

EMA. Kymriah. **EPAR - Public Assessment Report.2.2.2. Active Substance EMA/485563/2018**, 2018. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah>. Acesso em: 23 de maio de 2013.

EMA. Oncolytic Viruses. **EMEA/CHMP/ICH/607698/2008 ICH Considerations**, 2009.

EMA. **Onpattro**. 2022. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/onpattro>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

EMA. **Questions and answers on benzyl alcohol used as an excipient in medicinal products for human use**. [S.l.], 2017. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/benzyl-alcohol>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

EMA. **Regulatory and scientific virtual conference on RNA-based medicines**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/events/regulatory-scientific-virtual-conference-rna-based-medicines>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

EMA. **Spinraza**. 2018. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spinraza>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

EMA. **Upstaza**. 2023a. Online. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/upstaza>. Acesso em: 06 de junho de 2023.

EMA. **Upstaza: eladocagene exuparvovec**. [S.l.], 2023b. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/upstaza-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/upstaza-epar-public-assessment-report_en.pdf). Acesso em: 06 de junho de 2023.

EMAMALIPOUR, M. et al. Horizontal Gene Transfer: From Evolutionary Flexibility to Disease Progression. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 8, p. 229 –, 6 2020.

ERTL, H. C. J. Immunogenicity and toxicity of AAV gene therapy. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 975803 –, 8 2022.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA (EP). **Gene transfer medicinal products for human use: EP 6.6, 5.14**. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2008. Disponível em: [https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/EP6/EP6.6\\_01\\_\\_34.pdf](https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/EP6/EP6.6_01__34.pdf). Acesso em: 23 de maio de 2023.

EUROPEAN UNION. Advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. **Regulation (EC) No 1394/2007**, 2007. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32007R1394>. Acesso em: 07 de junho de 2023.

EUROPEAN UNION. **Carcinogenicity. European Commission. EU Science Hub**. 2023. Online. Disponível em: [https://joint-research-centre.ec.europa.eu/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam/alternative-methods-toxicity-testing/validated-test-methods-health-effects/carcinogenicity\\_en](https://joint-research-centre.ec.europa.eu/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam/alternative-methods-toxicity-testing/validated-test-methods-health-effects/carcinogenicity_en). Acesso em: 10 de junho de 2023.

EUROPEAN UNION. Clinical trials on medicinal products for human use, and repealing Directive 2001/20/EC. **Regulation No 536/2014**, 2014. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2014/536/2022-12-05>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

EUROPEAN UNION. Code relating to medicinal products for human use. **Directive 2001/83/EC**, November 2001. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2001L0083:20121116:EN:PDF>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

EUROPEAN UNION. Setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC. **Directive 2002/98/EC**, 2003. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32002L0098>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

EUROPEAN UNION. Setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. **Directive 2004/23/EC**, 2004. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32004L0023>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. Adaptive Designs for Clinical Trials of Drugs and Biologics. **Guidance for Industry**, 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/78495/download>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

FDA. Application of Current Statutory Authorities to Human Somatic Cell Therapy Products and 3Gene Therapy Products. **Federal Register I Vol. 58, No. 197 II**, October 1993. Disponível em: <https://www.fda.gov/de/media-base/76647/download>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

FDA. **Blood and Blood Products**. 2023b. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/blood-blood-products>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs). **Guidance for Industry**, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/113760/download>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

FDA. Clinical Pharmacology Considerations for the Development of Oligonucleotide Therapeutics. **Draft Guidance for Industry**, 2022a. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/159414/download>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Products. **Draft Guidance for Industry**, 2022b. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-development-chimeric-antigen-receptor-car-t-cell-products>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products. **Guidance for Industry**, 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/design-and-analysis-shedding-studies-virus-or-bacteria-based-gene-therapy-and-oncolytic-products>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. **FDA Warns About Stem Cell Therapies: Some patients may be vulnerable to stem cell treatments that are illegal and potentially harmful**. 2019. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/fda-warns-about-stem-cell-therapies>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. **FDA approves first drug for spinal muscular atrophy**. 2016. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-drug-spinal-muscular-atrophy>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. **FDA approves first-of-its kind targeted RNA-based therapy to treat a rare disease.** 2018. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-its-kind-targeted-rna-based-therapy-treat-rare-disease>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. **For Physicians: How to Request Single Patient Expanded Access (“Compassionate Use”).** 2020. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/investigational-new-drug-ind-application/physicians-how-request-single-patient-expanded-access-compassionate-use>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. Human Gene Therapy Products Incorporating Human Genome Editing. **Draft Guidance for Industry**, 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/human-gene-therapy-products-incorporating-human-genome-editing>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

FDA. Human Gene Therapy for Rare Diseases. **Guidance for Industry**, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/113807/download>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

FDA. Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy. **Guidance for Industry**, 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-human-somatic-cell-therapy-and-gene-therapy>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. Long Term Follow-up After Administration of Human Gene Therapy Products. **Guidance for Industry**, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/long-term-follow-after-administration-human-gene-therapy-products>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

FDA. Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products. **Guidance for Industry**, 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/preclinical-assessment-investigational-cellular-and-gene-therapy-products>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

FDA. Recommendations for Microbial Vectors used for Gene Therapy. **Guidance for Industry**, 2016. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/94200/download>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

FDA. **Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation.** 2023. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/regenerative-medicine-advanced-therapy-designation>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. Regulatory Considerations for Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products: Minimal Manipulation and Homologous Use. **Guidance for Industry**, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/regulatory-considerations-human-cells-tissues-and-cellular-and-tissue-based-products-minimal>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

FDA. **Right to Try.** 2023. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/patients/learn-about-expanded-access-and-other-treatment-options/right-try>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

- FDA. Testing of Retroviral Vector-Based Human Gene Therapy Products for Replication Competent Retrovirus During Product Manufacture and Patient Follow-up. **Guidance for Industry**, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/testing-retroviral-vector-based-human-gene-therapy-products-replication-competent-retrovirus-during>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- FDA. **Tissue and Tissue Products**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/tissue-tissue-products>. Acesso em: 23 de maio de 2023.
- FDA. **“Off-Label” and Investigational Use Of Marketed Drugs, Biologics, and Medical Devices**. 2020. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/label-and-investigational-use-marketed-drugs-biologics-and-medical-devices>. Acesso em: 10 de junho de 2023.
- FIORINZA, S. et al. Value and affordability of CAR T-cell therapy in the United States. **Bone marrow transplantation**, v. 55, p. 1706 – 1715, 6 2020.
- FISCHER, A.; HACEIN-BEY-ABINA, S.; CAVAZZANA-CALVO, M. 20 years of gene therapy for SCID. **Nature immunology**, v. 11, p. 457 – 60, 5 2010.
- FORBES, N. S. Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. **Nature reviews. Cancer**, v. 10, p. 785 – 94, 10 2010.
- FORBES, N. S. Profile of a bacterial tumor killer. **Nature biotechnology**, v. 24, p. 1484 – 5, 12 2006.
- FRIEDMANN, T.; ROBLIN, R. Gene therapy for human genetic disease? **Science (New York, N.Y.)**, v. 175, p. 949 – 55, 3 1972.
- FU, Y. et al. High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. **Nature biotechnology**, v. 31, p. 822 – 6, 6 2013.
- FUSCO, D. D. et al. Antisense Oligonucleotide: Basic Concepts and Therapeutic Application in Inflammatory Bowel Disease. **Frontiers in pharmacology**, v. 10, p. 305 –, 4 2019.
- GAJ, T.; GERSBACH, C. A.; BARBAS, C. F. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. **Trends in biotechnology**, v. 31, p. 397 – 405, 5 2013.
- GALLARDO, J. et al. Adenovirus Structure: What Is New? **International journal of molecular sciences**, v. 22, 6 2021.
- GALLI, M. C. ATMPs for Cancer Immunotherapy: A Regulatory Overview. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 1393, p. 1 – 9, 4 2016.
- GÁLVEZ, P. et al. Development of a cell-based medicinal product: regulatory structures in the European Union. **British medical bulletin**, v. 105, p. 85 – 105, 11 2012.
- GÁNDARA, C.; AFFLECK, V.; STOLL, E. A. Manufacture of Third-Generation Lentivirus for Preclinical Use, with Process Development Considerations for Translation to Good Manufacturing Practice. **Human gene therapy methods**, v. 29, p. 1 – 15, 12 2017.
- GARCIA, L. A. O. et al. Possibilidade jurídica de registro e comercialização de produtos de terapias avançadas no Brasil Legal. **Vigil Sanit Debate**, Fiocruz, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 6 – 14, 02 2018. Disponível em: <https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/1075>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

