

# Terapia genética de injeção intravítrea de rAAV2-ND4 para neuropatia óptica hereditária de Leber: uma revisão sistemática

## rAAV2-ND4 intravitreal injection gene therapy for Leber's hereditary optic neuropathy: a systematic review

Vanessa de Oliveira e Silva<sup>1</sup> , Joana Karollyne de Siqueira Mendes<sup>1</sup> , Valter Augusto de Barros Filho<sup>1</sup> , Michel de Souza Maximino<sup>1</sup> , Lucas Marinho de Luna Freire Medeiros<sup>1</sup> , Antônio Humberto Pereira da Silva Júnior<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Campina Grande, Unidade Acadêmica de Medicina, Campina Grande, PB, Brasil.

### Como citar:

Silva VO, Mendes JK, Barros Filho VA, Maximino MS, Medeiros LM, Silva Júnior AH. Terapia genética de injeção intravítrea de rAAV2-ND4 para neuropatia óptica hereditária de Leber: uma revisão sistemática. Rev Bras Oftalmol. 2023;82:e0041.

### doi:

<https://doi.org/10.37039/1982.8551.20230041>

### Descritores:

Atrofia óptica hereditária de Leber; Terapia genética; Resposta Imune Humoral.

### Keywords:

Leber's hereditary optic atrophy; Gene therapy; Humoral Immune Response.

**Recebido:**  
23/10/2022

**Aceito:**  
14/5/2023

### Autor correspondente:

Vanessa de Oliveira e Silva  
Rua Almirante Barroso, 284 – Quarenta  
CEP: 58416-170 – Campina Grande, PB,  
Brasil  
E-mail: van.oliveira.284@gmail.com

**Instituição de realização do trabalho:**  
Universidade Federal de Campina Grande  
(UFCG).

**Fonte de auxílio à pesquisa:**  
trabalho não financiado.

**Conflitos de interesse:**  
os autores declaram que não há conflitos  
de interesses.



Copyright ©2023

## RESUMO

A neuropatia óptica hereditária de Leber é uma doença mitocondrial hereditária neurodegenerativa. A taxa potencial de recuperação espontânea é controversa na literatura. A terapia genética tem sido estudada como suporte aos pacientes. O objetivo desta revisão foi avaliar qualitativamente a segurança, os efeitos adversos e a eficácia da terapia gênica disponível. Trata-se de uma revisão sistemática de artigos indexados nas bases de dados PubMed®, Biblioteca Virtual em Saúde, SciELO, Cochrane, ScienceDirect, Scopus e Lilacs no primeiro semestre de 2021. Os critérios de inclusão e filtros foram: artigos relacionados ao tema, estudos randomizados, ensaios clínicos, trabalhos em humanos, últimos 5 anos, nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola e texto completo disponível gratuitamente. Os parâmetros de exclusão foram: artigos duplicados, fuga ao tema, artigos de revisão, trabalhos não disponíveis e que fugiam aos critérios de inclusão. O coeficiente de kappa foi 0,812. A terapia não apresentou efeitos adversos sérios em nenhum dos artigos selecionados, e os efeitos menores sofreram 100% de remissão espontânea após o tratamento. Apesar de NABs terem sido encontrados no soro de alguns pacientes, não houve associação entre a resposta imune adaptativa e a injeção do vetor viral. O tratamento foi eficaz na melhora da acuidade e campo visual. Vários estudos confirmaram a eficácia da terapia gênica, em doses baixas e médias, na melhora da acuidade visual e também sobre os efeitos adversos comuns relacionados à altas doses. A resposta imune humoral e a variação dos NABs no soro foi citada em mais de um artigo. A terapia foi eficaz na melhora da acuidade visual e os efeitos adversos que surgiram foram tratados facilmente. No entanto, a resposta imune humoral ainda precisa ser estudada.

## ABSTRACT

Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) is an inherited neurodegenerative mitochondrial disease. The potential rate of spontaneous recovery is controversial in the literature. Gene therapy has been studied to support patients. The objective of this review was to qualitatively assess the safety, adverse effects, and efficacy of available gene therapy. This is a systematic review of articles indexed in PubMed®, VHL, SciELO, Cochrane, ScienceDirect, Scopus, and Lilacs databases, in the first half of 2021. Inclusion criteria and filters were: articles related to the topic, randomized studies, clinical trials, work in humans, last 5 years, in Portuguese, English, and Spanish and full text available for free. The exclusion parameters were: duplicate articles, not related to the topic, review articles, not available works, and works that did not meet the inclusion criteria. The kappa coefficient was 0.812. The therapy had no serious adverse effects in any of the selected articles, and minor effects experienced 100% spontaneous remission after treatment. Although NABs were found in the serum of some patients, there was no association between the adaptive immune response and the injection of the viral vector. The treatment was effective in improving acuity and visual field. Several studies have confirmed the effectiveness of gene therapy, at low and medium doses, in improving visual acuity and also on common adverse effects related to high doses. The humoral immune response and the variation in serum NABs was cited in more than one article. The therapy was effective in improving visual acuity and the adverse effects that arose were easily treated. However, the humoral immune response still needs to be studied.

