

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

LUANA DE AVILA BELLO FARIA

**PROCOLOS CLÍNICOS EM BETA TALASSEMIA**

SÃO PAULO

2023

LUANA DE AVILA BELLO FARIA

**Protocolos clínicos em beta talassemia**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo orientado pela Profa. Juliana Vieira dos Santos Bianchi e Prof. Fábio Mitsuo como requisito parcial para obtenção do título de Biomédico.

**São Paulo**

**2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo**

Faria, Luana de Avila Bello  
Protocolos clínicos em beta talassemia / Luana de Avila Bello. -- São  
Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.  
42 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro  
Universitário São Camilo, 2023.

1. Anemia 2. Mutação 3. Talassemia beta 4. Terapia genética I. Juliana  
Vieira dos Santos Bianchi II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 573.21

**Luana de Avila Bello Faria**

**PROTOCOLOS CLÍNICOS PARA BETA TALASSEMIA**

---

**Professor orientador (Juliana Vieira dos Santos Bianchi)**

---

**Professor examinador (Patricia Aparecida Ferreira de Oliveira)**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a todos que fizeram parte do meu percurso de 4 anos de graduação, desde a primeira prova até a apresentação final deste trabalho de conclusão de curso.

Dedico-o à minha mãe, que me apoiou ao longo de toda a minha jornada educacional, oferecendo suporte durante esses anos e sempre incentivando meu sonho de alcançar o objetivo de me tornar uma biomédica.

Ao meu irmão, que esteve ao meu lado em todos os momentos, especialmente nos momentos difíceis, sendo meu maior companheiro.

Dedico também aos meus colegas de sala, que sempre me apoiaram quando eu precisei e me incentivaram a seguir na área da minha escolha, mesmo nos momentos em que eu mesma duvidava.

## **AGRADECIMENTOS**

Sou imensamente grata à minha orientadora, Juliana, e ao meu coorientador, Fabio, que se transformaram em um modelo inspirador de profissionais a ser seguido. Eles desempenharam um papel fundamental em todo o processo de realização deste projeto. Desde a busca por artigos e trabalhos, até o constante incentivo e paciência que demonstraram, todas as reuniões, orientações e conversas ao longo dos meses foram de extrema relevância para o meu desenvolvimento e para a concretização deste trabalho.

## RESUMO

Anemias são alterações hematológicas que resultam na diminuição de eritrócitos e hemoglobina, essenciais no transporte de oxigênio. Este quadro laboratorial pode ser classificado levando em consideração algumas características fisiopatológicas e morfológicas. As talassemias constituem um grupo de anemias hereditárias caracterizadas pela redução ou ausência da síntese de um dos tipos de cadeias de globina responsáveis pela formação da hemoglobina, sendo classificada em alfa talassemia, quando o defeito está na produção de cadeias alfas ou beta talassemia, com defeito nas cadeias betas. O principal desafio está em pacientes beta talassemicos maiores, onde são dependentes de transfusão, e podem levar a complicações como sobrecarga de ferro, aloimunização, além da falta de doadores disponíveis. Desta forma o objetivo deste trabalho foi abordar a terapia gênica como forma de tratamento para estes pacientes, a fim de corrigir as mutações encontradas no código genético que levam à beta talassemia, e levantar dados para discussão da abordagem e eficiência dos protocolos clínicos que estão em andamento.

Palavras-chave: Beta talassemia; anemia; mutações; terapia gênica

## **ABSTRACT**

Anemias are hematological changes that result in a decrease in erythrocytes and hemoglobin, essential in the transport of oxygen. This laboratory condition can be classified taking into account some pathophysiological and morphological characteristics. Thalassemia constitutes a group of hereditary anemias characterized by the reduction or absence of synthesis of one of the types of globin chains responsible for the formation of hemoglobin, being classified as alpha thalassemia, when the defect is in the production of alpha chains, or beta thalassemia, with a defect in beta chains. The main challenge is in major beta thalassemic patients, where they are transfusion dependent, and can lead to complications such as iron overload, alloimmunization, in addition to the lack of available donors. Therefore, the objective of this work was to approach gene therapy as a form of treatment for these patients, in order to correct the mutations found in the patient's genetic code that lead to beta thalassemia, and to collect data to discuss the approach and efficiency of clinical protocols that are in progress.

Keywords: beta thalassemia; anemia; mutations; gene therapy

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – proteína do gene da hemoglobina beta humana .....	18
Figura 2 – transdução células CD34+ .....	27
Figura 3 – inibição da produção de de $\gamma$ globina por BCL11A .....	33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – principais mutações na beta talassemia maior.....	19
Tabela 2 – dados dos estudos incluídos.....	25

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 – metodologia de pesquisa.....	23
---	----

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - <i>Status</i> estudos excluídos.....	24
Gráfico 2 – <i>Status</i> estudos incluídos .....	24
Gráfico 3- Quantidade de participantes totais e dos que atingiram a independência transfusional .....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS

HbA – Hemoglobina A

HbF – Hemoglobina fetal

PCR - Técnica de reação em cadeia da polimerase

DF – Doença falciforme

VCN - Número médio de cópias de vetor

EPO - Eritropoetina

RIC - Condicionamento de intensidade reduzida

DNA – Ácido desoxirribonucleico

NCBI - *National Center for Biotechnology Information*

NCT – Núcleo *Clinical Trials*

AVC - Acidente Vascular Cerebral

CH – Concentrado de hemácia

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

HLA - Antígeno leucocitário humano

HCl - Cloreto de hidrogênio

G-CSF – Fator estimulador de colônias granulocitárias

CRISPR - repetições palíndromas curtas agrupadas regularmente interespaçadas

SNPs - Single nucleotide polymorphism

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1 DIAGNÓSTICO .....	16
1.2 TRATAMENTOS .....	17
1.3 COMPLICAÇÕES DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA .....	17
1.3.1 Sobrecarga de ferro.....	17
1.3.2 Aloimunização .....	18
1.4 ASPECTOS MOLECULARES DA BETA TALASSEMIA MAIOR .....	18
<b>2 OBJETIVO</b> .....	21
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	22
<b>4 RESULTADOS</b> .....	24
4.1 LENTIGLOBIN BB305.....	26
4.1.1 NCT01745120 .....	26
4.1.2 NCT02151526.....	26
4.2 TNS9.3.55.....	29
4.3 CTX001 .....	33
4.4 GLOBE .....	35
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40

## 1. INTRODUÇÃO

A anemia é um quadro caracterizado pela diminuição dos níveis de hemoglobina, que podem variar de indivíduo para indivíduo dependendo do sexo e idade. Este quadro laboratorial pode ser classificado levando em consideração alguns critérios, podendo ser fisiopatologicamente por falta de produção de hemoglobina, por aumento de destruição ou por perda sanguínea, além de podermos classificá-las por alterações morfológicas (HOFFBRAND,2018).

As talassemias constituem um grupo de anemias hereditárias caracterizadas pela redução ou ausência da síntese de um dos tipos de cadeias de globina que formam as hemoglobinas, sendo classificada em alfa talassemia, quando o defeito está em genes ligados à produção de cadeias  $\alpha$ -globínicas ou beta talassemia, quando a alteração está em globinas  $\beta$  (HOFFBRAND, 2018).

A produção destas cadeias é regulada por genes de localizações específicas, sendo o braço curto do cromossomo 16 responsável pela síntese de cadeia alfa, e no braço curto do cromossomo 11, os genes responsáveis pela cadeia do tipo beta. Em um indivíduo normal, encontramos hemoglobinas do tipo A (HbA) ( $\alpha_2 \beta_2$ ) em média de 96 a 98%, hemoglobina A2 (HbA2) ( $\alpha_2 \delta_2$ ) em 2 a 3% e emoglobina fetal (HbF) ( $\alpha_2 \gamma_2$ ) de 0 a 1% (PITOMBEIRA et al., 2002).

Em pacientes beta-talassêmicos, a doença pode aparecer sob três formas clínicas: talassemia major, a forma mais grave do quadro, dependente de transfusões e que corresponde aos homozigotos, ou heterozigotos compostos. A segunda forma é a talassemia intermediária, forma sintomática, mas menos grave, que normalmente não dependem de transfusões, e o talassêmicos menores, onde são heterozigotos clinicamente assintomáticos, onde não há necessidade de tratamento (BRAUNSTEIN et al., 2022).