- GENECARDS. **LMO2 Gene - LIM Domain Only 2**. 2023b. Online. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LMO2&keywords=LMO-2>. Acesso em: 20 de junho de 2023.
- GENECARDS. **MECOM Gene - MDS1 And EVI1 Complex Locus**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MECOM&keywords=mecom>.
- GHOSH, S. et al. Viral Vector Systems for Gene Therapy: A Comprehensive Literature Review of Progress and Biosafety Challenges. **Applied biosafety : journal of the American Biological Safety Association**, v. 25, p. 7 – 18, 8 2022.
- GINN, S. L. et al. Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. **The journal of gene medicine**, v. 20, p. e3015 –, 3 2018.
- GOMES, K. L. G. et al. Comparison of new Brazilian legislation for the approval of advanced therapy medicinal products with existing systems in the USA, European Union and Japan. **Cytotherapy**, v. 24, p. 557 – 566, 3 2022.
- GOPINATH, C. et al. Contemporary Animal Models For Human Gene Therapy Applications. **Current gene therapy**, v. 15, p. 531 – 40, 9 2015.
- GRABAREK, A. D. et al. Particulate impurities in cell-based medicinal products traced by flow imaging microscopy combined with deep learning for image analysis. **Cytotherapy**, v. 23, p. 339 – 347, 6 2020.
- GRIMM, D. et al. In vitro and in vivo gene therapy vector evolution via multispecies interbreeding and retargeting of adeno-associated viruses. **Journal of virology**, v. 82, p. 5887 – 911, 4 2008.
- GUERRIAUD, M.; KOHLI, E. RNA-based drugs and regulation: Toward a necessary evolution of the definitions issued from the European union legislation. **Frontiers in medicine**, v. 9, p. 1012497 –, 11 2022.
- GUILLOU, J. et al. Fatal thrombotic microangiopathy case following adeno-associated viral SMN gene therapy. **Blood advances**, v. 6, p. 4266 – 4270, 5 2022.
- GUO, C. et al. Off-target effects in CRISPR/Cas9 gene editing. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 11, p. 1143157 –, 3 2023.
- GURUMOORTHY, N. et al. Non-Integrating Lentiviral Vectors in Clinical Applications: A Glance Through. **Biomedicines**, v. 10, 1 2022.
- GUST, J. et al. Glial injury in neurotoxicity after pediatric CD19-directed chimeric antigen receptor T cell therapy. **Annals of neurology**, v. 86, p. 42 – 54, 5 2019.
- GYNGELL, C.; DOUGLAS, T.; SAVULESCU, J. The Ethics of Germline Gene Editing. **Journal of applied philosophy**, v. 34, p. 498 – 513, 9 2017.
- HAAPANIEMI, E. et al. CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. **Nature medicine**, v. 24, p. 927 – 930, 6 2018.
- HACEIN-BEY-ABINA, S. et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. **The Journal of clinical investigation**, v. 118, p. 3132 – 42, 8 2008.

- HACEIN-BEY-ABINA, S. et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. **Science (New York, N.Y.)**, v. 302, p. 415 – 9, 10 2003.
- HACKER, U. T. et al. Towards Clinical Implementation of Adeno-Associated Virus (AAV) Vectors for Cancer Gene Therapy: Current Status and Future Perspectives. **Cancers**, v. 12, 7 2020.
- HAGEDORN, C. et al. Scaffold/matrix attached region-based nonviral episomal vectors. **Human gene therapy**, v. 22, p. 915 – 23, 6 2011.
- HAMPSON, G. et al. Gene therapy: evidence, value and affordability in the US health care system. **Journal of comparative effectiveness research**, v. 7, p. 15 – 28, 11 2017.
- HAN, H. A.; PANG, J. K. S.; SOH, B. Mitigating off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated in vivo gene editing. **Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)**, v. 98, p. 615 – 632, 3 2020.
- HAN, S. W.; VERGANI, C. A.; REIS, P. E. O. Is gene therapy for limb ischemia a reality? **Jornal vascular brasileiro**, v. 19, p. e20190059 –, 6 2021.
- HANNA, E. et al. Advanced therapy medicinal products: current and future perspectives. **Journal of market access & health policy**, v. 4, 4 2016.
- HANNA, E. et al. Gene therapies development: slow progress and promising prospect. **Journal of market access & health policy**, v. 5, p. 1265293 –, 3 2017.
- HARMON, B. T. et al. Intranasal administration of plasmid DNA nanoparticles yields successful transfection and expression of a reporter protein in rat brain. **Gene therapy**, v. 21, p. 514 – 21, 3 2014.
- HARRISON, R. P. et al. Decentralised manufacturing of cell and gene therapy products: Learning from other healthcare sectors. **Biotechnology advances**, v. 36, p. 345 – 357, 12 2017.
- HASLAUER, T. et al. CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. **International journal of molecular sciences**, v. 22, 8 2021.
- HEGARTY, J. P.; STEWART, D. B. Advances in therapeutic bacterial antisense biotechnology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, p. 1055 – 1065, 12 2017.
- HERZOG, R. W.; VANDENDRIESSCHE, T.; OZELO, M. C. First hemophilia B gene therapy approved: More than two decades in the making. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 31, p. 1 – 2, 12 2022.
- HILLARY, V. E.; CEASAR, S. A. A Review on the Mechanism and Applications of CRISPR/Cas9/Cas12/Cas13/Cas14 Proteins Utilized for Genome Engineering. **Molecular biotechnology**, v. 65, p. 311 – 325, 9 2022.
- HILLS, A. et al. An assessment of the hospital exemption landscape across European Member States: regulatory frameworks, use and impact. **Cytotherapy**, v. 22, p. 772 – 779.e1, 10 2020.
- HOCKEMEYER, D. et al. Genetic engineering of human pluripotent cells using TALE nucleases. **Nature biotechnology**, v. 29, p. 731 – 4, 7 2011.

HODEIB, H. et al. Genetic Risk Profiling Associated with Recurrent Unprovoked Venous Thromboembolism. **Genes**, v. 12, 7 2021.

HULLEY et al. **Delineando a pesquisa clínica**. 4th. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 386 p. ISBN 978-85-8271-189-7.

HULOU, M. M. et al. Experimental therapies: gene therapies and oncolytic viruses. **Handbook of clinical neurology**, v. 134, p. 183 – 97, 3 2016.

HUNT, T. **Industry Update at the Cell & Gene State of the Industry Briefing**. San Francisco, CA: Alliance for Regenerative Medicine, 2023. Disponível em: <https://alliancerm.org/arm-event/sotibriefing/>. Acesso em: 10 de fevereiro 2023.

ICH. Guia de Boas Práticas Clínicas. **ICH E6(R2)**, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/guia-de-boas-praticas-clinicas-ich-e6-r2/view>. Acesso em: 02 de junho de 2023.

ICH. Guideline on Enhancing the format and structure of Benefit-Risk information. **M4E(R2). International Conference on Harmonisation**, 2016. Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/M4E\\_R2\\_\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/M4E_R2__Guideline.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

ICH. Impurities in new products: Current Step 4 version. **ICH Q3B(R2) International Conference on Harmonization**, 2006. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

ICH. Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals: Current Step 4 version. **ICH M3 (R2) International Conference on Harmonisation**, 2009. Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/M3\\_R2\\_\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2__Guideline.pdf). Acesso em: 06 de junho de 2023.

ICH. Nonclinical Biodistribution Consideration for Gene Therapy Products: S12. **ICH S12**, 2023. Disponível em: <https://www.ich.org/page/safety-guidelines>. Acesso em: 13 de junho de 2023.

ICH. Pharmaceutical Development. **ICH Q8 (R2) Internacional Conference on Harmonisation**, 2009. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

ICH. Quality Risk Management (QRM). **ICH Q9 International Conference on Harmonisation**, 2023. Disponível em: <https://ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

ICH. Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products derived from cell lines of human or animal origin. **ICH Q5A(R1) International Conference on Harmonisation**, 1999. Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/Q5A%28R1%29%20Guideline\\_0.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/Q5A%28R1%29%20Guideline_0.pdf). Acesso em: 06 DE JUNHO DE 2023.

IHRY, R. J. et al. p53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. **Nature medicine**, v. 24, p. 939 – 946, 6 2018.