## INTRODUÇÃO

A neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON) é considerada uma doença mitocondrial hereditária neurodegenerativa. Essa retinopatia afeta, principalmente, indivíduos do sexo masculino, pois acredita-se que há uma penetrância variável do gene nos homens, em relação às mulheres.<sup>(1,2)</sup> Além disso, o risco ao longo da vida de um portador do sexo masculino perder a visão é próximo de 50% em comparação com 10% para um portador de LHON do sexo feminino.<sup>(2)</sup>

A apresentação patognomônica para LHON está relacionada à perda visual indolor, geralmente severa e bilateral. Neste processo, a visão unilateral é perdida de forma aguda ou subaguda, enquanto que o outro olho sofre uma degeneração dentro de poucas semanas ou meses.<sup>(3)</sup> Tal processo ocorre pela apoptose das células ganglionares da retina do feixe papilomacular, degeneração do nervo óptico e perda bilateral da visão.<sup>(4)</sup>

A recuperação espontânea em alguns pacientes com LHON ainda é controversa na literatura, pois há poucos relatos sobre esse acontecimento.<sup>(5-7)</sup> Nesse sentido, diversos estudos têm sido realizados para avaliar a progressão da doença nos pacientes e a elegibilidade deles para receber possíveis tratamentos para essa doença.<sup>(7)</sup> Entre os tratamentos disponíveis, a vitamina B12 e a idebenona obtiveram sucesso na melhora de alguns padrões clínicos em alguns indivíduos, mas falharam em outros, sendo terapêuticas de eficácia discutível. Nesse sentido, novos métodos para o tratamento de LHON ainda precisam ser explorados.<sup>(6)</sup>

A mutação mais comum em pacientes que possuem essa doença está localizada no gene mitocondrial ND4, sendo relatado em estudos que mutações nessa região ocasionam uma redução no mecanismo da respiração celular mitocondrial, principalmente pela atividade comprometida no complexo 1.<sup>(8,9)</sup> Essas alterações fazem com que a eficácia da célula seja prejudicada, devido à redução do processo de respiração celular, o que ocasiona uma série de danos para as células de algumas regiões do olho, essencialmente as do nervo óptico.<sup>(8)</sup>

Nos últimos anos, a terapia genética tem se mostrado promissora para LHON, pois busca utilizar um vetor adeno-viral carreador do gene MT-ND4 não mutado para o interior das células da retina dos pacientes portadores de LHON, a fim de gerar a produção de proteínas a partir do gene não mutado na mitocôndria, melhorando a função de respiração celular da mitocôndria das células da retina.<sup>(8)</sup> Essa terapia tem sido utilizada como medida de suporte ao paciente, não de cura, a exemplo do tratamento que utiliza um vírus adeno-associado recombinante sorotipo 2 (AAV2).<sup>(10)</sup> Um vetor

AAV2 contendo o gene ND4 do tipo selvagem pode ser facilmente administrado por via intravítrea a pacientes com LHON carregando a mutação G11778A.<sup>(4,10,11)</sup> O AAV2 é uma atraente alternativa, pois não está associado a nenhuma doença em humanos, além de poder infectar a retina facilmente, ser menos imunogênico e infectar fotorreceptores com mais eficiência que os adenovírus.<sup>(12)</sup> Por fim, tem-se que LHON é um modelo de doença ideal para essa intervenção genética, porque a mutação pontual causadora afeta essencialmente as células ganglionares da retina.<sup>(4)</sup>

Alguns resultados utilizando a terapia gênica foram promissores. Um artigo que avaliou os efeitos de longo prazo da terapia genética para LHON aplicou uma injeção intravítrea contendo 0,05mL do rAAV2-ND4 em nove pacientes. Após o período de administração da terapia, foram observadas melhora progressiva no campo visual e na composição da camada de fibras nervosas da retina, além da ausência de efeitos adversos.<sup>(13)</sup> Além desse artigo, uma metanálise recente verificou que apenas 11,3% dos pacientes com sítio mutacional localizado em MT-ND4, decorridos pelo menos 15 anos desde o início da perda de visão, apresentaram alguma recuperação visual espontânea.<sup>(14)</sup>

Diante dos resultados observados em modelos animais experimentais e pacientes candidatos portadores da mutação MT-ND4, a terapia gênica utilizando o vetor AAV2-ND4 tem se mostrado eficaz para o tratamento da LHON.<sup>(4)</sup> Pretendemos investigar qualitativamente a eficácia, a segurança e os possíveis efeitos adversos da terapia gênica, que se utiliza do vetor viral recombinante AAV2-ND4, para o tratamento da LHON.

