

# Inserção direcionada de genes baseada em CRISPR em investigação para hemofilia B

## Para profissionais de saúde

A inserção direcionada de genes com base em CRISPR para hemofilia B é investigacional e a eficácia e segurança não foram avaliadas por nenhuma autoridade regulatória

A hemofilia B é uma condição genética causada por uma **mutação** no **gene do fator IX (F9)**<sup>1,2</sup>

Pessoas com hemofilia B não produzem o fator **IX de coagulação funcional suficiente**<sup>2</sup>

Gene do fator IX (F9)

F9

F9

F9

F9

F9

F9

F9

A inserção de genes visa restaurar permanentemente a capacidade do corpo de produzir de forma independente o fator IX sem a necessidade de terapia de reposição de fator de forma rotineira<sup>3</sup>

## O que é inserção de genes?

A **inserção de genes** é um tipo de edição genética em que um gene terapêutico pode ser precisamente adicionado a seções específicas do DNA para restaurar a capacidade do corpo de trabalhar como deveria<sup>3</sup>

Fígado

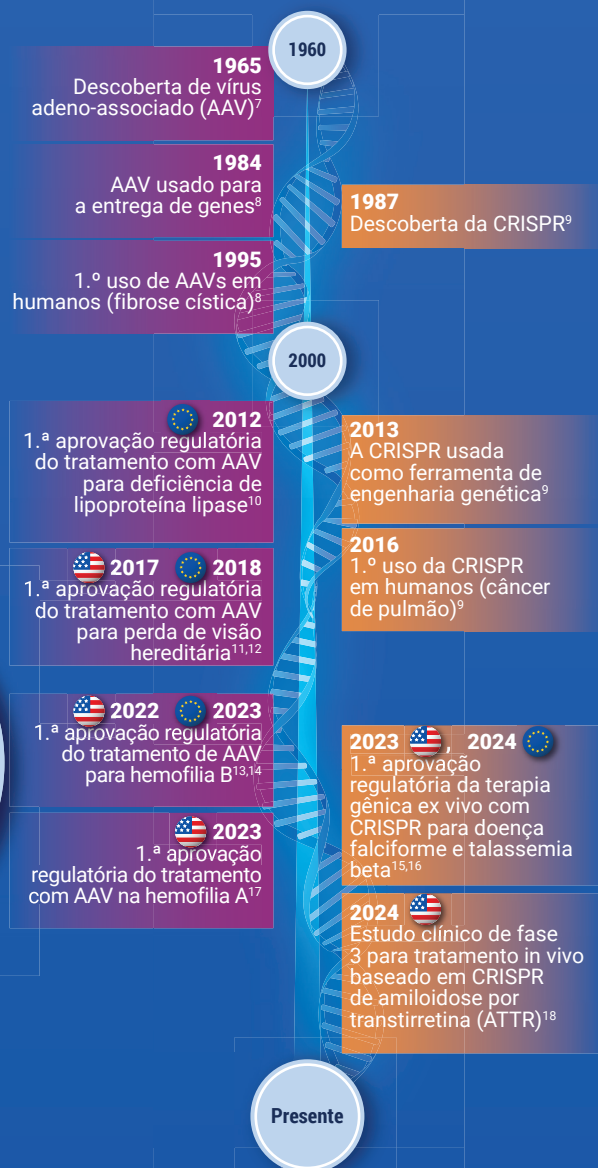
A **inserção direcionada de genes in vivo baseada em CRISPR** é um tipo de edição genética sendo investigada na hemofilia B. Ao adicionar um **gene F9 terapêutico**, o corpo pode criar o **fator 9 de coagulação funcional** por si mesmo<sup>3-5</sup>