Enquanto na talassemia menor e intermediária, os portadores podem apresentar uma leve anemia, na major a produção de hemoglobina é falha, dando origem a glóbulos vermelhos mais frágeis e com menor tempo de vida, comprometendo o transporte de oxigênio para o organismo (BRAUNSTEIN et al., 2022).

Estes comprometimentos podem levar a complicações para o paciente como, problemas cardíacos, onde o coração tenta compensar a falta de hemoglobina e redução de oxigênio, batendo mais rapidamente e causando taquicardia e aumento da pressão arterial. Os talassêmicos heterozigotos ainda possuem manifestações clínicas que podem variar em graus de hiperplasia eritroide da medula óssea, esplenomegalia e deformidades do esqueleto evidentes nos ossos do rosto e do crânio (HOFFBRAND, 2018).

### 1.1 DIAGNÓSTICO

Existem diferentes meios de diagnóstico para a beta talassemia, no qual a história clínica e a avaliação física do paciente, podem ser o início da investigação. O médico pode suspeitar da doença quando o paciente apresenta fadiga, palidez, icterícia e atraso no crescimento. Por ser uma doença hereditária, pode ser investigado o histórico familiar (BRAUNSTEIN, et al., 2022).

Para avaliar o perfil hematológico do paciente são realizados exames sanguíneos entre eles o hemograma completo, onde será feita a contagem dos glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas. Além disso será avaliado perfil para a anemia hemolítica, com a presença de hemoglobina inferior a 9g/dL, microcitose (diminuição no tamanho dos eritrócitos), indicado pelo VCM e hipocromia. Outro exame realizado é a eletroforese da hemoglobina, onde é possível medir os tipos diferentes de hemoglobina presentes. Nos pacientes betas talassemicos é comum encontrar um aumento nas hemoglobinas da HBA (entre 2,0% e 2,5%.) ou da HbA2 (>4% até 8%) (BRAUNSTEIN, et al., 2022).

Para a identificação específica dos genes responsáveis pela produção da cadeia beta, o teste molecular é utilizado, utilizando PCR (técnica de reação em cadeia da polimerase). Este método é usado amplificando especificamente as regiões específicas do DNA que contém os genes alvos para produção da beta globina, utilizando *primers* complementares às mutações mais encontradas. Outro método complementar ao PCR, é o sequenciamento direto do DNA, que permita a análise do gene da globina alvo, podendo detectar as possíveis mutações (GALANELLO, et al. 2010).

## 1.2 TRATAMENTOS

O principal desafio para pacientes com beta talassemia major são os atuais tratamentos. Pacientes como estes dependem de transfusões recorrentes de concentrado de hemácias e transplantes de células tronco alogênicas, quando possível, pela sua difícil compatibilidade doador-receptor, o que pode levar a uma expectativa de vida mais baixa para estes indivíduos, principalmente em decorrência de complicações transfusionais regulares (HOFFBRAND, 2018).

Estas transfusões devem ser apoiadas por terapia de quelação de ferro apropriada, onde uma substância ativa é capaz de se ligar ao ferro da hemoglobina, produzindo um composto que poderá ser excretado do organismo, e não causando uma sobrecarga, levando à hemocromatose adquirida (BRAUNSTEIN et al., 2022).

## 1.3 COMPLICAÇÕES DA TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS

O primeiro desafio dos pacientes talassêmicos dependentes de transfusões, é a falta de doadores de sangue disponíveis, retardando o processo de recebimento do hemocomponente. Além disso, estes sujeitos também correm o risco de infecções transmitidas por transfusões, a menos que práticas apropriadas de triagem sanguíneas estejam em vigor. Outros eventos adversos a transfusões sanguíneas podem aparecer, como reações hemolíticas, choque infeccioso, reações alérgicas graves, aloimunizações e doenças relacionadas à sobrecarga de ferro, quando não aplicada corretamente a terapia de quelação de ferro. (BRAUNSTEIN et al., 2022)

### 1.3.1 Sobrecarga de ferro

Por se tratar de uma transfusão de hemácias, o sangue transfundido contém ferro, que na maioria das vezes não consegue ser excretado do corpo, causando uma toxicidade podendo acumular no coração, fígado e sistema endócrino, e levando a uma insuficiência cardíaca se não tratado. Além disso, essa sobrecarga também aumenta o risco de fibrose hepática, cirrose e distúrbios endócrinos, como retardo de crescimento, infertilidade, hipotireoidismo e diabetes. Portanto, a terapia de quelação de ferro, como o uso de Desferroxamina, Deferiprone e Deferasirox, os primeiros

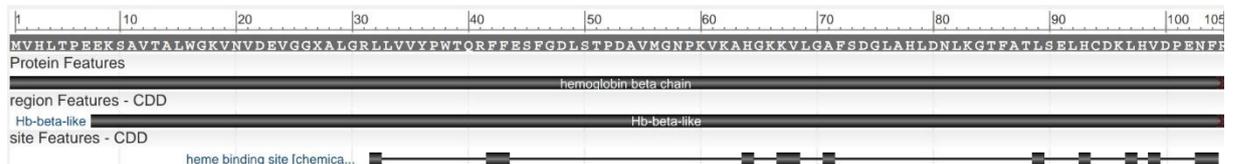
agentes quelantes, são essenciais na prevenção de complicações, e deve ser iniciada dentro de um ano após o início das transfusões regulares do sangue, melhorando a sobrevida do paciente. (BRAUNSTEIN et al., 2022)

### 1.3.2 Aloimunização

O desenvolvimento de anticorpos contra antígenos eritrocitários específicos, ocorre entre 10-20% dos pacientes dependentes de transfusão, sendo os mais comuns o anti-E, anti-C e anti-Kell. Por isso, se torna importante o rastreamento do sangue de doadores e pacientes, para que recebam sangue compatível com antígenos, incluindo ABO, Rh e Kell. (CRUZ et al, 2011)

## 4.6 ASPECTOS MOLECULARES DA BETA TALASSEMIA MAIOR

**Figura 1** - proteína do gene da hemoglobina beta humana



Fonte: NCBI, 2023

A beta talassemia vista molecularmente é caracterizada por uma mutação, mais comum pontualmente, no gene HBB, que codifica a unidade beta da hemoglobina, ou seja, ocorre alteração em apenas um único nucleotídeo da cadeia. No caso da beta talassemia major, ambos os alelos betas sofrem a mutação, sendo identificado como beta 0/beta 0. Foram identificados mais de 200 tipos destas mutações no gene HBB, nos quais poderiam estar localizados em qualquer lugar dentro do segmento de DNA (MARTINHO et al, 2016).

Para a confirmação do diagnóstico molecular, é comum fazer a pesquisa da eletroforese da hemoglobina, onde em pacientes beta talassêmicos maiores, encontra-se uma leve elevação da hemoglobina A2 e um maior aumento na hemoglobina F, podendo chegar até 90%. Para diagnóstico pré-natal e em

aconselhamento genético, é comum o estudo do DNA a partir do PCR (*polimerase chain reaction* – reação de cadeia em polimerase) (BRAUNSTER, 2022).

Um estudo feito em Fortaleza com pacientes portadores da beta talassemia, isolou o DNA a partir de leucócitos e analisou mutações dos genes utilizando o PCR. Além disso foi usado como diagnóstico a contagem de células sanguíneas automatizada, com revisão de lâmina, o uso de resistência osmótica em NaCl em uma concentração de 0,36% e pela eletroforese da hemoglobina (ROCHA, et al., 2010).

As principais mutações achadas foram  $\beta^0$  CD 39,  $\beta^+$  IVS-I-110,  $\beta^0$  IVS-I-1,  $\beta^+$  IVS-I-6, apresentadas na tabela abaixo (ROCHA, et al., 2010).