## MÉTODOS

O presente estudo é uma revisão sistemática cujas etapas para sua construção estão descritas no protocolo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA).<sup>(15)</sup> A questão norteadora foi estabelecida com base no acrônimo PICO: “Quais os efeitos da terapia com injeção intravítrea de rAAV2-ND4 para o tratamento da LHON?”.

A seleção de artigos foi realizada de maneira duplo-cega, e a pesquisa de artigos nas bases de dados foi feita durante o primeiro e o segundo semestre de 2021, por meio das plataformas eletrônicas do PubMed® (*National Library of Medicine and National Institute of Health*), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), ScienceDirect, Cochrane Collaboration e Scopus.

Para a prospecção dos artigos, foram utilizados, em inglês e nessa ordem, os seguintes descritores, todos

consultados em língua inglesa nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e *Medical Subject Headings* (MeSH): “*Leber’s Hereditary Optical Neuropathy*” e “*Gene Therapy*”. Além disso, eles foram separados, por meio do operador booleano AND, o qual proporcionou uma busca mais refinada. Em todas as bases, a seguinte combinação foi aplicada: “*Leber’s Hereditary Optical Neuropathy AND Gene Therapy*”.

Os critérios de inclusão e filtros utilizados para esse trabalho foram: artigos relacionados ao tema; trabalhos disponíveis em texto completo e gratuito; estudos em humanos; artigos de ensaios clínicos ou estudos randomizados; trabalhos publicados nos últimos 5 anos e estudos nos idiomas inglês, português e espanhol.

Os parâmetros de exclusão foram: duplicação; fuga ao tema; estudos não disponíveis em texto completo e gratuito; trabalhos que não se encaixavam nos critérios de inclusão e artigos de revisão. Dessa forma, dos textos identificados, os que preencheram todos os critérios de inclusão foram escolhidos considerando seus títulos e resumos.

Por fim, a busca foi realizada por dois revisores independentes, e a análise da concordância entre os observadores foi realizada utilizando o teste *kappa* no aplicativo BioEstatística V.1.1.0 e calculado de acordo com o método categórico clássico.<sup>(16)</sup> O valor encontrado foi  $k = 0,812$ .

Os artigos selecionados foram avaliados criticamente por dois observadores duplo-cego, e um revisor, a fim de avaliar sua qualidade individual.<sup>(17,18)</sup> Os 12 itens de avaliação da qualidade dos artigos são expressos por pontuações (escores), e o cálculo da porcentagem corresponde ao resultado da soma dos pontos alcançados em cada critério dividido pelo máximo esperado em cada item, o que confere, também, o resultado da avaliação para os artigos selecionados (Tabela 1). Dentre os artigos selecionados, apenas um<sup>(3)</sup> apresentou um escore de avaliação abaixo de 80%. Além disso, para complementar

a avaliação da qualidade dos artigos, os estudos foram avaliados segundo os níveis de evidência demonstrados em um outro trabalho<sup>(19)</sup>.