- ILIEVA, K.; BORISSOV, B.; TOUMI, M. Gene therapy randomised clinical trials in Europe - a review paper of methodology and design. **Journal of market access & health policy**, v. 8, p. 1847808 –, 12 2020.
- IVICS, Z.; IZSVÁK, Z. Transposons for gene therapy! **Current gene therapy**, v. 6, p. 593 – 607, 11 2006.
- JALALI, R. et al. Drug Development in Low- and Middle-Income Countries: Opportunity or Exploitation? **American Society of Clinical Oncology educational book. American Society of Clinical Oncology. Annual Meeting**, v. 42, p. 1 – 8, 6 2022.
- JEUNE, V. L. et al. Pre-existing anti-adenovirus-associated virus antibodies as a challenge in AAV gene therapy. **Human gene therapy methods**, v. 24, p. 59 – 67, 2 2013.
- JIANG, S.; SWANSON, D.; BETENSKY, R. A. Estimation of the censoring distribution in clinical trials. **Contemporary clinical trials communications**, v. 23, p. 100842 –, 9 2021.
- JIN, L. et al. Current progress in gene delivery technology based on chemical methods and nano-carriers. **Theranostics**, v. 4, p. 240 – 55, 2 2014.
- JOHNSON, N. M. et al. HIV-based lentiviral vectors: origin and sequence differences. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 21, p. 451 – 465, 5 2021.
- JONG, Y. P. de; HERZOG, R. W. Liver gene therapy and hepatocellular carcinoma: A complex web. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 29, p. 1353 – 1354, 3 2021.
- JOSEPH, P. D.; CRAIG, J. C.; CALDWELL, P. H. Y. Clinical trials in children. **British journal of clinical pharmacology**, v. 79, p. 357 – 69, 12 2013.
- KACZMAREK, J. C.; KOWALSKI, P. S.; ANDERSON, D. G. Advances in the delivery of RNA therapeutics: from concept to clinical reality. **Genome Medicine**, v. 9, n. 60, p. 1 – 16, June 2017. Disponível em: <https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-017-0450-0#citeas>. Acesso em: 23 de maio de 2023.
- KAHLIG, K. M. et al. Multiplexed transposon-mediated stable gene transfer in human cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, p. 1343 – 8, 1 2010.
- KAMPOURI, E. et al. Managing hypogammaglobulinemia in patients treated with CAR-T-cell therapy: key points for clinicians. **Expert review of hematology**, v. 15, p. 305 – 320, 4 2022.
- KATSILA, T.; SISKOS, A. P.; TAMVAKOPOULOS, C. Peptide and protein drugs: the study of their metabolism and catabolism by mass spectrometry. **Mass spectrometry reviews**, v. 31, p. 110 – 33, 6 2011.
- KAUFMAN, K. R. Ethical considerations in placebo-controlled randomised clinical trials. **BJPsych open**, v. 1, p. e3 – e4, 10 2016.
- KEMPF, L.; GOLDSMITH, J. C.; TEMPLE, R. Challenges of developing and conducting clinical trials in rare disorders. **American journal of medical genetics. Part A**, v. 176, p. 773 – 783, 8 2017.

KESSELHEIM, A. S. et al. Trends in utilization of FDA expedited drug development and approval programs, 1987-2014: cohort study. **BMJ**, v. 351, n. h4633, p. 1 – 7, September 2015. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/351/bmj.h4633>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

KESSLER, D. A. et al. Regulation of somatic-cell therapy and gene therapy by the food and drug administration. **The New England journal of medicine**, v. 329, p. 1169 – 73, 10 1993.

KIM, H.; KIM, J. A guide to genome engineering with programmable nucleases. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, p. 321 – 334, April 2014. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg3686#citeas>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

KIM, Y. RNA therapy: rich history, various applications and unlimited future prospects. **Experimental & molecular medicine**, v. 54, p. 455 – 465, 4 2022.

KIMURA, T. et al. Production of adeno-associated virus vectors for in vitro and in vivo applications. **Scientific reports**, v. 9, p. 13601 –, 9 2019.

KINGWELL, K. **First CRISPR therapy seeks landmark approval**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/d41573-023-00050-8>. Acesso em: 27 de maio de 2023.

KIRIIRI, G. K.; NJOGU, P.; MWANGI, A. Exploring different approaches to improve the success of drug discovery and development projects: a review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, june 2020. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Exploring-different-approaches-to-improve-the-of-a-Kiriiri-Njogu/e697e8c8fe0084fa2afc892d63827834c435b636>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

KIRK, J. L. **EU Clinical Trials Regulation: The Application Process**. **International Society for Pharmaceutical Engineering - ISPE**. 2017. Online. Disponível em: <https://ispe.org/pharmaceutical-engineering/march-april-2017/eu-clinical-trials-regulation-application-process#>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

KISHIMOTO, T. K.; SAMULSKI, R. J. Addressing high dose AAV toxicity - 'one and done' or 'slower and lower'? **Expert opinion on biological therapy**, v. 22, p. 1067 – 1071, 4 2022.

KLAPACZ, J.; GOLLAPUDI, B. B. Considerations for the Use of Mutation as a Regulatory Endpoint in Risk Assessment. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 61, p. 84 – 93, 7 2019.

KNIGHT, S.; COLLINS, M.; TAKEUCHI, Y. Insertional mutagenesis by retroviral vectors: current concepts and methods of analysis. **Current gene therapy**, v. 13, p. 211 – 27, 4 2013.

KOMOR, A. C. et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. **Nature**, v. 533, p. 420 – 424, April 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature17946>. Acesso em: 24 de maio de 2023.

KONIALI, L.; LEDERER, C. W.; KLEANTHOUS, M. Therapy Development by Genome Editing of Hematopoietic Stem Cells. **Cells**, v. 10, 7 2021.

- KOSICKI, M.; TOMBERG, K.; BRADLEY, A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. **Nature biotechnology**, v. 36, p. 765 – 771, 7 2018.
- KUZMIN, D. A. et al. The clinical landscape for AAV gene therapies. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 20, p. 173 – 174, 1 2021.
- LABBÉ, R. P.; VESSILLIER, S.; RAFIQ, Q. A. Lentiviral Vectors for T Cell Engineering: Clinical Applications, Bioprocessing and Future Perspectives. **Viruses**, v. 13, 8 2021.
- LADBURY, C. et al. Long-Term Follow-Up of Bridging Therapies Prior to CAR T-Cell Therapy for Relapsed/Refractory Large B Cell Lymphoma. **Cancers**, v. 15, 3 2023.
- LAMTURE, G. et al. TCR-independent Activation in Presence of a Src-family Kinase Inhibitor Improves CAR-T Cell Product Attributes. **Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)**, v. 45, p. 139 – 149, 11 2021.
- LANDER, E. S. The Heroes of CRISPR. **Cell**, v. 164, p. 18 – 28, 1 2016.
- LAPTEVA, L. et al. Clinical Development of Gene Therapies: The First Three Decades and Counting. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 19, p. 387 – 397, 11 2020.
- LATCHMAN, D. S. Gene therapy using herpes simplex virus-based vectors. **Histology and histopathology**, v. 15, p. 1253 – 9, 9 2000.
- LATCHMAN, D. S. Herpes simplex virus vectors for gene therapy. **Molecular biotechnology**, v. 2, p. 179 – 95, 10 1994.
- LAVILLE, C.; DIONNE, J. **A CONSTRUCAO DO SABER**: Manual de metodologia da pesquisa em ciencias humanas. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2008.
- LE, R. Q. et al. FDA Approval Summary: Tocilizumab for Treatment of Chimeric Antigen Receptor T Cell-Induced Severe or Life-Threatening Cytokine Release Syndrome. **The oncologist**, v. 23, p. 943 – 947, 4 2018.
- LECHARDEUR, D.; VERKMAN, A. S.; LUKACS, G. L. Intracellular routing of plasmid DNA during non-viral gene transfer. **Advanced drug delivery reviews**, v. 57, p. 755 – 67, 3 2005.
- LEE, C. S. et al. Adenovirus-Mediated Gene Delivery: Potential Applications for Gene and Cell-Based Therapies in the New Era of Personalized Medicine. **Genes & diseases**, v. 4, p. 43 – 63, 9 2017.
- LEVY, Y.; ELLIS, T. J. A Systems Approach to Conduct an Effective Literature Review in Support of Information Systems Research. **Informing Sci. Int. J. an Emerg. Transdiscipl**, v. 9, p. 181 – 212, 2006. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/A-Systems-Approach-to-Conduct-an-Effective-Review-Levy-Ellis/bacef572180a1b81b5b2222149fecbcc3b2c6fc6>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- LEY, D. et al. MAR elements and transposons for improved transgene integration and expression. **PLoS one**, v. 8, p. e62784 – , 5 2013.