## Em outras palavras...

Os genes são como o manual de instruções do corpo. Às vezes, erros de digitação no manual ("mutações") fazem com que o corpo perca uma das instruções necessárias para produzir um produto funcional, como o fator IX em pacientes com hemofilia B. O objetivo da edição de gene é corrigir cuidadosamente esses erros ou inserir as instruções corretas no manual, para que o corpo possa funcionar como deveria, e o fator IX possa ser produzido<sup>6</sup>

## Avanços tecnológicos que levam à inserção direcionada de genes in vivo baseada em CRISPR para estudos investigacionais da hemofilia B



## Inserção direcionada de genes in vivo baseada em CRISPR em investigação para hemofilia B



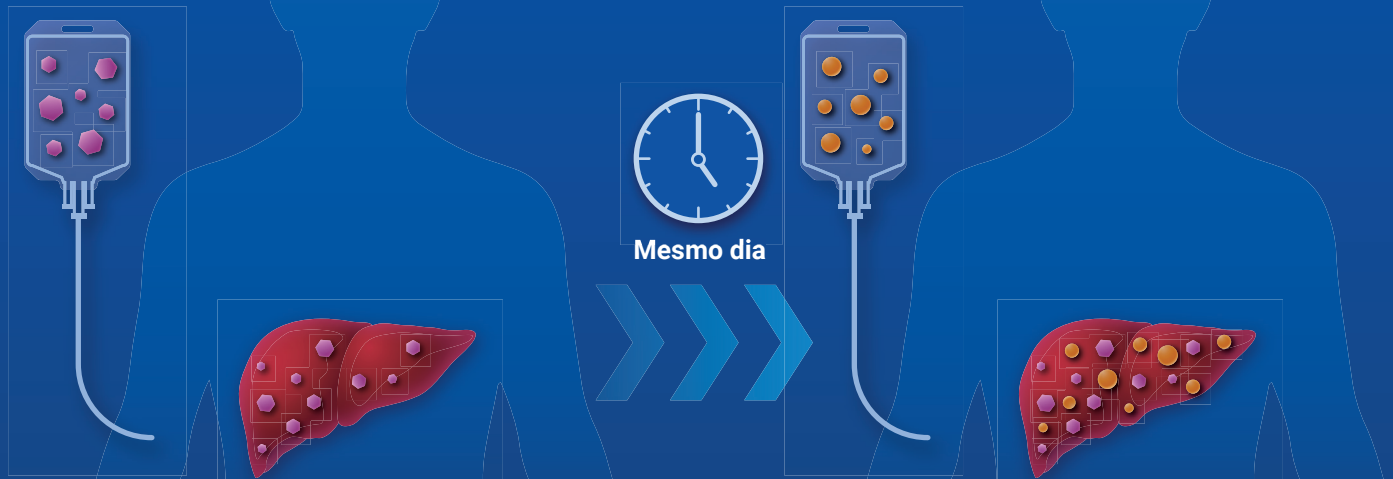
## Aprofundamento

A CRISPR é uma ferramenta versátil. A inserção direcionada de genes baseada em CRISPR para hemofilia B é uma terapia in vivo em investigação, o que significa que a inserção de genes ocorre nas células hepáticas dentro do corpo. Com terapias genéticas ex vivo, as células dos pacientes são removidas e modificadas do lado de fora em um laboratório antes de serem reintroduzidas ao corpo<sup>4,5,19,20</sup>

# A inserção direcionada de genes baseada em CRISPR em investigação é um processo de duas etapas:<sup>4,5</sup>

## Etapa 1: Entrega do **gene F9 terapêutico** e **CRISPR**

A inserção direcionada de genes baseada em CRISPR para hemofilia B é uma terapia in vivo administrada por infusão intravenosa, que inclui dois componentes que são entregues às células hepáticas alvo<sup>4,5</sup>