## RESULTADOS

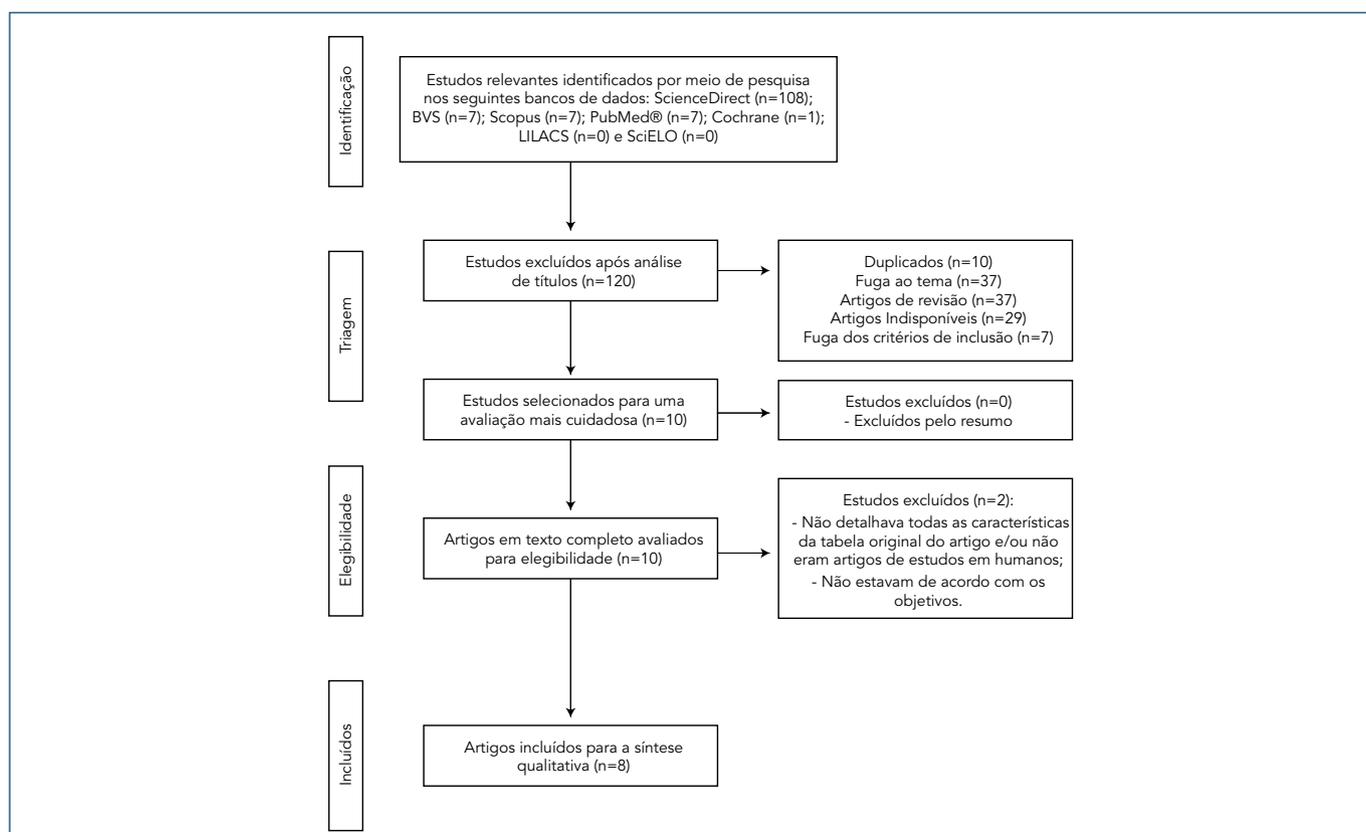
Um resumo do processo de seleção pode ser visto na figura 1. Todos os artigos selecionados para a síntese qualitativa são randomizados, dentre os quais seis<sup>(3,4,6,20-22)</sup> apresentaram como objetivo avaliar os efeitos da terapia gênica com um período de acompanhamento posterior à aplicação da dose do rAAV2, e dois estudos<sup>(23,24)</sup> buscaram investigar a progressão da doença nos pacientes a serem submetidos a um ensaio clínico com a terapêutica.

Uma tabela foi construída e separada por referência, tipo de estudo, amostra, protocolo, intervalo de tempo do estudo, efeitos adversos e desfecho (Tabela 2). Seis ensaios mostraram em seus resultados que a terapia foi segura e bem tolerada, pois nenhum efeito adverso sério e inesperado relacionado ao tratamento foi identificado, e efeitos adversos menores notificados sofreram remissão espontânea ou com uso de medicação durante o período de acompanhamento.<sup>(3,4,6,20-22)</sup> Um desses estudos<sup>(21)</sup> atribuiu a segurança a doses baixas e médias, e dois deles mostraram que não houve dano a RNFL nos pacientes em questão.<sup>(18,20)</sup> Ademais, sobre a eficácia da terapia gênica, dois estudos<sup>(6,22)</sup> mostraram que os pacientes apresentaram melhora da acuidade visual, e um deles citou que esse avanço da acuidade visual também se deu no olho contralateral à aplicação da dose.<sup>(22)</sup>

Sobre a imunogenicidade do AAV2, um dos artigos identificou que não houve associação entre resposta humoral e Inflamação Intraocular (IO) nos pacientes,<sup>(4)</sup> e outro informou que os efeitos adversos relacionados ao uso do tratamento não estavam relacionados a desenvolvimento de imunidade adaptativa; todos esses foram tratados.<sup>(5)</sup> Mais de

**Tabela 1.** Análise qualitativa dos artigos selecionados e nível de evidência. Avaliação da qualidade dos estudos: as colunas numeradas indicam os 12 critérios de avaliação: (1) revisão e detalhamento de estudos na literatura para definição da pergunta da pesquisa; (2) critérios específicos de inclusão e exclusão; (3) objetivos específicos; (4) escopo apropriado das propriedades psicométricas; (5) justificativa e apresentação do tamanho da amostra; (6) acompanhamento dos pacientes; (7) procedimentos específicos de administração, execução e interpretação de resultados; (8) técnicas de medição apropriadas; (9) dados detalhados para cada hipótese; (10) estatísticas apropriadas; (11) estimativas de erros estatísticos; (12) conclusões válidas e recomendações clínicas. Escore: 0 = ausente; 1 = incompleto; 2 = completo.