- LI, A. et al. AAV-CRISPR Gene Editing Is Negated by Pre-existing Immunity to Cas9. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 28, p. 1432 – 1441, 4 2020.
- LI, C.; SAMULSKI, R. J. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. **Nature reviews. Genetics**, v. 21, p. 255 – 272, 2 2020.
- LI, H. et al. Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 5, p. 1 –, 4 2020.
- LI, L.; HU, S.; CHEN, X. Non-viral delivery systems for CRISPR/Cas9-based genome editing: Challenges and opportunities. **Biomaterials**, v. 171, p. 207 – 218, 4 2018.
- LI, Q. et al. Applications of Genome Editing Technology in Animal Disease Modeling and Gene Therapy. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 17, p. 689 – 698, 7 2019.
- LI, X. et al. Viral Vector-Based Gene Therapy. **International journal of molecular sciences**, v. 24, 5 2023.
- LINNIK, D. S. et al. Layer-by-Layer technique as a versatile tool for gene delivery applications. **Expert opinion on drug delivery**, v. 18, p. 1047 – 1066, 2 2021.
- LIU, T. et al. Cistrome: an integrative platform for transcriptional regulation studies. **Genome biology**, v. 12, p. R83 –, 8 2011.
- LIU, Y. et al. Genetically engineered bacterium: Principles, practices, and prospects. **Frontiers in microbiology**, v. 13, p. 997587 –, 10 2022.
- LLOVET, J. M. et al. Hepatocellular carcinoma. **Nature reviews. Disease primers**, v. 7, p. 6 –, 1 2021.
- LOZACH, P. Cell Biology of Viral Infections. **Cells**, v. 9, 11 2020.
- LUCHESE, G. **Globalização e Regulação Sanitária**: Os rumos da vigilância sanitária no Brasil. Brasília: Anvisa, 2008. 356 p.
- LUNDGREN, T. S. et al. Pharmacokinetic analysis identifies a factor VIII immunogenicity threshold after AAV gene therapy in hemophilia A mice. **Blood advances**, v. 6, p. 2628 – 2645, 3 2022.
- LUNDSTROM, K. Application of Viral Vectors for Vaccine Development with a Special Emphasis on COVID-19. **Viruses**, v. 12, 11 2020.
- LUNDSTROM, K. Viral Vectors in Gene Therapy. **Diseases**, v. 6, n. 42, May 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6023384/>. Acesso em: 23 de maio de 2023.
- LURIE, N.; SHARFSTEIN, J. M.; GOODMAN, J. L. The Development of COVID-19 Vaccines: Safeguards Needed. **JAMA**, v. 324, p. 439 – 440, 8 2020.
- LYSAGHT, T. et al. The deadly business of an unregulated global stem cell industry. **Journal of medical ethics**, v. 43, p. 744 – 746, 3 2017.

- MACGREGOR, C.; PETERSEN, A.; MUNSIE, M. **Stem cell tourism: selling hope through unproven stem cell treatments - lessons from the X-Cell Center controversy**. 2015. Online. Disponível em: <https://www.eurostemcell.org/stem-cell-tourism-selling-hope-through-unproven-stem-cell-treatments-lessons-x-cell-center>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- MACIULAITIS, R. et al. Clinical development of advanced therapy medicinal products in Europe: evidence that regulators must be proactive. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 20, p. 479 – 82, 3 2012.
- MAEDER, M. L.; GERSBACH, C. A. Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 24, p. 430 – 46, 1 2016.
- MAEMONDO, M. Perspective of gene therapy with replication competent viruses. **Translational lung cancer research**, v. 9, p. 2511 – 2513, 1 2021.
- MAGUIRE, A. M. et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. **Lancet (London, England)**, v. 374, p. 1597 – 605, 10 2009.
- MALI, P. et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. **Science (New York, N.Y.)**, v. 339, p. 823 – 6, 1 2013.
- MANJILA, S. B. et al. Novel gene delivery systems. **International journal of pharmaceutical investigation**, v. 3, p. 1 – 7, 6 2013.
- MARINO, N. D. et al. Anti-CRISPR protein applications: natural brakes for CRISPR-Cas technologies. **Nature methods**, v. 17, p. 471 – 479, 3 2020.
- MARKET DATA FORECAST. **Gene Therapy Market Size, Share, Trends & Growth | 2022 to 2027**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.marketdataforecast.com/market-reports/gene-therapy-market>. Acesso em: 20 junho de 2023.
- MARKS, P. Enhancing gene therapy regulatory interactions. **Expert opinion on biological therapy**, v. 22, p. 1073 – 1074, 3 2022.
- MARKS, P. W.; WITTEN, C. M.; CALIFF, R. M. Clarifying Stem-Cell Therapy's Benefits and Risks. **The New England journal of medicine**, v. 376, p. 1007 – 1009, 12 2016.
- MARTÍNEZ-MOLINA, E. et al. Large-Scale Production of Lentiviral Vectors: Current Perspectives and Challenges. **Pharmaceutics**, v. 12, 11 2020.
- MARTINO, M. et al. A Review of Clinical Outcomes of CAR T-Cell Therapies for B-Acute Lymphoblastic Leukemia. **International journal of molecular sciences**, v. 22, 3 2021.
- MASON, C.; DUNNILL, P. A brief definition of regenerative medicine. **Regenerative medicine**, v. 3, p. 1 – 5, 12 2007.
- MCBRIDE, T. M. et al. The biology and type I/III hybrid nature of type I-D CRISPR-Cas systems. **The Biochemical journal**, v. 480, p. 471 – 488, 4 2023.
- MCGREEVY, J. W. et al. Animal models of Duchenne muscular dystrophy: from basic mechanisms to gene therapy. **Disease models & mechanisms**, v. 8, p. 195 – 213, 3 2015.

- MCINTOSH, N. L. et al. Comprehensive characterization and quantification of adeno associated vectors by size exclusion chromatography and multi angle light scattering. **Scientific reports**, v. 11, p. 3012 –, 2 2021.
- MEDLINE PLUS. **Genes**. 2023. Online. Disponível em: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/>. Acesso em: 20 de junho de 2023.
- MENDES, B. B. et al. Nanodelivery of nucleic acids. **Nature reviews. Methods primers**, v. 2, 4 2022.
- MERTEN, O. et al. Manufacturing of viral vectors for gene therapy: part I. Upstream processing. **Pharmaceutical bioprocessing**, June 2014. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Manufacturing-of-viral-vectors-for-gene-therapy%3A-I.-Merten-Schweizer/2ea5e6863a2f4f095b7d6cc17e8e8a1ec6483e9c>. Acesso em: 31 de maio de 2023.
- MHPRA. Guidance of Medicines Healthcare products Regulatory Agency. **Good pharmacovigilance practice (GPvP)**, 2021. Disponível em: <https://www.gov.uk/guidance/good-pharmacovigilance-practice-gpvp>. Acesso em: 05 de junho de 2023.
- MILLS, J.; BONNER, A.; FRANCIS, K. The Development of Constructivist Grounded Theory. **International Journal of Qualitative Methods**, v. 5, p. 25 – 35, March 2006. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Development-of-Constructivist-Grounded-Theory-Mills-Bonner/4cc7da2584942e8939e4c5b1d6cc4cf7a515bde7>. Acesso em: 23 de maio de 2023.
- MILONE, M. C.; O'DOHERTY, U. Clinical use of lentiviral vectors. **Leukemia**, v. 32, p. 1529 – 1541, 4 2018.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 199, de 30 de janeiro de 2014. **Institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras, aprova as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio**, 2014. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0199\\_30\\_01\\_2014.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0199_30_01_2014.html). Acesso em: 05 de junho de 2023.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Prevalência da infecção por HTLV-1/2 no Brasil**. [S.l.], 2022. Disponível em: <http://antigo.aids.gov.br/pt-br/pub/2022/prevalencia-da-infeccao-por-htlv-12-no-brasil>. Acesso em: 10 de maio de 2023.
- MISTRY, B. A.; D'ORSOGNA, M. R.; CHOU, T. The Effects of Statistical Multiplicity of Infection on Virus Quantification and Infectivity Assays. **Biophysical journal**, v. 114, p. 2974 – 2985, 6 2018.
- MIZUTANI, T. et al. Inhibition of hepatitis C virus replication by antisense oligonucleotide in culture cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 212, p. 906 – 11, 7 1995.
- MUSSOLINO, C. et al. A novel TALE nuclease scaffold enables high genome editing activity in combination with low toxicity. **Nucleic acids research**, v. 39, p. 9283 – 93, 8 2011.
- NAEEM, M. et al. Latest Developed Strategies to Minimize the Off-Target Effects in CRISPR-Cas-Mediated Genome Editing. **Cells**, v. 9, 7 2020.