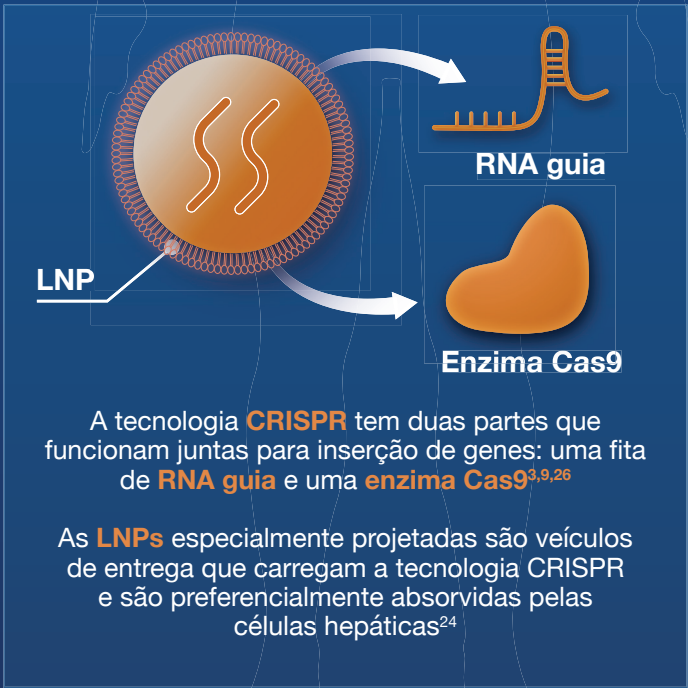
Primeiro, o **gene F9 terapêutico** em investigação é entregue às células hepáticas para fornecer instruções para a produção do **fator IX de coagulação**<sup>4,5,8,22</sup>

Em seguida, uma **nanopartícula lipídica (lipid nanoparticle, LNP)** entrega a **CRISPR**, uma ferramenta precisa que é projetada para permitir a inserção direcionada de gene em um local específico no DNA<sup>4,5,9,25</sup>



O **gene F9 terapêutico** é entregue às células hepáticas alvo como um transgene usando um vetor viral conhecido como **AAV sorotipo 8 (AAV8)**<sup>4,5,8,21,23</sup>

Os **AAVs** foram modificados, removendo e substituindo seu material genético original pelo **gene terapêutico F9**<sup>8,22,23</sup>



A tecnologia **CRISPR** tem duas partes que funcionam juntas para inserção de genes: uma fita de **RNA guia** e uma **enzima Cas9**<sup>9,26</sup>

As **LNPs** especialmente projetadas são veículos de entrega que carregam a tecnologia CRISPR e são preferencialmente absorvidas pelas células hepáticas<sup>24</sup>

### **Aprofundamento**

Um **transgene** é uma sequência de DNA ou combinação de sequências que podem produzir proteína funcional<sup>24</sup>

- Na inserção de genes direcionados com base em CRISPR, o transgene, que consiste apenas no gene F9 e não tem um promotor, é integrado ao genoma do paciente<sup>4,5</sup>

### **Aprofundamento**

As **LNPs** são usadas para embalar o gRNA e o mRNA para codificar a enzima Cas9, porque são o método preferido para a distribuição de RNA ao fígado<sup>8,25</sup>

# A inserção direcionada de genes baseada em CRISPR em investigação é um processo de duas etapas:<sup>4,5</sup>

## Etapa 2: Inserção direcionada do gene *F9* terapêutico

Uma vez dentro das células hepáticas alvo, a **CRISPR** é projetado para visar precisamente um local específico no DNA para permitir a inserção direcionada do **gene *F9* terapêutico**<sup>4,5,20</sup>

Primeiro, o **RNA guia** orienta a **enzima Cas9** com precisão a um local correspondente dentro do DNA<sup>4,5,20,27</sup>

Cas9

Local preciso

RNA guia

Gene da albumina

Gene terapêutico *F9*

Em seguida, a **enzima Cas9** cria um local de inserção...<sup>4,5,20</sup>



### Aprofundamento

O **gene da albumina** é escolhido como o sítio de inserção porque tem um dos **promotores específicos** ao fígado mais ativos<sup>4,5,28</sup>