Estudos	Critérios de avaliação												Total (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Vignal et al. <sup>(5)</sup>	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	2	63
Bouquet et al. <sup>(4)</sup>	2	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2	2	83
Wan et al. <sup>(6)</sup>	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	88
Feuer et al. <sup>(19)</sup>	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	83
Guy et al. <sup>(21)</sup>	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	88
Yang et al. <sup>(22)</sup>	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	88
Yang et al. <sup>(23)</sup>	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	83
Yuan et al. <sup>(24)</sup>	2	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	2	88



BVS: Biblioteca Virtual em Saúde; Lilacs: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde; SciELO: Scientific Electronic Library Online.

**Figura 1.** Seleção dos estudos

um ensaio citou IO como efeito adverso,<sup>(3,4,20)</sup> porém todos os pacientes sofreram remissão espontânea ou foram tratados com terapia anti-inflamatória e tiveram 100% de melhora. Um estudo prospectivo<sup>(6)</sup> citou que a prednisolona foi utilizada como profilaxia imunossupressora 1 semana antes do tratamento e 2 meses após a terapia. Um dos estudos citou que dois pacientes testaram positivo para resposta imune contra o tratamento antes e após,<sup>(4)</sup> e outro verificou a presença de NAbs no soro de alguns pacientes.<sup>(20)</sup>

Entre os efeitos adversos identificados nos ensaios selecionados, a IO variada foi citada em dois artigos,<sup>(3,4)</sup> assim como a vitrite.<sup>(3,4)</sup> A variação da pressão intraocular foi uma variável que demonstrou aumento transitório notificado em três dos ensaios,<sup>(3,19,21)</sup> assim como a uveíte<sup>(3,4,21)</sup> e o aumento transitório leve do número de NAbs sérico.<sup>(4,20,21)</sup> Outros efeitos adversos menores citados foram ceratite, hemorragia subconjuntival e dor de garganta,<sup>(20,21)</sup> abrasão corneana; defeitos pupilares aferentes; dor nos olhos; diminuição da acuidade visual; mucocele e dores de cabeça.<sup>(21)</sup> Entretanto, seis artigos afirmaram que nenhum efeito adverso grave relacionado ao tratamento foi apresentado, bem como nenhuma morte foi documentada.<sup>(3,4,6,20-22)</sup> Dois artigos não citaram efeitos adversos porque não estavam avaliando resultados da terapia, mas a progressão da doença pré-tratamento.<sup>(23,24)</sup>

Por fim, a melhora da acuidade e/ou do campo visual foi citada como resultado primário em cinco trabalhos,<sup>(3,6,20-22)</sup> sendo que, em um deles, um paciente apresentou piora da acuidade atribuída ao curso da doença.<sup>(21)</sup> Houve melhora da acuidade no olho que não recebeu a terapia,<sup>(22)</sup> mas o paciente que recebeu a dose bilateral obteve piora dessa função.<sup>(22)</sup> Os dois trabalhos que avaliaram sobre a progressão da doença para elegibilidade de pacientes para um ensaio clínico<sup>(23,25)</sup> perceberam que alguns pacientes apresentaram melhora espontânea da acuidade visual e esses sujeitos foram excluídos do ensaio clínico que seria desenvolvido com a terapia gênica. Além disso, a piora da acuidade visual e do campo visual identificados foi associada à progressão da doença em alguns pacientes, mas com estabilização dessa piora após 24 meses do diagnóstico da doença.<sup>(22)</sup>

## DISCUSSÃO

O vírus AAV2 é o principal vetor de terapia gênica na retina.<sup>(4,26)</sup> Como vetor não patogênico, não integrante e com deficiência de replicação, o vírus recombinante transduz eficientemente todas as populações de células retinianas chave.<sup>(26)</sup> Isso se deve, em grande parte, a seus amplos tropismos de tecido, expressão gênica persistente sem integração genômica e histórico de aplicação segura.<sup>(28)</sup>

**Tabela 2.** Análise dos artigos selecionados e avaliados por pares em duplo-cego, organizada por referência, tipo de estudo, amostra, protocolo, intervalo de tempo do estudo, efeitos adversos e desfecho. Os resultados apresentam os padrões de segurança, eficácia e efeitos adversos da terapia para a amostragem.