NALDINI, L. Ex vivo gene transfer and correction for cell-based therapies. **Nature reviews. Genetics**, v. 12, p. 301 – 15, 3 2011.

NASA. **NASA Risk Management Handbook**: National Aeronautics and Space Administration. Washington, DC, 2011. Disponível em: <https://ntrs.nasa.gov/citations/20120000033>. Acesso em: 02 de junho de 2023.

NASEM. **Preparing for Future Products of Biotechnology**: National Academies Sciences Engineering Medicine. Washington (DC): National Academies Press (US), 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28737846/>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

NATIONAL ACADEMIES SCIENCES ENGINEERING MEDICINE. **International Summit on Human Gene Editing**: A Global Discussion. Washington, DC, 2015. Disponível em: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/21913/international-summit-on-human-gene-editing-a-global-discussion>. Acesso em: 24 de maio de 2023.

NCI. **Nacional Cancer Institute. NCI Dictionary of Cancer Terms. CAR T-cell therapy**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/car-t-cell-therapy>. Acesso em: 04 de junho de 2023.

NEELAPU, S. S. et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. **The New England journal of medicine**, v. 377, p. 2531 – 2544, 12 2017a.

NEELAPU, S. S. et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. **Nature reviews. Clinical oncology**, v. 15, p. 47 – 62, 9 2017b.

NEREM, R. M. Regenerative medicine: the emergence of an industry. **Journal of the Royal Society, Interface**, v. 7 Suppl 6, p. S771 – 5, 9 2010.

NIH. **What Is Venous Thromboembolism? National Institutes of Health**. 2022. Online. Disponível em: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/venous-thromboembolism>. Acesso em: 12 de junho de 2023.

OCCELLI, L. M. et al. Gene Supplementation Rescues Rod Function and Preserves Photoreceptor and Retinal Morphology in Dogs, Leading the Way Toward Treating Human . **Human gene therapy**, v. 28, p. 1189 – 1201, 12 2017.

OECD. Risk and Regulatory Policy: Improving the Governance of Risk. **Organisation Economic Co-operation Development (OECD) Reviews of Regulatory Reform**, p. – 248, 2010. Disponível em: [https://www.oecd-ilibrary.org/governance/risk-and-regulatory-policy\\_9789264082939-en](https://www.oecd-ilibrary.org/governance/risk-and-regulatory-policy_9789264082939-en). Acesso em: 28 de maio de 2023.

OEKELEN, O. V. et al. Neurocognitive and hypokinetic movement disorder with features of parkinsonism after BCMA-targeting CAR-T cell therapy. **Nature medicine**, v. 27, p. 2099 – 2103, 12 2021.

OHLSON, J. Plasmid manufacture is the bottleneck of the genetic medicine revolution. **Drug discovery today**, v. 25, p. 1891 – 3, 10 2020.

ONO, C. et al. Baculovirus as a Tool for Gene Delivery and Gene Therapy. **Viruses**, v. 10, 9 2018.

ORPHANET. **Doenças Raras**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/Disease.php?Ing=PT>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

ORZETTI, S. et al. Genetic Therapy and Molecular Targeted Therapy in Oncology: Safety, Pharmacovigilance, and Perspectives for Research and Clinical Practice. **International journal of molecular sciences**, v. 23, 3 2022.

PAHO. General Publications Pan American Health Organization. **Regulation of Advanced Therapy Medicinal Products: Concept Note and Recommendations. Ninth Conference of the Pan American Network for Drug Regulatory Harmonization (PANDRH)**, Pan American Health Organization, San Salvador, October 2018. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51558>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

PAN, X. et al. Applications and developments of gene therapy drug delivery systems for genetic diseases. **Asian journal of pharmaceutical sciences**, v. 16, p. 687 – 703, 1 2022.

PAPAIIOANNOU, I.; OWEN, J. S.; YÁÑEZ-MUÑOZ, R. J. Clinical applications of gene therapy for rare diseases: A review. **International journal of experimental pathology**, 5 2023.

PATEL, S. R. et al. The Immune Response to the fVIII Gene Therapy in Preclinical Models. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 494 –, 5 2020.

PEARCE, K. F. et al. Regulation of advanced therapy medicinal products in Europe and the role of academia. **Cytotherapy**, v. 16, p. 289 – 97, 10 2013.

PENAUD-BUDLOO, M. et al. Pharmacology of Recombinant Adeno-associated Virus Production. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 8, p. 166 – 180, 4 2018.

PENG, Z. Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. **Human gene therapy**, v. 16, p. 1016 – 27, 9 2005.

PÉREZ-CAMPO, F. M.; RIANCHO, J. A. Epigenetic Mechanisms Regulating Mesenchymal Stem Cell Differentiation. **Current genomics**, v. 16, p. 368 – 83, 3 2016.

PIC/S. Annex 2A Manufacture of Advanced Therapy Medicinal Products for Human Use. **Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products. Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme**, p. 19 – 58, 2022. Disponível em: <https://picscheme.org/docview/4590>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

PIC/S. Manufacture of investigational Medicinal Products. **Annex 13 PE 009-17 Pharmaceutical Inspection Convention**, 2023. Disponível em: <https://picscheme.org/docview/6608>. Acesso em: 10/09/2023.

PIGNATTI, F. et al. The review of drug applications submitted to the European Medicines Evaluation Agency: frequently raised objections, and outcome. **European journal of clinical pharmacology**, v. 58, p. 573 – 80, 1 2003.

PILETSKA, E. V. et al. Combinatorial screening of polymer nanoparticles for their ability to recognize epitopes of AAV-neutralizing antibodies. **Journal of molecular recognition : JMR**, v. 33, p. e2824 –, 11 2019.

- PLAS, R. M. van der et al. Pragmatic rules for comparability of biological medicinal products. *Biologicals*. **Biologicals**, v. 63, p. 97 – 100, janeiro 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1045105619301290>. Acesso em: 22 de maio de 2023.
- PLOUFFE, B. D.; MURTHY, S. K.; LEWIS, L. H. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review. **Reports on progress in physics. Physical Society (Great Britain)**, v. 78, p. 016601 –, 12 2014.
- POLETTI, V.; MAVILIO, F. Designing Lentiviral Vectors for Gene Therapy of Genetic Diseases. **Viruses**, v. 13, 8 2021.
- PRADEEP, S. P. et al. Unlocking the potential of chemically modified peptide nucleic acids for RNA-based therapeutics. **RNA (New York, N.Y.)**, v. 29, p. 434 – 445, 1 2023.
- PURI, I. et al. Diagnosis and management of tumor lysis syndrome. **Journal of community hospital internal medicine perspectives**, v. 10, p. 269 – 272, 8 2020.
- QIN, F. et al. A Guide to Nucleic Acid Vaccines in the Prevention and Treatment of Infectious Diseases and Cancers: From Basic Principles to Current Applications. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 9, p. 633776 –, 6 2021.
- RAJE, N. et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. **The New England journal of medicine**, v. 380, p. 1726 – 1737, 5 2019.
- RAMAMOORTH, M.; NARVEKAR, A. Non viral vectors in gene therapy- an overview. **Journal of clinical and diagnostic research : JCDR**, v. 9, p. GE01 – 6, 3 2015.
- RANZANI, M. et al. Cancer gene discovery: exploiting insertional mutagenesis. **Molecular cancer research : MCR**, v. 11, p. 1141 – 58, 8 2013.
- RATTANANON, P. et al. The Future of Gene Therapy for Transfusion-Dependent Beta-Thalassemia: The Power of the Lentiviral Vector for Genetically Modified Hematopoietic Stem Cells. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 730873 –, 10 2021.
- RENN, O. Perception of risks. **Toxicology letters**, v. 149, p. 405 – 13, 4 2004.
- RENN, O. et al. Systemic Risks from Different Perspectives. **Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis**, v. 42, p. 1902 – 1920, 12 2020.
- RINDE, M. **The Death of Jesse Gelsinger, 20 Years Later**. 2019. Online. Disponível em: <https://sciencehistory.org/stories/magazine/the-death-of-jesse-gelsinger-20-years-later/>. Acesso em: 22 de maio de 2023.
- ROCCO, D. D. et al. Assembly and Functional Analysis of an S/MAR Based Episome with the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene. **International journal of molecular sciences**, v. 19, 4 2018.
- RODRIGUES, G. A. et al. Pharmaceutical Development of AAV-Based Gene Therapy Products for the Eye. **Pharmaceutical research**, v. 36, p. 29 –, 12 2018.
- ROSEN, S. et al. Activity of transgene-produced B-domain-deleted factor VIII in human plasma following AAV5 gene therapy. **Blood**, v. 136, p. 2524 – 2534, 9 2020.