### Aprofundamento

O **RNA guia** orienta a **enzima Cas9** com precisão até um local correspondente dentro da sequência de DNA. Só então a **enzima Cas9** criará uma pequena abertura para o novo gene ser inserido<sup>20</sup>

...onde o **gene *F9* terapêutico** é inserido<sup>4,5,20,29</sup>



### Aprofundamento

A **inserção direcionada de genes baseada em CRISPR em investigação** gera a proteína do **fator IX** que é a mesma proteína do **fator IX funcional** de ocorrência natural<sup>14,5</sup>

A inserção do gene *F9* terapêutico é projetada para ajudar o corpo a produzir o **fator IX** funcional usando as instruções do gene terapêutico<sup>3-5</sup>



# O que você precisa saber

A inserção direcionada de genes com base em CRISPR para hemofilia B é investigacional e a eficácia e segurança não foram avaliadas por nenhuma autoridade regulatória

## Inserção direcionada de genes baseada em CRISPR em investigação para hemofilia B...



... baseia-se em uma forte base de pesquisa genética que continua a crescer e está sendo investigada em estudos pré-clínicos e clínicos<sup>27</sup>



...atualmente só pode ser administrada uma vez. Hoje, os vetores virais usados no tratamento só podem ser introduzidos no corpo uma vez, porque a resposta imune do corpo pode impedi-los de serem administrados novamente<sup>19</sup>



...tem como alvo as células hepáticas (células não reprodutivas), de modo que o gene terapêutico e seus efeitos não devem ser transmitidos à prole<sup>4</sup>



...está aguardando o uso pediátrico<sup>4,5</sup>



...tem como objetivo ser um tratamento vitalício, após uma dose única para a hemofilia B, sem a necessidade de terapia de reposição de fator de forma rotineira<sup>4,5,19,29</sup>



### Aprofundamento

Se o tratamento não for bem-sucedido, os pacientes podem discutir com seus profissionais da saúde sobre o retorno seguro à rotina de tratamento anterior ou outras opções de tratamento que não usam AAVs<sup>4,5,27</sup>



### Aprofundamento

A inserção direcionada de genes baseada em CRISPR pode ser adequada para uso pediátrico, pois a pesquisa translacional sugere que o tratamento é duradouro mesmo quando o fígado continua a crescer<sup>4,5</sup>