Autor	Tipo de estudo	Amostra (n)	Protocolo	Intervalo de acompanhamento	Efeitos adversos	Desfecho
Vignal et al. <sup>(5)</sup>	Estudo randomizado	15	4 coortes de escalonamento de dose unilateral ( $9 \times 10^9$ [vg] / olho, $3 \times 10^{10}$ [vg] / olho, $9 \times 10^{10}$ [vg] / olho, $1,8 \times 10^{11}$ [vg] / olho) e uma coorte de extensão de dose ( $9 \times 10^{10}$ [vg] / olho)	1 ano seguido de acompanhamento de longo prazo de 4 anos após a terapia	Aumento da PIO IO Vitrite e uveíte também foram relatadas	Melhora na BCVA dos pacientes
Bouquet et al. <sup>(6)</sup>	Estudo randomizado	15	Doses unilaterais de rAAV2/2-ND4 de 4 valores ( $9 \times 10^9$ vg, $3 \times 10^{10}$ vg, $9 \times 10^{10}$ vg e $1,8 \times 10^{11}$ vg) Exames oculares foram realizados e coleta de amostras de soro para teste imunológico Nenhum paciente recebeu terapia imunomoduladora antes da injeção intravítrea	2 anos após a terapia	Aumento do NAb sérico Vitrite Uveíte IO	13 pacientes com IO mas 100% responsivos ao tratamento OIS não foi associada a dose administrada Dois pacientes testaram positivo para resposta imune contra o tratamento antes e após
Wan et al. <sup>(8)</sup>	Estudo randomizado	9	Nove pacientes receberam a dose vetorial unilateral Medicamento administrado: prednisolona oral 1 semana antes do tratamento e por 2 meses depois A dose foi de $5 \times 10^9$ vg / 0,05 mL para pacientes com menos de 12 anos e $1 \times 10^{10}$ vg / 0,05 mL para pacientes com mais de 12 anos	9 meses após a terapia	Nenhum efeito adverso associado à terapia ou qualquer tipo de complicação foi notificado	Melhora da acuidade visual e campo visual após 9 meses de acompanhamento
Feuer et al. <sup>(20)</sup>	Estudo randomizado	5	3 doses unilaterais ( $5 \times 10^9$ [vg], $2,46 \times 10^{10}$ [vg] e $1 \times 10^{11}$ [vg]) aplicadas em 3 grupos de pacientes	De 3 a 6 meses após a terapia	Nenhum efeito adverso grave foi evidenciado Aumento da PIO, ceratite, hemorragia subconjugada, dor de garganta e aumento transitório no número de NABs	A acuidade permaneceu inalterada para a dose baixa, exceto um paciente A acuidade aumentou no paciente que recebeu a dose média Houve melhora relatada no olho não injetado 10 dos 13 pacientes que obtiveram melhora tiveram perda visual por tempo menor que 12 meses antes do tratamento
Guy et al. <sup>(21)</sup>	Estudo randomizado	14	Injeção unilateral de AAV2 em um olho por participante 8 participantes receberam a dose baixa ( $5 \times 10^9$ [vg]) e 6 participantes receberam a dose média ( $2,46 \times 10^{10}$ [vg])	Menor ou igual a 12 meses após a terapia	Uveíte Aumento da PIO Abrasão corneana Defeitos pupilares aferentes Dor nos olhos Mucocele Ceratite Hemorragia Dores de cabeça Dores de garganta	Melhora da acuidade visual Um paciente apresentou perda da acuidade visual, atribuída ao curso da doença Presença de NABs no soro de alguns pacientes
Yang et al. <sup>(22)</sup>	Estudo randomizado	9	Injeção unilateral em 8 pacientes e bilateral em 1 A dose foi de $5 \times 10^9$ vg / 0,05 mL para pacientes com menos de 12 anos e $1 \times 10^{10}$ vg / 0,05 mL para pacientes com mais de 12 anos	3 anos após a terapia	Nenhum efeito adverso foi revelado	Melhora da função visual no olho injetado e não injetado Piora da acuidade visual no paciente da dose bilateral
Yang et al. <sup>(23)</sup>	Estudo randomizado	16	Os pacientes foram avaliados por diversos exames oftalmológicos antes da realização da terapia	1 ano antes da terapia	Não se aplica	O indicador BCVA é o mais indicado para avaliar o desfecho primário do tratamento com AAV2
Yuan et al. <sup>(24)</sup>	Estudo randomizado	66	Exames de acompanhamento para avaliação dessas características foram realizados: pressão intraocular, acuidade visual, campo visual, espessura da camada de fibra nervosa da retina e fundo do olho	6 meses antes da terapia	Não se aplica	Alguns pacientes apresentaram estabilidade da piora da acuidade visual, outros piora e outros melhora desse índice A progressão da doença foi realidade A recuperação espontânea também estava presente

PIO: pressão intraocular; IO: inflamação intraocular; BCVA: melhor acuidade visual corrigida