**Tabela 1** – principais mutações na beta talassemia mjiior

MUTAÇÃO	LOCAL	MECANISMO
CD 39	CÓDON 39	Formação de códons de terminação na região codificadora do DNA, impedindo a tradução e produção da cadeia beta
IVS - I - 1- 110	Nucleotídeo 110 do íntron 1	Criação de um sítio adicional de <i>splicing</i> , alterando a fase de leitura e levando a produção de uma proteína diferente da original (troca de Adenina por Guanina)
IVS - I - 1	Nucleotídeo 1 do íntron 1	Não ocorre a retirada do íntron, impedindo a síntese da cadeia Beta, por uma troca de Guanina por Adenina
IVS - I - 6	Nucleotídeo 6 do íntron 1	Redução da eficácia do <i>splicing</i> , por afetamento no processamento do RNA, causada por uma troca de Adenina por Guanina

Com isto, uma nova técnica vem sendo estudada e utilizada para a cura da talassemia major: a terapia gênica, a qual consiste em um tratamento que tem como objetivo corrigir essas principais mutações encontradas por meio da modificação no código genético do paciente. Na talassemia, o alvo da reparação do gene, se trata da inserção de um gene saudável da beta globina no DNA do paciente, por meio dos vetores. A partir desta prática, é possível eliminar ou reduzir a necessidade de transfusões de hemácias a longo prazo, sem efeitos adversos graves (ALMEIDA, 2019).

## **2. OBJETIVO**

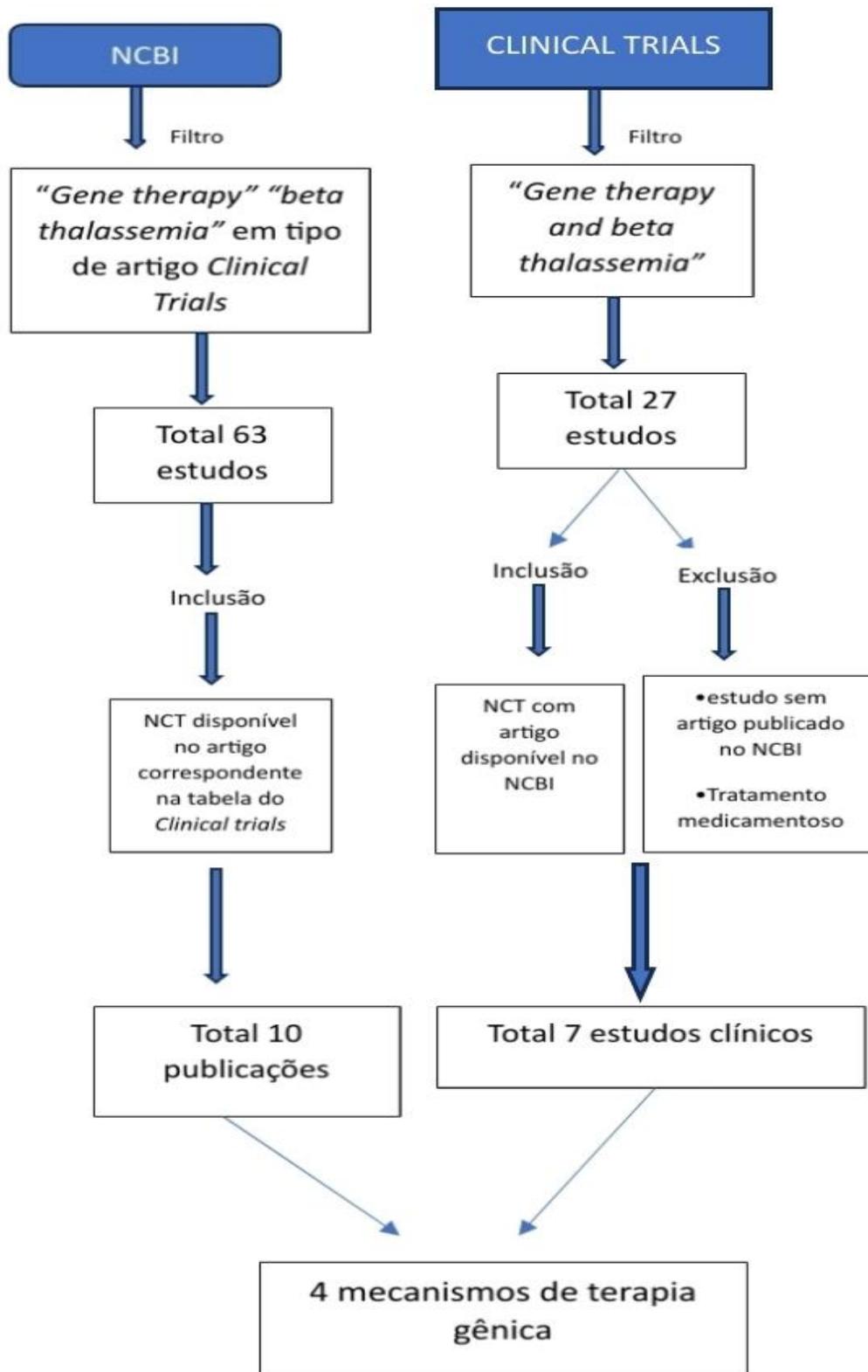
Realizar levantamento estatístico sobre os protocolos de pesquisa clínica, segundo o banco de dados do *Clinical trials*, envolvendo terapia gênica em pacientes com Beta talassemia maior.

### 3. METODOLOGIA

Foi realizada uma busca na plataforma *Clinical Trials* com as palavras-chave “*gene therapy and beta thalassemia*”, onde encontrou-se um total de 27 estudos relacionados à pesquisa. Foi conduzido uma pesquisa paralela na base de dados do NCBI, utilizando as mesmas palavras-chave.

Procedeu-se com a exclusão daqueles estudos clínicos que não possuíam um número de identificação NCT correspondente no NCBI, bem como estudos que se concentravam em tratamentos medicamentosos. Isso resultou em um total de 7 estudos incluídos para a análise divididos em 4 mecanismos de terapia gênica, conforme demonstrado no fluxograma 1. Os estudos encontrados servirão como base para a análise e discussão na pesquisa.

Fluxograma 1 - metodologia de pesquisa



## 4. RESULTADOS

No banco de dados do *clinical trials*, foi encontrado um total de 27 estudos quando aplicado o filtro “beta talassemia and gene therapy”, apresentando 7 estudos completos, 5 estudos com *status* desconhecido, 8 inscrevendo ou recrutando participantes, 5 ativos mas não em recrutamento e 2 estudos que não iniciaram o recrutamento.

**Gráfico 1** – *Status* estudos excluídos



**Gráfico 2** – *Status* estudos incluídos



Conforme descrito na metodologia, 7 estudos foram incluídos (tabela 2) organizados em 4 protocolos de terapia gênica para Beta talassemia.

**Tabela 2** – dados dos estudos incluídos

<b>TÍTULO ESTUDO</b>	<b>NCT</b>	<b>STATUS</b>	<b>INTERVENÇÃO</b>	<b>IDADE</b>	<b>PARTICIPANTES</b>	<b>FASE DE ESTUDO</b>
<b>Estudo que avaliou a segurança e eficiência do medicamento LentiGlobin BB305 na talassemia <math>\beta</math> maior (também referida como <math>\beta</math> talassemia dependente de transfusão) e na doença falciforme</b>	NCT02151526	completo com resultados	LentiGlobin BB305	5 a 35 anos	7	fase 1 e 2
<b>Um estudo avaliando a segurança e eficácia do medicamento LentiGlobin BB305 em participantes <math>\beta</math> talassemia principais</b>	NCT01745120	completo com resultados	LentiGlobin BB305	12 a 35	19	fase 1 e 2
<b>Seguimento a longo prazo de indivíduos com <math>\beta</math> talassemia dependente de transfusão (TDT) tratados com terapia gênica <i>ex vivo</i></b>	NCT02633943	inscrevendo-se	LentiGlobin BB305	0 a 50	66	não apresentado
<b>Estudo que avaliou a eficácia e segurança do medicamento LentiGlobin BB305 em participantes com <math>\beta</math> talassemia dependente de transfusão, que não tem genótipo <math>\beta^0/\beta^0</math></b>	NCT02906202	completo sem resultados	LentiGlobin BB305	0 a 50	23	fase 3
<b>Terapia gênica para Beta talassemia dependente de transfusão</b>	NCT02453477	desconhecido	vetor lentiviral GLOBE	acima de 3	10	fase 1 e 2
<b><math>\beta</math> talassemia maior com células progenitoras hematopoiéticas CD34+ autólogas transduzidas com TNS9.3.55, um vetor lentiviral que codifica o gene da <math>\beta</math>-globina humana</b>	NCT01639690	ativo	TNS9.3.55	mínimo 18	10	fase 1
<b>Um estudo de segurança e eficácia avaliando CTX001 em indivíduos com <math>\beta</math>-talassemia dependente de transfusão</b>	NCT03655678	ativo	CTX001	12 a 35	45	fase 2 e 3

## **4.1 LENTIGLOBIN BB305**

Nos resultados apresentados, foram observados dois estudos de fase 1-2 NCT01745120 e NCT02151526, respectivamente, em um total de 22 pacientes beta talassêmicos e 4 com doença falciforme.