ROTHWELL, P. M. Factors that can affect the external validity of randomised controlled trials. **PLoS clinical trials**, v. 1, p. e9 –, 7 2006.

ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES. **Nobel Prize in Chemistry 2020**. 2020. Online. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/press-release/>. Acesso em: 27 de maio de 2023.

SAHEL, J.; ROSKA, B. Gene therapy for blindness. **Annual review of neuroscience**, v. 36, p. 467 – 88, 6 2013.

SAIYED, M. M.; ONG, P. S.; CHEW, L. Off-label drug use in oncology: a systematic review of literature. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, v. 42, p. 251 – 258, 2 2017.

SAKUMA, T.; BARRY, M. A.; IKEDA, Y. Lentiviral vectors: basic to translational. **The Biochemical journal**, v. 443, p. 603 – 18, 4 2012.

SÁNCHEZ-GUIJO, F. et al. Role of Hospital Exemption in Europe: position paper from the Spanish Advanced Therapy Network (TERAV). **Bone marrow transplantation**, v. 58, p. 727 – 728, 3 2023.

SANDERS, R. **FDA approves first test of CRISPR to correct genetic defect causing sickle cell disease**. 2021. Online. Disponível em: <https://news.berkeley.edu/2021/03/30/fda-approves-first-test-of-crispr-to-correct-genetic-defect-causing-sickle-cell-disease/>. Acesso em: 27 de maio de 2023.

SANDHU, J. S.; KEATING, A.; HOZUMI, N. Human gene therapy. **Critical reviews in biotechnology**, v. 17, p. 307 – 26, 1 1997.

SANJUÁN, R. Collective properties of viral infectivity. **Current opinion in virology**, v. 33, p. 1 – 6, 7 2018.

SANTOMASSO, B. D. et al. Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. **Cancer discovery**, v. 8, p. 958 – 971, 6 2018.

SATO-DAHLMAN, M. et al. Adenovirus and Immunotherapy: Advancing Cancer Treatment by Combination. **Cancers**, v. 12, 5 2020.

SCHENK-BRAAT, E. A. M. et al. An inventory of shedding data from clinical gene therapy trials. **The journal of gene medicine**, v. 9, p. 910 – 21, 9 2007.

SCHMIDTS, A. et al. Cell-based artificial APC resistant to lentiviral transduction for efficient generation of CAR-T cells from various cell sources. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 8, 9 2020.

SCHNEIDER, C. K. et al. Challenges with advanced therapy medicinal products and how to meet them. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 9, p. 195 – 201, 3 2010.

SHANKAR, G.; PENDLEY, C.; STEIN, K. E. A risk-based bioanalytical strategy for the assessment of antibody immune responses against biological drugs. **Nature biotechnology**, v. 25, p. 555 – 61, 5 2007.

SHARMA, N.; REAGAN, P. M.; LIESVELD, J. L. Cytopenia after CAR-T Cell Therapy-A Brief Review of a Complex Problem. **Cancers**, v. 14, 3 2022.

SHAW, A. R.; SUZUKI, M. Immunology of Adenoviral Vectors in Cancer Therapy. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 15, p. 418 – 429, 1 2020.

SHEN, D. et al. Enhancer Trapping and Annotation in Zebrafish Mediated with Sleeping Beauty, piggyBac and Tol2 Transposons. **Genes**, v. 9, 12 2018.

SHERKOW, J. S.; ZETTLER, P. J.; GREELY, H. T. Is it 'gene therapy'? **Journal of law and the biosciences**, v. 5, p. 786 – 793, 5 2019.

SIETSEMA, W. K. et al. Japan's Conditional Approval Pathway for Regenerative Medicines. **Regulatory Focus. Regulatory Affairs Professionals Society**, May 2018. Disponível em: <http://www.lisata.com/wp-content/uploads/2021/02/Sietsema-et-al.-2018-RAPS-1.pdf>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

SILVA JÚNIOR, J. B.; RATTNER, D.; MARTINS, R. de C. A. Controle de riscos potenciais em serviços de hemoterapia no Brasil: uma abordagem para autoridades reguladoras. **Rev Panam Salud Publica**, v. 40, n. 1, 2016. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28573>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

SILVA JUNIOR, J. B. et al. Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular Consensus on genetically modified cells. Special Article: Advanced therapy medicinal products in Brazil: regulatory panorama. **Hematology, transfusion and cell therapy**, v. 43 Suppl 2, p. S68 – S77, 11 2021.

SILVA JUNIOR, J. B.; TAKAO, M. R. M.; PARCA, R. M. Produtos de Terapias Avançadas: uma introdução ao gerenciamento de riscos. **Vigil. Sanit. Debate**, Fiocruz, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 23 – 31, 02 2018. Disponível em: <https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/1073>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

SIMONELLI, F. et al. Gene therapy for Leber's congenital amaurosis is safe and effective through 1.5 years after vector administration. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 18, p. 643 – 50, 12 2009.

SINDHU, R. K. et al. Therapeutic Approaches for the Management of Autoimmune Disorders via Gene Therapy: Prospects, Challenges and Opportunities. **Current gene therapy**, v. 22, p. 245 – 261, 9 2021.

SIPP, D. et al. Marketing of unproven stem cell-based interventions: A call to action. **Science translational medicine**, v. 9, 7 2017.

SOMIA, N.; VERMA, I. M. Gene therapy: trials and tribulations. **Nature reviews. Genetics**, v. 1, p. 91 – 9, 3 2001.

SRIVASTAVA, A. AAV Vectors: Are They Safe? **Human gene therapy**, v. 31, p. 697 – 699, 7 2020.

STIRLING, A. Keep it complex. **Nature**, v. 468, p. 1029 – 31, 12 2010.

STOLBERG, S. G. **The Biotech Death of Jesse Gelsinger**. 1999. Online. Disponível em: <https://www.nytimes.com/1999/11/28/magazine/the-biotech-death-of-jesse-gelsinger.html>. Acesso em: 22 de maio de 2023.

STRAUSS, B. Vetores para Terapia Gênica: vírus, plasmídeos e outros métodos. In: MORALES, M. (org.). **Terapia Avançada - Célula-Tronco, Terapia Gênica e Nanotecnologia Aplicada à Saúde**. São Paulo: Atheneu, 2007. cap. 9, p. 121 – 148. ISBN 978-85-7379-929-3. Acesso em: 23 de maio de 2023.

SUN, Z.; LIU, M. Systematic review and meta-analysis of the association between bridging therapy and outcomes of chimeric antigen receptor T cell therapy in patients with large B cell lymphoma. **Cytotherapy**, v. 24, p. 940 – 953, 5 2022.

SUNG, Y. K.; KIM, S. W. Recent advances in the development of gene delivery systems. **Biomaterials research**, v. 23, p. 8 –, 3 2019.

TANG, Y.; FU, Y. Class 2 CRISPR/Cas: an expanding biotechnology toolbox for and beyond genome editing. **Cell & bioscience**, v. 8, p. 59 –, 11 2018.

TEACHEY, D. T. et al. Identification of Predictive Biomarkers for Cytokine Release Syndrome after Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. **Cancer discovery**, v. 6, p. 664 – 79, 4 2016.

THAKUR, G.; BANSODE, V.; RATHORE, A. S. Continuous manufacturing of monoclonal antibodies: Automated downstream control strategy for dynamic handling of titer variations. **Journal of chromatography. A**, v. 1682, p. 463496 –, 9 2022.

THOMPSON, G. L.; KAVANAGH, D. Diagnosis and treatment of thrombotic microangiopathy. **International journal of laboratory hematology**, v. 44 Suppl 1, p. 101 – 113, 9 2022.

THOMSON, J. A. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science (New York, N.Y.)**, v. 282, p. 1145 – 7, 11 1998.

TRAVIESO, T. et al. The use of viral vectors in vaccine development. **NPJ vaccines**, v. 7, p. 75 –, 7 2022.

TSCHORN, N.; BERG, K.; STITZ, J. Transposon vector-mediated stable gene transfer for the accelerated establishment of recombinant mammalian cell pools allowing for high-yield production of biologics. **Biotechnology letters**, v. 42, p. 1103 – 1112, 4 2020.