A via de administração de um vetor de terapia gênica ocular geralmente se enquadra em uma de duas categorias: injeção intravítrea ou injeção sub-retiniana.<sup>(28)</sup> Os capsídeos do vetor AAV de tipo selvagem não penetram profundamente na retina quando administrados por via intravítrea, mas a capacidade dos novos

capsídeos do AAV (produzidos por evolução direcionada) de transduzir as células posteriores da retina está sob investigação.<sup>(4,21,28)</sup> Entretanto, uma barreira adicional para a transdução bem-sucedida de quaisquer células retiniais por meio de injeção intravítrea é o sistema imunológico humoral.<sup>(28)</sup>

Dois dos estudos analisados<sup>(3,4)</sup> verificaram que não houve desenvolvimento de resposta imune humoral nos indivíduos associada à terapia em doses médias e altas,<sup>(3,4)</sup> o que mostra que o vírus não é altamente imunogênico quando injetado por via intravítrea.<sup>(4)</sup> Porém, três ensaios também verificaram aumento transitório no número de anticorpos neutralizantes no soro dos pacientes,<sup>(4,20,21)</sup> e isso também foi verificado em modelos de primatas não humanos para esse sorotipo em outro trabalho,<sup>(28)</sup> o que mostra que essa é uma preocupação para futuros ensaios. Contudo, é importante citar que os baixos níveis de Nabs detectados nos fluidos oculares de quatro pacientes, os quais apresentaram melhora da visão, foram semelhantes aos níveis de pacientes que não recuperaram a acuidade visual. Tomados em conjunto, esses achados sugerem que altos níveis séricos de Nabs podem não ser uma barreira para o sucesso da terapia gênica ocular.<sup>(4,21)</sup>

Efeitos adversos sérios não foram relatados nos estudos identificados,<sup>(3,4,6,20-22)</sup> embora algum tipo de IO tenha sido citado em quatro ensaios selecionados.<sup>(3,4,20,21)</sup> Isso pode ser explicado porque os vírus AAV são baseados em DNA e, portanto, são reconhecidos pelo receptor 9 do tipo toll (TLR9). A estimulação do TLR9 em células epiteliais pigmentares da retina (EPR) induz a secreção da citocina pró-inflamatória IL-8, que representa o início de uma cascata inflamatória.<sup>(28)</sup> A prevenção dessa cascata inflamatória iniciada por TLR9 é essencial ao projetar um regulador de imunidade na terapia genética retinal baseada em AAV.<sup>(28)</sup>

Essa mesma tecnologia do vetor viral foi implementada em camundongos para induzir quadros semelhantes à doença de LHON por meio de um gene ND4 mutante e provocou efeitos adversos, como, por exemplo, inchaço da cabeça do nervo óptico e redução das células ganglionares da retina. Contudo, posteriormente, ao ser administrado nesses animais com LHON induzida, o ND4 não mutado reduziu a apoptose das células ganglionares da retina e evitou o desaparecimento de axônios no nervo óptico, além de não produzir alterações patológicas desse nervo. Em camundongos com LHON induzida por vetor viral, portanto, essa tecnologia se mostrou segura em relação ao disco óptico.<sup>(29)</sup> Entretanto, são necessários mais estudos em humanos, a fim de verificar parâmetros de segurança e resposta do nervo óptico à terapia.

A prednisolona foi utilizada como profilaxia imunossupressora 1 semana antes do tratamento e 2 meses após a terapia em um ensaio sem notificação de IO,<sup>(6)</sup> mostrando que a terapia imunossupressora profilática pode ser a chave para a prevenção desse efeito adverso em estudos futuros.<sup>(28)</sup> Isso porque a prednisona inibe a migração de

neutrófilos, diminui a quimiotaxia de fagócitos mononucleares e a produção de interleucinas (IL) e de fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).<sup>(6,28)</sup> Causa ainda a redistribuição de linfócitos T CD4+ e CD8+ e inibe a ativação, a proliferação e a produção de linfócitos T de linfocina.<sup>(28)</sup>

Outros dois estudos<sup>(23,24)</sup> investigaram os pacientes sobre a recuperação espontânea visualizada para poucos sujeitos com a mutação G11778A. Assim, a janela imunológica deve ser analisada, porque, no período de 2 a 5 anos após o início da doença, a possibilidade de recuperação espontânea da acuidade visual é maior, e isso foi o fator mais preditivo para a recuperação visual.<sup>(30)</sup> A perceptível melhora e a posterior estabilização da acuidade visual que pode ocorrer em estudos realizados antes desse período podem ser explicadas por esse fator e prejudicar os resultados da triagem.<sup>(31)</sup> Ademais, foi identificado que a idade de início não está correlacionada com o prognóstico da acuidade visual em pacientes com LHON tratados com terapia gênica.<sup>(32)</sup>