### **4.1.1 NCT01745120**

No estudo clínico (ASMAL, 2012) foram incluídos 7 participantes, sendo 3 com doença falciforme (DF) e 4 com beta talassemia, onde os critérios de inclusão foram:

- Ter entre 5 e 35 anos de idade.
- Ter DF grave (crises vaso-oclusivas recorrentes, AVC, osteonecrose de 2 ou mais articulações, presença de cardiomiopatia falciforme e síndrome torácica aguda) ou talassemia beta major dependente de transfusão, independentemente do genótipo com diagnóstico confirmado por estudos de Hb. A dependência transfusional é definida como a necessidade de pelo menos 100 mL/kg/ano de concentrado de hemácias.
- Ser elegível para transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), mas sem um doador aparentado compatível.
- Estar disposto e apto, na opinião do pesquisador, a cumprir os procedimentos do estudo descritos no protocolo do estudo.
- Foram tratados e acompanhados por pelo menos 2 anos em um centro especializado que mantinha registros médicos detalhados, incluindo histórico de transfusão.

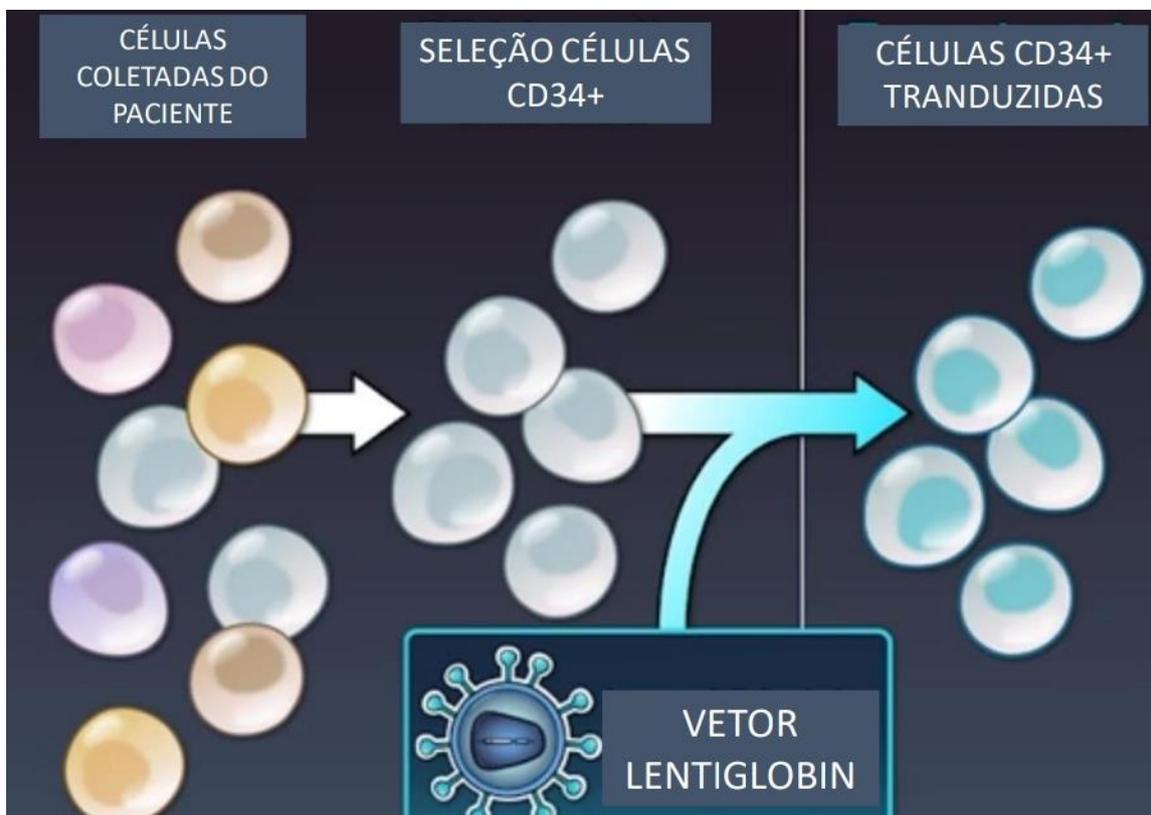
### **4.1.2 NCT02151526**

No segundo estudo (RIBEIL, 2014) foram incluídos 18 participantes com critério de inclusão de:

- Participantes entre 12 e 35 anos de idade
- Diagnóstico de  $\beta$ -talassemia major e história de pelo menos 100 mL/kg/ano de concentrado de hemácia (CH) ou  $\geq 8$  transfusões de CH por ano nos últimos 2 anos.
- Elegível para transplante alogênico de medula óssea.
- Tratada e acompanhada por pelo menos os últimos 2 anos em um centro especializado que mantinha registros médicos detalhados, incluindo história transfusional.

Em ambos os estudos, nos pacientes com beta talassemia dependente de transfusão, foram utilizadas células-tronco hematopoiéticas CD34+ autólogas transduzidas com vetor lentiviral que possui a capacidade de integrar no genoma de células em divisão ou não, o BB305, capaz de codificar o gene da hemoglobina adulta e fabricando o medicamento LentiGlobin. Este vetor causa a substituição de um aminoácido T87Q, codificando a HbA e permitindo a quantificação precisa da expressão terapêutica da globina derivada do vetor *in vivo* (THOMPSON, 2018).

**Figura 2** – transdução células CD34+



Fonte: Thompson, 2018

Os participantes, primeiramente, passaram por um processo de condicionamento com o medicamento bulsufano, uma quimioterapia que precede o procedimento de infusão das células-tronco (SERPA, 2021), e foram reinfundidas as células nos pacientes, sendo monitorados para eventos adversos, integração de vetores e níveis de hemoglobina total e HbA, além da necessidade de transfusão posterior à infusão (THOMPSON, 2018).

Os 22 pacientes foram acompanhados dentro de um período de 26 meses após a infusão, onde nenhum evento adverso ao medicamento foi observado. Todos os eventos que foram notificados até última publicação, ocorreram após o condicionamento com bulsulfano, onde dois tiveram doença hepática veno-oclusiva, mas que foram tratadas e não interferiram nos estudos (MAGRIN et al, 2022).

Do total de pacientes, 13 tinham um genótipo não- $\beta^0/\beta^0$ , onde 12 pararam de receber transfusões de hemácias após a terapia, e apresentaram um número de HbA<sup>T87Q</sup> na média de 6g/dL a mediana de hemoglobina total foi de 11,2 g/dL. Em contrapartida, os 9 pacientes com genótipo  $\beta^0/\beta^0$  e com homozigose para a mutação IVS1-110, 6 pacientes não atingiram a independência transfusional, mas reduziram em média 74% no número anual de transfusões comparado com os 2 anos anteriores à inclusão do estudo. Além disso, atingiram um nível de HbA<sup>T87Q</sup> em 4,2 g/dL em média. Os outros 3 participantes com  $\beta^0/\beta^0$  genótipo ou duas cópias da mutação IVS1-110, também atingiram a independência transfusional no período de 14 a 20 meses pós infusão gênica, e a HbA<sup>T87Q</sup> variou de 6,6g a 8,2 g/dL, e a hemoglobina total de 8,3 a 10,2 g/dL (THOMPSON, 2018).

Fatores como idade, genótipo e *status* de esplenectomia não pareceram se relacionar com a expressão gênica. No tratamento dos 22 pacientes, 7 expressaram em média 8 g/dL, da hemoglobina alvo, aproximando dos valores de normalidade, sendo 3 com genótipo  $\beta^0/\beta^0$  ou com a mutação grave para IVS1-110, com a independência transfusional há mais de 1 ano, de quando o estudo foi publicado, e um número de cópias vetoriais superiores a 0,6 do Lentivirus (MAGRIN et al, 2022).

Estes resultados sugerem que, caso as taxas de transdução das células hematopoiéticas possam ser melhoradas, pacientes com beta talassemia major

dependentes de transfusão, poderão alcançar esta independência e o aumento da expectativa de vida (LOCATELLI et al, 2022).