TSEGAYE, D. et al. Medication Administration Errors and Associated Factors Among Nurses. **International journal of general medicine**, v. 13, p. 1621 – 1632, 12 2020.

TURNER, L.; KNOEPFLER, P. Selling Stem Cells in the USA: Assessing the Direct-to-Consumer Industry. **Cell stem cell**, v. 19, p. 154 – 157, 7 2016.

TURTLE, C. J. et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. **Science translational medicine**, v. 8, p. 355ra116 –, 9 2016.

UCSF. **University of California San Francisco. Human Research Protection Program (HRPP). Overview and Definitions**. 2023. Online. Disponível em: <https://irb.ucsf.edu/emergency-use-and-compassionate-use-experimental-drugs-and-devices#Unproven-efficacy>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

UFFELMANN, E. et al. Genome-wide association studies. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 1, n. 59, p. 1 – 21, August 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s43586-021-00056-9#citeas>. Acesso em: 15 de junho de 2023.

UNESCO. **Report of the International Bioethics Committee (IBC) on updating its reflection on the Human Genome and Human Rights**. Paris, 2015. Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000233258>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). **General Chapter 1047 GENE THERAPY PRODUCTS**. Rockville, MD: United States Pharmacopeia, 2023. Disponível em: [https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp35/data/v35300/usp35nf30s0\\_c1047.html](https://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp35/data/v35300/usp35nf30s0_c1047.html). Acesso em: 23 de maio de 2023.

USMAN, N.; SUAREZ, M. **Adenoviruses**. 2023. Online. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559072/>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

VALDEZ, R.; GROSSE, S. D.; KHOURY, M. J. The need for a next-generation public health response to rare diseases. **Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics**, v. 19, p. 489 – 490, 10 2016.

VANDAMME, C.; ADJALI, O.; MINGOZZI, F. Unraveling the Complex Story of Immune Responses to AAV Vectors Trial After Trial. **Human gene therapy**, v. 28, p. 1061 – 1074, 8 2017.

VARANDA, C. et al. An Overview of the Application of Viruses to Biotechnology. **Viruses**, v. 13, 10 2021.

VASIC, D. et al. Allogeneic double-negative CAR-T cells inhibit tumor growth without off-tumor toxicities. **Science immunology**, v. 7, p. eabl3642 –, 4 2022.

VIGANÒ, M.; GIORDANO, R.; LAZZARI, L. Challenges of running a GMP facility for regenerative medicine in a public hospital. **Regenerative medicine**, v. 12, p. 803 – 813, 11 2017.

VITALE, C.; STRATI, P. CAR T-Cell Therapy for B-Cell non-Hodgkin Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemia: Clinical Trials and Real-World Experiences. **Frontiers in oncology**, v. 10, p. 849 –, 7 2020.

VITOLO, M. et al. (ed.). **Biotecnologia Farmacêutica: Aspectos Sobre Aplicação Industrial**. 1a. ed. [S.l.]: Blucher, 2015. 420 p. ISSN ISBN-13.

WALLACH, J. D. et al. Postmarket studies required by the US Food and Drug Administration for new drugs and biologics approved between 2009 and 2012: cross sectional analysis. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 361, p. k2031 –, 5 2018.

WALTHER, W.; STEIN, U. Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. **Drugs**, v. 60, p. 249 – 71, 9 2000.

WANG, C. et al. Developing an Anion Exchange Chromatography Assay for Determining Empty and Full Capsid Contents in AAV6.2. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 15, p. 257 – 263, 11 2019.

WANG, D.; GAO, G. State-of-the-art human gene therapy: part I. Gene delivery technologies. **Discovery medicine**, v. 18, p. 67 – 77, 8 2014.

WANG, J.; LIN, W.; HUANG, Y. A performance-oriented risk management framework for innovative R&D projects. **Technovation**, v. 30, n. 11-12, p. 601 – 601, December 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166497210000854>. Acesso em: 26 de maio de 2023.

WANG, N. et al. Comparison of transduction efficiency among various lentiviruses containing GFP reporter in bone marrow hematopoietic stem cell transplantation. **Experimental hematology**, v. 41, p. 934 – 43, 8 2013.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**, v. 171, p. 737 – 8, 4 1953.

WEAVER, R. J.; VALENTIN, J. Today's Challenges to De-Risk and Predict Drug Safety in Human "Mind-the-Gap". **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 167, p. 307 – 321, 10 2018.

WHO. 18th International Conference of Drug Regulatory Authorities (ICDRA) recommendations. **WHO Drug Information**, v. 32, n. 4, 2018. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330900>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

WHO. Availability, safety and quality of blood products. **World Health Assembly sixty-third session, agenda item 11.17**, World Health Organization, Geneva, 2010. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/3086>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

WHO. Considerations in developing a regulatory framework for human cells and tissues and for advanced therapy medicinal products. **WHO Technical Report Series POST-ECBS version**, March 2023. Disponível em: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/ecbs/who-public-consultation\\_cgtp-white-paper\\_16\\_dec\\_2021.pdf?sfvrsn=18f6c549\\_5](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/ecbs/who-public-consultation_cgtp-white-paper_16_dec_2021.pdf?sfvrsn=18f6c549_5). Acesso em: 23 de maio de 2023.

WHO. Good manufacturing practices for investigational products. **Annex 7, WHO Technical Report Series 1044**, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/trs1044-annex7>. Acesso em: 10/09/2023.

WHO. Good manufacturing practices for pharmaceutical products: Main principles. **WHO Technical Report Series 986, Annex 2**, 2014. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/trs986-annex2>. Acesso em: 10/09/2023.

WHO. Guidelines on good manufacturing practices for blood establishments. **WHO TRS N°961 World Health Organization**, 2011. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/gmp-for-blood-establishments-annex-4-trs-no-961>. Acesso em: 10/09/2023.

WHO. Guidelines on management of blood and blood components as essential medicines. **WHO TRS N°1004 World Health Organization**, 2013.

WHO. Handbook: good laboratory practice (GLP) / UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. **UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases**, 2001. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66894>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

WHO. Nomenclature schemes for advanced therapies (substances for gene therapies, substances for cell therapies, substances for cell-based gene therapies and virus-based

therapies). **Working Doc. 17.417 INN Nomenclature schemes for advanced therapies**, p. 1 – 6, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/inn-17-417>. Acesso em: 23 de maio de 2023.

WHO. Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Annex 3. **Technical Report Series 978**, p. 81 – 184, 2013. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/animal-cell-culture-trs-no-978-annex3>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

WHO. Scientific principles for regulatory risk evaluation on finding an adventitious agent in a marketed vaccine. **Technical Report Series**, World Health Organization, p. 63 – 87, 2015. Disponível em: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/cell-substrates/annex2\\_\\_adventitious\\_agent\\_in\\_marketed\\_vaccine\\_eng.pdf?sfvrsn=e5de04a\\_3&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/cell-substrates/annex2__adventitious_agent_in_marketed_vaccine_eng.pdf?sfvrsn=e5de04a_3&download=true). Acesso em: 10 de junho de 2023.

WHO. Second global consultation on regulatory requirements for human cells and tissues for transplantation: Towards global harmonization through graduated standards. **WHO/HTP/EHT/CPR/2006.01**, World Health Organization, 2006. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341776?locale-attribute=es&show=full>.

WHO. WHO Global Benchmarking Tool (GBT) for evaluation of national regulatory systems of medicines and vaccines. **Global Benchmarking Tool (GBT)**, 2021a. Disponível em: <https://www.who.int/tools/global-benchmarking-tools/VI>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

WHO. WHO model list of essential medicines - 22nd list. **Technical document**, World Health Organization, Geneva, 2021b. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02>. Acesso em: 05 de junho de 2023.

WILDE, S. de et al. Clinical development of gene- and cell-based therapies: overview of the European landscape. **Molecular therapy. Methods & clinical development**, v. 3, p. 16073 –, 12 2016a.

WILDE, S. de et al. Hurdles in clinical implementation of academic advanced therapy medicinal products: A national evaluation. **Cytotherapy**, v. 18, p. 797 – 805, 4 2016b.

WILLIAMS, D. J. et al. Precision manufacturing for clinical-quality regenerative medicines. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, v. 370, p. 3924 – 49, 7 2012.

WILSON, F. P.; BERNS, J. S. Tumor lysis syndrome: new challenges and recent advances. **Advances in chronic kidney disease**, v. 21, p. 18 – 26, 12 2013.

WILSON, R. F. The death of Jesse Gelsinger: new evidence of the influence of money and prestige in human research. **American journal of law & medicine**, v. 36, p. 295 – 325, 8 2010.