01. National Bleeding Disorder Foundation. Hemophilia B. <https://www.hemophilia.org/bleeding-disorders-a-z/types/hemophilia-b>. Accessed March 11, 2024.
02. National Organization for Rare Disorders, Inc. Hemophilia B. <https://rarediseases.org/rare-diseases/hemophilia-b/>. Accessed March 11, 2024.
03. American Society of Gene & Cell Therapy. Gene editing. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/gene-editing>. Accessed March 11, 2024.
04. Data on file. Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
05. Sabin L. Novel approaches for gene-based therapies: Targeted gene insertion of Factor 9 as a potential durable treatment for hemophilia B. Lecture presented at: American Society of Hematology; 2023; San Diego, CA.
06. American Society of Gene & Cell Therapy. Hemophilia. <https://patienteducation.asgct.org/disease-treatments/hemophilia>. Accessed April 11, 2024.
07. Hastie E, et al. *Hum Gene Ther*. 2015;26(5):257–265
08. Wang D, et al. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(5):358–378.
09. Guo N, et al. *J Adv Res*. 2022;40:135–152.
10. Glybera. Summary of Product Characteristics. UniQure biopharma; 2012.
11. US Food and Drug Administration. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>. Accessed March 13, 2024.
12. Luxterna. Summary of Product Characteristics. Novartis Europharm Limited; 2018.
13. National Bleeding Disorder Foundation. FDA approves first gene therapy to treat adults with hemophilia B. <https://www.hemophilia.org/news/first-hemophilia-b-gene-therapy-approved-by-fda>. Accessed March 13, 2024.
14. Hemgenix. Summary of Product Characteristics. CSL Behring GmbH; 2023.
15. US Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for patients with sickle cell disease. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapies-treat-patients-sickle-cell-disease>. Accessed March 13, 2024.
16. Casgevy. Summary of Product Characteristics. Vertex Pharmaceuticals Limited; 2024.
17. US Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for adults with severe hemophilia A. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapy-adults-severe-hemophilia>. Accessed March 13, 2024.
18. Intellia Therapeutics. Intellia Therapeutics announces first patient dosed in the phase 3 MAGNITUDE study of NTLA-2001 as a single-dose CRISPR-based treatment for transthyretin amyloidosis with cardiomyopathy. <https://ir.intelliatx.com/news-releases/news-release-details/intellia-therapeutics-announces-first-patient-dosed-phase-3>. Accessed March 20, 2024.
19. American Society of Gene & Cell Therapy. Vectors 101. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/vectors-101>. Accessed March 13, 2024.
20. Asmamaw M, Zawdie B. Mechanism and applications of CRISPR/Cas-9-mediated genome editing. *Biologics*. 2021;15:353–361.
21. American Society of Gene & Cell Therapy. What is gene therapy? Accessed March 13, 2024. [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/what-is-gene-therapy.aspx?\\_ga=2.214286359.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&\\_gl=1\\*1j3150r\\*\\_ga\\*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.\\*\\_ga\\_Q37QKR6TCJ\\*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTMyNzk1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTMyODANjAuMC4w](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/what-is-gene-therapy.aspx?_ga=2.214286359.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&_gl=1*1j3150r*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTMyNzk1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTMyODANjAuMC4w)
22. American Society of Gene & Cell Therapy. Viral vector overview. Accessed March 13, 2024. [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/sept-launch-website-material/viral\\_vector\\_overview-\(7\).aspx?\\_ga=2.218638233.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&\\_gl=1\\*1v1bvxf\\*\\_ga\\*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.\\*\\_ga\\_Q37QKR6TCJ\\*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTM1NTguMC4wLjE3MTM0NTM1NTguNDkuMC4w](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/sept-launch-website-material/viral_vector_overview-(7).aspx?_ga=2.218638233.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&_gl=1*1v1bvxf*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTM1NTguMC4wLjE3MTM0NTM1NTguNDkuMC4w)
23. Mietzsch M, et al. *Ann Rev Virol*. 2017;4(1):iii-v.
24. World Federation of Hemophilia. WFH gene therapy registry: Basics of hemophilia, gene therapy, and long-term data collection. Accessed April 11, 2024. <https://www1.wfh.org/publications/files/pdf-2212.pdf>
25. Kazemian P, et al. *Mol Pharm*. 2022;19(6):1669–1686.
26. Uddin F, et al. *Front Oncol*. 2020;10:1387.
27. American Society of Gene & Cell Therapy. How does gene editing work? Accessed March 13, 2024. [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/gene-editing-infographic-\(1\).aspx?\\_ga=2.247343236.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&\\_gl=1\\*pj\\_c2tr\\*\\_ga\\*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.\\*\\_ga\\_Q37QKR6TCJ\\*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTM2MTkuMC4wLjE3MTM0NTM2MTkuNjAuMC4w](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/gene-editing-infographic-(1).aspx?_ga=2.247343236.1282143957.1713453269-636341200.1705006481&_gl=1*pj_c2tr*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxMzQ1MzI3OS4xOC4wLjE3MTM0NTM2MTkuMC4wLjE3MTM0NTM2MTkuNjAuMC4w)
28. Tang J, et al. *Biomed Rep*. 2017;6(6):627–632.
29. American Society of Gene & Cell Therapy. Gene therapy approaches. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/gene-therapy-approaches>. Accessed March 11, 2024.