Após 21 meses de infusão, foi publicado um estudo onde um paciente correspondente ao NCT01745120 voltou para as transfusões, e foi detectado um quadro de HIV do tipo selvagem, onde o vírus mantém sua capacidade normal de replicação. Este foi o único caso de HIV publicado a partir desta terapia gênica (MAGRIN et al, 2022).

No histórico deste paciente, foi relatado que ele estava recebendo 14 episódios de transfusão anuais, durante os 2 anos anteriores à inclusão no estudo. Conforme os critérios de inclusão, ele testou negativo para HIV – 1 e HIV – 2. O paciente passou por novas transfusões pós terapia, durante 3,5 meses, e interrompeu durante 17 meses, onde sua Hb total estava em 9,5 g/dL e sua HbA<sup>T87Q</sup> em 3,8 g/dL. No 21º, ele voltou a necessitar de transfusões mensais, após queda de 3 meses na Hb total, que foi de 6 g/dL e HbA<sup>T87Q</sup> para 2,9 g/dL (HONGENG et al, 2021).

Isso pode ter ocorrido pois o Lentivirus BB305 usado para o tratamento, também contém sequências mínimas selecionadas de HIV, mas necessárias para o empacotamento do genoma viral e a transdução de células hospedeiras, porém não é um caso convencional, pois este Lentivirus possui menos de 25% do genoma do HIV (MAGRIN et al, 2022).

Após 1 mês confirmado o diagnóstico de HIV, o paciente e apresentava sua vaga viral em 70 cópias por ml, e começou o tratamento com antirretroviral. 20 meses após o uso do medicamento, teve sua carga viral diminuída para 40 cópias por mL. Além disso, o paciente apresentou anemia, quadro comum em casos de HIV, o que levou à volta de transfusões sanguíneas 1,5 ano após a terapia gênica. Com 6 meses após o início do tratamento com retroviral, o paciente apresentou um aumento nos níveis de Hb total e, desde seu último acompanhamento, o paciente estava 13,4 meses sem realizar transfusão (MAGRIN et al, 2022).

## 4.2 TNS9.3.55

Um estudo de fase 1, de NCT01639690 (SCARADAVOU, 2012) teve como objetivo avaliar a segurança e eficácia de uma terapia gênica, usando células progenitoras hematopoiéticas CD34+ autólogas transduzidas com o vetor TNS9.3.55. Dos 10 participantes atuais do estudo, 4 diagnosticados com beta talassemia major, possuem dados na publicação onde entre os pacientes estavam 2 mulheres e 2 homens, com idade entre 18 e 39 anos. Um paciente tinha como genótipo  $\beta^0/\beta^0$  e dos outros três, um apresentava a mutação grave IVSI-1 10. Antes da inclusão no estudo, os pacientes recebiam volume médio de transfusão de 177 – 271 mL/Kg/ano (BOULAD et al, 2022).

O uso deste vetor tem como mecanismo, transduzir células tronco hematopoiéticas CD34+, para estas codificarem elementos regulatórios selecionados onde desempenham funções da expressão gênica no mesmo cromossomo da sequência de um gene que irá ser transcrito e que assim permitiram a expressão terapêutica da globina  $\beta$ , levando à capacidade dos eritrócitos de sintetizar beta globina e elevando a hemoglobina. Foi usado como parâmetro, a mutagênese insercional e a geração de um Lentivírus competente para a replicação, a expressão de beta globina transduzida pelo gene e a eficácia do protocolo (requerimento de transfusões pós transplantes) (BOULAD et al, 2022).

Para o estudo, foram usados os seguintes critérios de inclusão:

- Os pacientes devem ter 18 anos ou mais
- Os pacientes podem ser de ambos os sexos ou de qualquer origem étnica
- Os indivíduos devem ter um diagnóstico confirmado de  $\beta$ -talassemia major e terem sido inscritos em um programa de hiper transfusão com uma transfusão anual confirmada de  $\geq 100$  mL/kg/ano, mas  $< 200$  mL/kg/ano, ou  $\geq 8$  transfusões de sangue por ano durante um período mínimo de dois anos.
- Os pacientes não devem ter um irmão compatível com HLA.
- Os pacientes devem estar fora do tratamento com hidroxiuréia (HU) ou eritropoetina (EPO) durante, pelo menos, três meses antes da entrada no estudo.

- Os pacientes devem ter uma pontuação de desempenho de Karnofsky  $\geq 70\%$  no momento da entrada no estudo.
- Os indivíduos devem ter valor de ferro hepático de  $< 15$  mg/g/peso seco
- Os indivíduos não devem ter evidência de cirrose do fígado.
- Indivíduos com função pulmonar assintomática baseada no teste de capacidade de difusão pulmonar para o monóxido de carbono maior que 50% do previsto.
- Indivíduos com determinação da função renal com base em: creatinina sérica menor ou igual a 1,5 mg/dL.

Após a inserção do gene, foi feito o acompanhamento dos 4 pacientes com talassemia dependente de transfusão, no período de 6 a 8 anos. Este mesmo vetor já havia sido testado em dois modelos de camundongos, corrigindo a beta talassemia, e produzindo um aumento médio de 4 gramas na hemoglobina. Os pacientes passaram por um condicionamento de intensidade reduzida (RIC), um modelo onde resulta em citopenias prolongadas, requerindo o suporte com células tronco hematopoiéticas em doses menores (SCARADAVOU,2012).

Após a mobilização com G-CSF, foram coletadas por aférese, uma média de  $16,0 \times 10^6$  de células CD34+/kg, e receberam uma dose média de células transduzidas com o vetor de  $9,0 \times 10^6$ / kg, administradas em duas alíquotas sucessivas. Nenhum problema de segurança ou efeito adverso foram relatados, relacionado a terapia ou ao condicionamento mieloablativo. Neste estudo foi usado o mecanismo RIC, que diminui a possibilidade de toxidades graves, relacionadas ao uso do bulsufano, onde foi diminuída neste estudo (BOULAD et al, 2022).

Para a análise da marcação dos genes, foi utilizado o método de PCR quantitativo na medula óssea e no sangue periférico, para medir o número médio de cópias de vetor (VCN). 12 meses após a infusão, foi observado um VCN de 0,04 cópias na medula óssea, e de 0,03 nas células do sangue periférico, com um intervalo de 0,01 – 0,08. Após 94 meses foi novamente calculado, apresentando um VCN igual de 0,03 no sangue periférico, mas com intervalo de 0,01 – 0,11, sendo o mais alto o paciente mais jovem do estudo e o único esplenectomizado (BOULAD et al, 2022).

Após o transplante o requisito de transfusões foi reduzido por um período, mas voltou a ser regular, igualando aos níveis anteriores à terapia. Dois pacientes tiveram os episódios reduzidos de forma mais duradoura, sendo uma mulher de 18 anos (paciente 2), com genótipo  $\beta^0/\beta^+$ . Esta paciente recebeu um menor número de células CD34+ transduzidas com o vetor no grupo, e o maior VCN no sangue periférico, de 0,11 no último acompanhamento. Antes da terapia ela recebeu em média 214 mL/kg/ano de transfusão de concentrado de hemácias, tendo uma queda para 101 mL/Kg/ano após 8 anos do tratamento. O outro paciente (paciente 4), também de 18 anos, e com o mesmo genótipo, recebeu um total de  $7,37 \times 10^6$  de células CD34+/kg em duas etapas, e apresentou um VCN de 0,06 no último acompanhamento. Sua necessidade de transfusão caiu de 27mL/kg/ano para 145 ml/kg/ano (BOULAD et al, 2022).

Este estudo tornou-se desafiador, pois, não era possível distinguir cadeias  $\beta$  endógenas e as codificadas pelo vetor, intensificando por conta das transfusões recebidas pós-tratamento. Devido a esta dificuldade em analisar as cadeias codificadas pela terapia, analisou-se colônias hematopoiéticas, com uma cópia do vetor, por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, para estudar a expressão de globina beta/alfa, em um único paciente (paciente 2), que recebeu o menor número de transfusão, e observou-se um aumento da média na expressão da globina beta de 0,11 para 0,39. Além disso, foi feita uma análise da medula óssea, e no mês 24 houve uma diminuição no número de eritroblastos ortocromáticos e reticulócitos, acompanhado da queda de necessidade de transfusões (BOULAD et al, 2022).