WIRTH, T.; PARKER, N.; YLÄ-HERTTUALA, S. History of gene therapy. **Gene**, v. 525, p. 162 – 9, 4 2013.

WOLD, W. S. M.; TOTH, K. Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy. **Current gene therapy**, v. 13, p. 421 – 33, 11 2013.

WORLD ECONOMIC FORUM. **Accelerating Global Access to Gene Therapies: Case Studies from Low- and Middle-Income Countries.** [S.l.], 2022. Disponível em: [https://www3.weforum.org/docs/WEF\\_Accelerating\\_Global\\_Access\\_to\\_Gene\\_Therapies\\_2022.pdf](https://www3.weforum.org/docs/WEF_Accelerating_Global_Access_to_Gene_Therapies_2022.pdf). Acesso em: 05 de junho de 2023.

WRIGHT, J. F. Codon Modification and PAMPs in Clinical AAV Vectors: The Tortoise or the Hare? **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 28, p. 701 – 703, 2 2020.

WRIGHT, J. F. Product-Related Impurities in Clinical-Grade Recombinant AAV Vectors: Characterization and Risk Assessment. **Biomedicines**, v. 2, p. 80 – 97, 5 2017.

YAMAGUCHI, T.; UCHIDA, E. Regulatory aspects of oncolytic virus products. **Current cancer drug targets**, v. 7, p. 203 – 8, 3 2007.

YANG, X. et al. Blood-retinal barrier as a converging pivot in understanding the initiation and development of retinal diseases. **Chinese medical journal**, v. 133, p. 2586 – 2594, 8 2020.

YLÄ-HERTTUALA, S. Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European union. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 20, p. 1831 – 2, 10 2012.

YODER, K. E. et al. Strategies for Targeting Retroviral Integration for Safer Gene Therapy: Advances and Challenges. **Frontiers in molecular biosciences**, v. 8, p. 662331 –, 5 2021.

YUSA, K.; YUSA, Y.; UCHIDA, K. Viral safety testing for biopharmaceuticals: Current and future prospects. **Translational and Regulatory Sciences**, v. 2, n. 3, p. 94 – 99, 2020. Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/trs/2/3/2\\_2020-017/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/trs/2/3/2_2020-017/_article). Acesso em: 10 de junho de 2023.

ZAKERI, A. et al. Polyethylenimine-based nanocarriers in co-delivery of drug and gene: a developing horizon. **Nano reviews & experiments**, v. 9, p. 1488497 –, 11 2018.

ZEISER, R. Advances in understanding the pathogenesis of graft-versus-host disease. **British journal of haematology**, v. 187, p. 563 – 572, 10 2019.

ZHAO, M. et al. T cell toxicity of HIV latency reversing agents. **Pharmacological research**, v. 139, p. 524 – 534, 10 2018.

ZHAO, Y.; STEPTO, H.; SCHNEIDER, C. K. Development of the First World Health Organization Lentiviral Vector Standard: Toward the Production Control and Standardization of Lentivirus-Based Gene Therapy Products. **Human gene therapy methods**, v. 28, p. 205 – 214, 7 2017.

ZHAO, Z.; ANSELMO, A. C.; MITRAGOTRI, S. Viral vector-based gene therapies in the clinic. **Bioengineering & translational medicine**, v. 7, p. e10258 –, 1 2022.

ZHENG, M. et al. Oncolytic Viruses for Cancer Therapy: Barriers and Recent Advances. **Molecular therapy oncolytics**, v. 15, p. 234 – 247, 12 2019.

ZHENG, Y. et al. Endogenous Type I CRISPR-Cas: From Foreign DNA Defense to Prokaryotic Engineering. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 8, p. 62 –, 3 2020.

ZHOU, K. et al. Routes of administration for adeno-associated viruses carrying gene therapies for brain diseases. **Frontiers in molecular neuroscience**, v. 15, p. 988914 –, 11 2022.

ZUFFEREY, R. et al. Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. **Journal of virology**, v. 72, p. 9873 – 80, 11 1998.



## **Anexos**

# PRODUÇÃO CIENTÍFICA

## Publicação de artigos científicos

### Publicados

- Silva Junior JB, Rodrigues E Silva AA, Melo FCC, Kumoto MC, Parca RM Consensus on genetically modified cells. Special Article: Advanced therapy medicinal products in Brazil: regulatory panorama. **Hematol Transfus Cell Ther.** 2021 Nov; 43 Suppl 2(Suppl 2): S68-S77. doi: 10.1016/j.htct.2021.09.010

- Gomes KLG, da Silva RE, Silva Junior JB, Novaes MRCC Comparison of new Brazilian legislation for the approval of advanced therapy medicinal products with existing systems in the USA, European Union and Japan[YF1]. **Cytotherapy.** 2022 May; 24 (5):557-566. doi: 10.1016/j.jcyt.2021.10.008.

- Gomes KLG, da Silva RE, da Silva JB Junior, Bosio CGP, Novaes MRCC Post-marketing authorisation safety and efficacy surveillance of advanced therapy medicinal products in Brazil, the European Union, the United States and Japan. **Cytotherapy.** 2023 Jul 12:S1465-3249(23)00981-7. doi: 10.1016/j.jcyt.2023.06.005

### Aprovado, aguardando publicação

- Kevin WDoxzen, Jennifer E. Adair, Yris Maria Fonseca Bazzo, João Batista Silva Júnior, Daima Bukini, Varsha Dalal, Renato Luiz Guerino-Cunha, Suradej Hongeng, Geeta Jotwani, Cissy Kityo-Mutuluuza, Krishnamurti Lakshmanan, Johnny Mahlangu, Julie Makani, Vikram Mathews, Margareth C. Ozelo, Savita Rangarajan, Janine Scholefield, Joseph M. McCune. The translational gap for gene therapies in low-and middle-income countries. **Science Translational Medicine**, 2023.

## Capítulos de Livro

### Publicados

- Silva Junior JB, Parca RM, Gomes KLG(2022). Terapia Avançada no Brasil: conceitos, inovação e regulação. Módulo II: Regulamentação em Biotecnologia. In: Fernandes, TL; Fregni, F (Orgs). Porque e Como Inovar na Saúde: trilha do empreendedorismo e inovação. 1ª ed. **Scholars in Medical Innovation**. ASIN: B0B4HTXKDQ Disponível em: <https://www.amazon.com.br/Porque-Como-Inovar-Sa%C3%BAde-empreendedorismo-ebook/dp/B0B4HTXKDQ>

- Junior, J.B.S., Parca, R.M., Carvalho, A.B(2023). Advanced Therapy Products in Brazil: Regulatory Aspects. In: Galli, M.C. (eds) Regulatory Aspects of Gene Therapy and Cell Therapy Products. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1430. **Nature Springer**, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-34567-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-031-34567-8_7)

## **Palestras ministradas eventos científicos:**

1- Palestra: “Produtos de terapias avançadas: a caminho do registro de produtos - Regulamentação da Terapia Celular no Brasil: registro de produtos”, no XXVIII Simpósio Internacional de Hemoterapia e Terapia Celular | III Fórum Internacional de Terapia Celular, organizado pelo Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, em 9 de abril de 2021.

2- Palestra: “Advanced Therapy (AT) and Orphan Regulatory Pathway in Brazil”, in Session 08: Orphan Drugs and Advanced Therapies for Rare Diseases: Bringing Transformational Treatments to Patients with Unmet Medical Needs, in Latin America Regulatory Conference, Mar 14, 2022 - Mar 16, 2022, Horsham, PA, United States.

3- Palestra “Regulação de Terapias Avançadas no Brasil: desafios nos ensaios clínicos”, em 1º Simpósio de Pesquisa Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e da Fundação Instituto de Pesquisas Farmacêuticas, realizado nos dias 7 e 14 de Maio de 2022.

4- Palestra “Ruta regulatoria de Terapias Avanzadas y Regulación de Medicamentos Huérfanos en Brasil”, 2h, 6 de setembro de 2022, na Academia Nacional de Ciencias Farmacêuticas, do México.

5- Apresentação de trabalho (poster) “Advanced therapy medicinal products in Brazil: conceptual and regulatory panorama,” 6th Brazilian Association of Pharmaceutical Sciences Congress, Brasília, Brazil, on November 4th - 6th, 2022.

6- Palestra Terapias Avançadas e Marco Regulatório, no Programa Educacional da Academia de Ciências Farmacêuticas do Brasil (ACFB), modalidade telemática, 18h00 às 19h30, em 15 de maio de 2023.