Um outro estudo usando vetor lentiviral em células-tronco hematopoiéticas para tratar a anemia falciforme, utilizou do mesmo mecanismo de condicionamento da medula, e mostrou-se promissor, com uma marcação gênica aumentada em 2-4x após 6 meses do tratamento. Isso descartou que o baixo número de cópias por vetor constatado no estudo, não alcançando a independência transfusional, foi dada pela falta de eficiência de transdução do vetor, sem relação com a intensidade do condicionamento RIC (GRIMLEY et al, 2020).

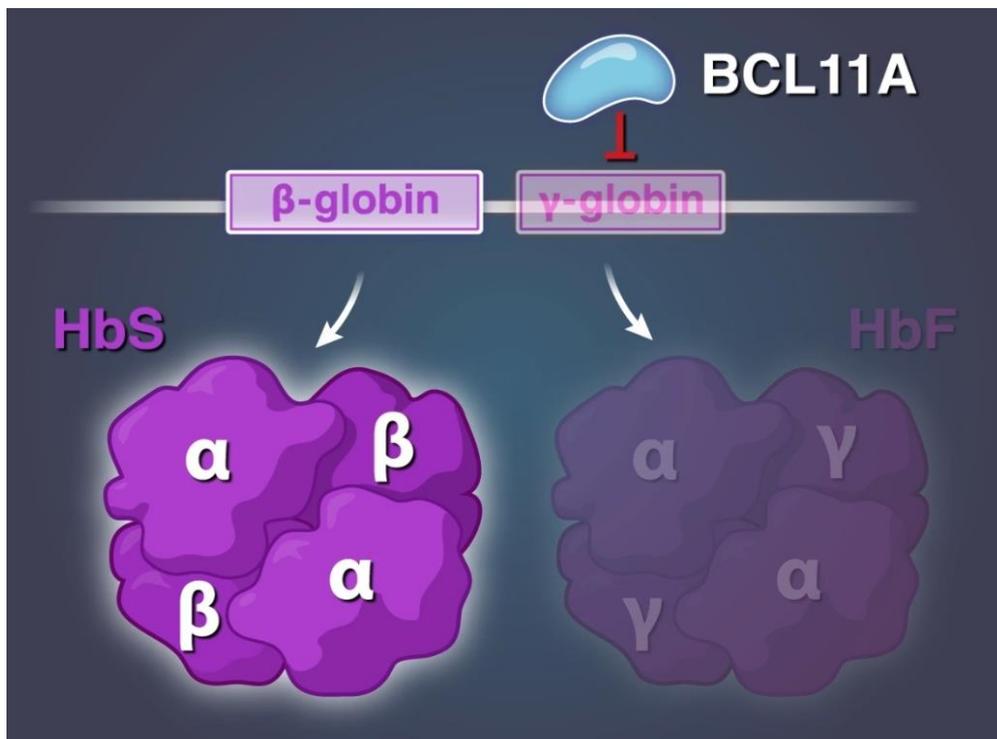
Por fim, a eficácia da terapia gênica não foi alcançada, onde os 4 pacientes continuaram recebendo transfusões de hemácias pós inserção do gene, devido à limitação de transdução do vetor, sendo comprovado pelo baixo VCN dos 4 pacientes,

tendo 1 paciente com melhor resposta, um dos pacientes mais jovens e único esplenectomizado, podendo ser discutido se estes foram fatores contribuintes. Com base em outros estudos, se espera um VCN maior que 0,3 (THOMPSON, 2018) para alcançar a independência, onde no presente estudo foi de 0,15.

### 4.3 CTX001

Um estudo experimental de fase 2 e 3, de NCT03655678 (VERTEX, 2018), relatando o caso de dois pacientes tratados com CTX001, um com talassemia dependente de transfusão e o outro com doenças falciforme (DF), utilizou células-tronco hematopoiéticas autólogas modificadas por CRISPR – Cas9, capaz de direcionar inserções ou deleções em um local específico do DNA genômico, utilizando o vetor na região intensificadoras específica do BCL11A, para reduzir sua expressão em células eritroides, restaurar a síntese de  $\gamma$  globina e aumentar a produção de hemoglobina fetal (BRUSSON et al, 2013).

**Figura 3** – Inibição da produção de  $\gamma$  globina por BCL11A



Fonte: Frangoul et al, 2021

Neste gene podem possuir polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), uma variação genética que afeta uma base na sequência do genoma. O BCL11A é um fator

de transcrição que reprime a produção da globina alvo e da hemoglobina fetal (BAUER et al, 2013).

No estudo (VERTEX, 2018), atualmente, possuem 45 participantes inscritos, dentro dos critérios de inclusão:

- Diagnóstico de  $\beta$ -talassemia dependente de transfusão (TDT) com histórico de pelo menos 100 mL/kg/ano ou  $\geq 10$  unidades/ano de transfusão de concentrado de hemácias nos últimos 2 anos antes da assinatura do consentimento ou da última nova triagem para pacientes submetidos a nova triagem.
- Elegível para transplante autólogo de células-tronco conforme julgamento do investigador.

Uma publicação foi feita dentro deste estudo (FRANGOUL et al, 2021) e após o relatório dos 2 primeiros participantes, foi administrado em outros oito pacientes, 6 com beta talassemia e 2 com DF, acompanhados por 3 meses. Os outros inscritos no tratamento não tiveram atualização do tratamento (FRANGOUL et al, 2021).

A primeira paciente foi uma mulher, de 19 anos com genótipo  $\beta 0/\beta +$ , que recebeu 34 unidades de concentrado de hemácias por ano, e foi feito um acompanhamento de 21,5 meses após o tratamento com CTX001. Esta obteve um aumento no nível de hemoglobina fetal de 0,3g por decilitro no início do estudo para 8,4 no mês 3. No mês 18 este número aumentou para 13,1 g por decilitro. Além disso, o número de hemoglobina fetal aumentou de 10,1% para 99,7% já no mês 6, no qual foi mantido até o mês 18 e seu nível de hemoglobina ficou estável com 12,1g por decilitro no mês 4, mantendo até sua última visita. Sua última transfusão foi feita após 30 dias de tratamento (FRANGOUL et al, 2021).

Durante o estudo a paciente apresentou alguns eventos adversos relacionados ao condicionamento, onde a maioria foi classificado em grau 1 e 2 de gravidade, tendo 2 eventos como graves, iniciados no dia 13: pneumonia com presença de neutropenia, o qual foi resolvido no dia 28 e doença hepática vasooclusiva onde atingiu gravidade de grau 3, sendo resolvida no dia 39 (FRANGOUL et al, 2021).

O paciente 2 apresentava anemia falciforme, e obteve um aumento na hemoglobina fetal, onde no início do estudo era de 9,1% e com 15 meses aumentou para 43,2%, e sua última transfusão de concentrado de hemácias foi 19 dias após a infusão. Ele apresentou 3 eventos adversos graves, sendo resolvidos (FRANGOUL et al, 2021).

Nos dois primeiros pacientes envolvidos na terapia, obteve-se um resultado positivo durante o acompanhamento, com altos níveis de hemoglobina fetal, controle dos eventos adversos e a independência transfusional durante o período. Por apresentar limitações, como o pouco número de pacientes testados e de acompanhamento, o estudo cadastrado na plataforma *Clinical trials* está sendo realizado com 30 participantes, para poder analisar melhor o perfil do uso de CRISPR-Cas9 utilizando o vetor CTX001 para pacientes beta talassemicos a longo prazo (FRANGOUL et al, 2021).

#### **4.4 GLOBE**

O estudo de NCT02453477 (AIUTI et al,2015) utilizou células tronco hematopoiéticas administradas de forma intraóssea, transduzidas com o vetor GLOBE, capaz de codificar o gene da beta globina, em 3 adultos e 6 crianças com Beta talassemia major (AIUTI et al,2015).

O vetor lentiviral GLOBE contém o gene da beta globina sob o controle de um promotor mínimo, ou seja, uma região do DNA que contém sequências de nucleotídeos que controlam a transcrição de um gene. Ele é chamado de "mínimo" porque contém apenas as sequências essenciais necessárias para iniciar a transcrição do gene que é inserido nas células progenitoras hematopoiéticas dos pacientes com beta talassemia (ROSELI et al, 2010).

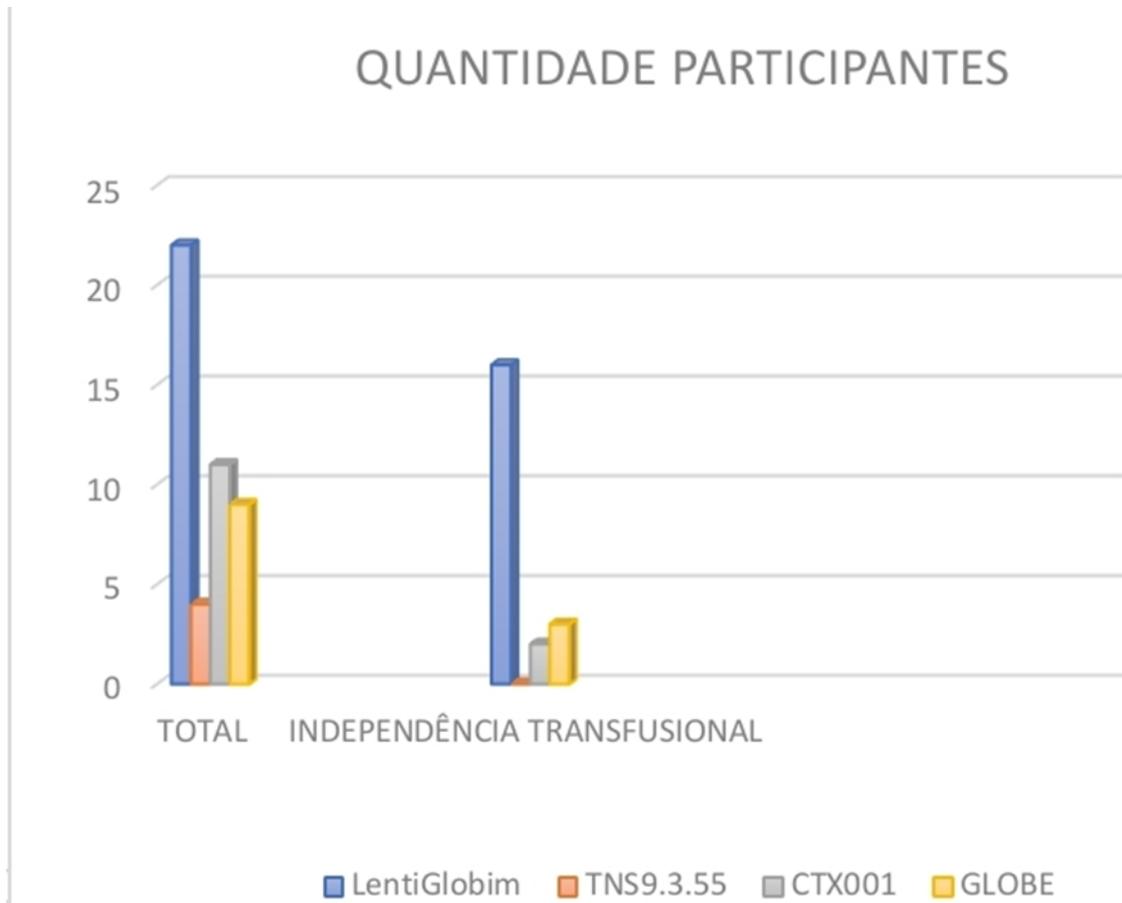
O intuito de administrar de forma intraóssea, foi direcionar diretamente para a região da medula óssea, evitando assim a perda de células em órgãos não-alvo, comprovado por imagens bioluminescente e com recuperação hematopoiética precoce e a longo prazo, comprovado em um estudo anterior feito com camundongos (FRITTOLI et al, 2010).

Os critérios de inclusão para o estudo foram:

- Qualquer genótipo de beta talassemia dependente de transfusão, onde a dependência é definida como receber  $\geq 8$  transfusões de sangue por ano durante um período mínimo de 2 anos.
- Índice de Karnofsky ou Lansky  $> 80\%$ .
- Idade  $\geq 3$  anos e  $< 65$  anos.
- Funções cardíaca, renal, hepática e pulmonar adequadas.
- Triagem trombolítica de baixo risco e história negativa de eventos tromboticos prévios significativos.
- Para todos os doentes em idade reprodutiva, concordância em utilizar métodos contraceptivos altamente eficazes e adequados durante a fase de tratamento e durante, pelo menos, 12 meses após a administração de medicamentos .
- Disponibilidade de uma história transfusional adequada e bem documentada e fornecer o registro transfusional detalhado dos 6 meses anteriores à fase de intervenção.

Foi analisado quantitativamente via PCR, o número de cópias de vetor (VCN) em células CD34+ nos participantes. Em adultos notou-se que este marcador atingiu seu pico no segundo ao terceiro mês, diminuindo e estabilizando em uma mediana de 0,50 a partir do mês 12. Sobre a necessidade de transfusão, foi reduzida entre os participantes, onde o paciente 1 ficou sem receber durante 9 meses, e após este período, recebeu em quantidade e frequências menores que antes do estudo. Os outros dois adultos continuaram recebendo concentrado de hemácias após o estudo, mas em quantidades menores. Entre o grupo das crianças, o resultado foi mais promissor, com uma mediana de VCN foi de 1,19, onde 3 delas receberam a última transfusão logo após a transfusão. Acredita-se que o resultado clínico superior em pacientes pediátricos se deve a capacidade de repovoamento das células tronco hematopoiéticas e devido a função da medula óssea ser prejudicada durante o envelhecimento. (ROSELI et al, 2010).

**Gráfico 3** – quantidade de participantes totais e dos que atingiram a independência transfusional



## 5. DISCUSSÃO

A terapia gênica vem sendo estudada e ampliada em ensaios clínicos para pacientes com doenças oncohematológicas. Aqui avaliamos 7 estudos disponíveis na plataforma *Clinical trials*, e com publicação no *PubMed*, utilizando 4 vetores diferentes.

Em resumo, os avanços na terapia gênica têm mostrado promissoras perspectivas no tratamento de doenças oncohematológicas. Nossa análise abordou sete estudos clínicos que utilizaram quatro vetores diferentes, destacando a importância do número de cópias por vetor (VCN) como um indicador da eficácia terapêutica. Os resultados sugerem que o VCN está relacionado com o tipo de mutação presente nos pacientes, evidenciando diferenças significativas na independência transfusional entre genótipos distintos. Entre as terapias estudadas, foi observado um menor VCN nos pacientes da terapia baseada no vetor LentiGlobin BB305 mostrado nos estudos NCT0215152 (MAGRIN et al, 2022), NCT01745120 (THOMPSON et al, 2018), NCT02633943 e NCT02906202(LOCATELLI et al, 2022), com um valor de 0,3 e o maior valor foi de 1,19, encontrado entre as crianças do estudo GLOBE, conforme mostrado no estudo NCT02453477 (AUITI et al, 2015).

Acredita-se que esse valor superior aos outros estudos, deve-se a capacidade de repovoamento das células tronco hematopoiéticas e a função da medula óssea, que pode ser prejudicada durante o envelhecimento. Este resultado mostrou uma eficácia no tratamento da beta talassemia, com o uso do vetor, e pode ser usado de base para estudos futuros (ROSELI et al, 2010).

O estudo utilizando CTX001 não se baseou no VCN, e sim nos valores de hemoglobina total e fetal, onde após a administração do vetor, os pacientes apresentaram aumentos substanciais nos níveis de hemoglobina fetal, indicando que estas células editadas foram mantidas de forma durável, permitindo concluir que o CTX001 mimetiza o fenótipo da hemoglobina fetal (FRANGOUL et al,2021).

Relacionando-se este número com a quantidade de indivíduos que atingiram a independência transfusional, obteve-se uma relação entre o VCN e o tipo de mutação encontrada. No estudo do LentiGlobin BB305, dos 13 pacientes com genótipo não B0/B0, apresentaram Hb de 9g/dL e alcançaram a independência transfusional,

enquanto 9 pacientes com genótipo B0/B0 ou mutação IVSI-110, apenas 3 atingiram a independência (MAGRIN et al, 2022).

Utilizando o vetor TNS9.3.55, nenhum participante atingiu a independência. (BOULAD et al, 2022), mas observou-se que a melhor resposta foi no indivíduo mais jovem com genótipo B0/B+, e que comparando com o estudo GLOBE, onde entre 6 crianças, 3 pararam de receber transfusões e entre os 3 adultos, as quantidades foram diminuídas, mas não eliminadas, confirma a hipótese de que a idade é um dos fatores relevantes para a eficácia das terapias gênicas (MARKTEL et al, 2021).

A paciente portadora de talassemia B0/B+, submetida ao tratamento com células CD34+ editadas por CRISPR-Cas9 utilizando o vetor CTX001, demonstrou alcançar independência transfusional após um período de 30 dias de terapia. Este resultado é congruente com o observado no paciente com anemia falciforme submetido ao mesmo tratamento. Contudo, é imprescindível destacar que este estudo apresenta severas limitações, exigindo, portanto, a realização de ensaios clínicos adicionais a fim de se obter uma avaliação mais robusta da eficácia do procedimento terapêutico (FRANGOUL et al, 2021).

## REFERÊNCIAS

1. BAUER, D. E. et al. An Erythroid Enhancer of BCL11A Subject to Genetic Variation Determines Fetal Hemoglobin Level. *Science*, v. 342, n. 6155, p. 253–257, 10 out. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24115442/>> Acesso em: 20 Jul. 2023
2. BCL11A BAF chromatin remodeling complex subunit BCL11A [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/53335>>. Acesso em: 18 Jul. 2023
3. BOULAD, F. et al. Lentiviral globin gene therapy with reduced-intensity conditioning in adults with  $\beta$ -thalassemia: a phase 1 trial. *Nature Medicine*, v. 28, n. 1, p. 63–70, jan. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34980909/>>. Acesso em: 17 Jul. 2023
4. BRAUNSTEIN, EVAN. Talassemias. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/hematologia-e-oncologia/anemias-causadas-por-hem%C3%B3lise/talasseмииs>>. Acesso em: 29 Mai. 2023
5. CANVER, M. C. et al. BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis. *Nature*, v. 527, n. 7577, p. 192–197, 16 set. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26375006/>>. Acesso em 26 Jun 2023
6. CTG Labs - NCBI. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02151526?term=NCT02151526&rank=1>>. Acesso em: 06 Jun. 2023
7. CTG Labs - NCBI. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02151526?term=NCT02151526&rank=1>>. Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 06 Jun. 2023
8. CTG Labs - NCBI. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/study/NCT01745120?term=NCT01745120&rank=1>>. Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 08 Jun 2023
9. CTG Labs - NCBI. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/study/NCT01745120?term=NCT01745120&rank=1>>. Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em 07 Jun. 2023

10. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02633943?term=NCT02633943&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso: 11 Jun. 2023
11. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02633943?term=NCT02633943&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 11 Jun. 2023
12. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02453477?term=NCT02453477&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 12 Jun. 2023
13. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02453477?term=NCT02453477&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 12 Jun. 2023
14. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02906202?term=NCT02906202&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 14 Jun. 2023
15. CTG Labs - NCBI. Disponível em:  
<<https://clinicaltrials.gov/study/NCT01639690?term=NCT01639690&rank=1>>.  
Acesso em: 26 set. 2023. Acesso em: 14 Jun. 2023
16. FRANGOUL, H. et al. CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and  $\beta$ -Thalassemia. *New England Journal of Medicine*, v. 384, n. 3, 5 dez. 2020. Disponível em: < <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2031054> >.  
Acesso em: 25 Jul. 2023
17. FRITTOLI, M. C. et al. Bone Marrow as a Source of Hematopoietic Stem Cells for Human Gene Therapy of  $\beta$ -Thalassemia. *Human Gene Therapy*, v. 22, n. 4, p. 507–513, abr. 2011. Disponível em: < [https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hum.2010.045?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hum.2010.045?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)>. Acesso em 19 Jul. 2023
18. FUNDAMENTOS DE HEMATOLOGIA - HOFFBRAND & MOSS (6a Ed.).  
Acesso em: 23 Jun. 2023
19. GRIMLEY, M. et al. Early Results from a Phase 1/2 Study of Aru-1801 Gene Therapy for Sickle Cell Disease (SCD): Manufacturing Process Enhancements Improve Efficacy of a Modified Gamma Globin Lentivirus Vector and Reduced

- Intensity Conditioning Transplant. *Blood*, v. 136, p. 20–21, 5 nov. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000649711869874X>> Acesso em: 19 Jul. 2023
20. HBB hemoglobin subunit beta [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3043>>. Acesso em: 09 Set. 2023
21. HONGENG, S. et al. Wild-type HIV infection after treatment with lentiviral gene therapy for  $\beta$ -thalassemia. *Blood Advances*, v. 5, n. 13, p. 2701–2706, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34196676/>>. Acesso em: 03 Jul. 2023
22. Hospital Sírio-Libanês. Disponível em: <<https://hospitalsiriolibanes.org.br/blog/oncologia/estudos-sobre-o-uso-de-bussulfano-no-transplante-de-medula-ossea-tmo>>. Acesso em: 29 Mai. 2023.
23. LOCATELLI, F. et al. Betibeglogene Autotemcel Gene Therapy for Non- $\beta^0/\beta^0$  Genotype  $\beta$ -Thalassemia. *New England Journal of Medicine*, 11 dez. 2021. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2113206>>. Acesso em: 28 Jun. 2023
24. LIU, J.-W. et al. Recent advance on genome editing for therapy of  $\beta$ -hemoglobinopathies. *Yi Chuan = Hereditas*, v. 40, n. 2, p. 95–103, 20 fev. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29428902/>>. Acesso em 26 Jun. 2023
25. MAGRIN, E. et al. Long-term outcomes of lentiviral gene therapy for the  $\beta$ -hemoglobinopathies: the HGB-205 trial. *Nature Medicine*, v. 28, n. 1, p. 81–88, 1 jan. 2022. Disponível em: < / >. Acesso em: 26 Jun. 2023
26. MARKTEL, S. et al. Intrabone hematopoietic stem cell gene therapy for adult and pediatric patients affected by transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia. *Nature Medicine*, v. 25, n. 2, p. 234–241, 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30664781/>>. Acesso em: 08 Ago. 2023
27. MINISTÉRIO, DA SAÚDE. Brasília -DF 2016 1a edição atualizada ORIENTAÇÕES PARA O DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS TALASSEMIAS BETA. [s.l: s.n.]. Disponível em:

- <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes\\_diagnostico\\_tratamento\\_talassemias\\_beta.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_diagnostico_tratamento_talassemias_beta.pdf)> Acesso em: 15 Jun. 2023
28. Mobilização e Coleta de Células Tronco – Hemoservice. Disponível em: <<https://hemoservice.com.br/2020/09/24/mobilizacao-e-coleta-de-celulas-tronco-2/#:~:text=Em%20condi%C3%A7%C3%B5es%20normais%2C%20essas%20c%C3%A9lulas%20existem%20em%20n%C3%BAmero>>. Acesso em: 29 Mai. 2023.
29. ROCHA, L. B. DA S.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, R. P. Distribuição das mutações da  $\beta$ -talassemia em Fortaleza, Ceará. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 46, p. 437–441, 1 dez. 2010. Acesso em: 13 Jun. 2023.
30. ROSELLI, E. A. et al. Correction of  $\beta$ -thalassemia major by gene transfer in haematopoietic progenitors of pediatric patients. *EMBO Molecular Medicine*, v. 2, n. 8, p. 315–328, 1 ago. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3377331/>>. Acesso em: 10 Jun. 2023
31. SANTANA, S.; POLAINAS, G. [S.l.: s.n.], [20--?]. Disponível em: <[https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36090/1/MICF\\_Sara\\_Polainas.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36090/1/MICF_Sara_Polainas.pdf)>. Acesso em: 06 Ago. 2023
32. Terapia gênica para beta-talassemia. Disponível em: <<https://abrasta.org.br/terapia-genica-para-beta-talassemia/#:~:text=Para%20a%20beta%2Dtalassemia%2C%20a>>. Acesso em: 03 Jun. 2023
33. THOMPSON, A. A. et al. Gene Therapy in Patients with Transfusion-Dependent  $\beta$ -Thalassemia. *New England Journal of Medicine*, v. 378, n. 16, p. 1479–1493, 19 abr. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29669226/>>. Acesso em: 26 Jun. 2023