A melhora da acuidade e/ou do campo visual foi citada como resultado primário em cinco trabalhos,<sup>(3,6,20-22)</sup> e essa melhora foi visualizada também no olho contralateral que não recebeu a terapia. O mecanismo pelo qual a terapia afetou o olho contralateral foi verificado por um trabalho, e foi visto que uma comunicação física entre os olhos pode ter ocorrido por meio do quiasma óptico, porque alguns axônios do nervo em regeneração cruzaram o quiasma óptico para o nervo contralateral e cresceram em direção à retina.<sup>(33)</sup> Essa melhora da acuidade visual teve sua relação com a recuperação espontânea por análises comparativas entre os pacientes que receberam e não receberam a terapia.<sup>(22)</sup>

Entretanto, vale ressaltar que um paciente apresentou piora da melhor acuidade visual corrigida (BCVA) em um dos ensaios, mas isso foi atribuído ao curso da doença.<sup>(21)</sup> Em outro ensaio,<sup>(22)</sup> um paciente recebeu a dose bilateral e, após, houve diminuição da acuidade visual, e o defeito da VF piorou no olho que tinha recebido a primeira dose. Isso foi atribuído a uma possível resposta imune humoral ao AAV2 após a terapia,<sup>(34)</sup> embora exames anteriores antes da administração tenham respostas imunes normais, por isso, no momento, não é recomendado que essa terapia seja aplicada em ambos os olhos.<sup>(22)</sup> Surpreendentemente, em outra triagem, os quatro pacientes que mostraram a maior melhora na acuidade visual com o tratamento tiveram os níveis mais altos de anticorpos neutralizantes séricos.<sup>(21)</sup>

Outro artigo<sup>(35)</sup> traz dados mais atualizados sobre a eficácia da terapia com uso de AAV2 e, nele, o período entre o início da doença e o tratamento e a BCVA basal do pré-tratamento foram significativamente associados à

melhora rápida e significativa na acuidade visual para ambos os olhos injetados e não injetados. Além disso, o VFI e o GRNFL da linha de base do pré-tratamento não foram significativamente associados à melhora rápida e significativa da acuidade visual. A idade foi significativamente associada à melhora rápida e significativa na acuidade visual dos olhos injetados. Esses achados foram corroborados por outro trabalho, que acrescenta e informa que a melhora da BCVA fornece evidências diretas de que um gene terapêutico foi transferido do olho injetado para o olho contralateral não injetado de primatas, apoiando o mecanismo para melhora visual bilateral com terapia gênica.<sup>(36)</sup>

Quanto aos meios de determinação da segurança e de tolerabilidade da terapia gênica vetorial, foram usadas desde a aplicação de pequenas doses da terapia genética a doses progressivas e escalonadas. As doses baixas e médias da terapia gênica para LHON parecem seguras e não danificam a RNFL, porque viu-se que a RNFL temporal dos pacientes tratados acompanhados por 12 meses não foi danificada pela terapia gênica ND4 alotrópica.<sup>(21)</sup> Como meios de rastreamento, geralmente foram usados durante o período dos estudos avaliações de segurança ocular e sistêmica, com estrutura visual e exames de função.<sup>(4,6,20,23,37)</sup> Sequelas anatômicas não foram documentadas por exame de fundo de olho, e nenhuma perda de visão foi relatada devido a tratamento ou efeitos adversos, mas pelo curso clínico da doença.<sup>(21)</sup>

Por fim, é interessante fazer uso do aconselhamento genético para as retinopatias hereditárias. O paciente com alguma retinopatia hereditária, como LHON, deve ser avaliado e acompanhado por um oftalmologista especializado em retina ou por oftalmopediatra, a fim de acompanhar a evolução da doença, identificar complicações relacionadas à distrofia da retina e orientar sobre a progressão da doença e possíveis tratamentos a serem realizados.<sup>(38)</sup>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A terapia gênica utilizada para o tratamento da neuropatia óptica hereditária de Leber com o uso do vetor de rAAV2/2-ND4 apresenta bons resultados na melhora da acuidade e campo visual dos pacientes submetidos a ela, principalmente nos casos de pacientes que foram submetidos à aplicação de doses unilaterais. Os pacientes que apresentaram piora da função visual tiveram esse regresso atribuído ao curso clínico da doença.

O tratamento genético para neuropatia óptica hereditária de Leber se mostrou seguro em todos os estudos, pois não apresentou efeito adverso sério, e os efeitos adversos menores que surgiram sofreram remissão espontânea ou com o tratamento; o tratamento

profilático para evitar esses efeitos também foi citado e pode auxiliar na avaliação da segurança em próximos ensaios. Ademais, embora um aumento transitório de NAb tenha sido identificado no soro de alguns pacientes; não houve biodisseminação. Nesse sentido, o aconselhamento genético é uma ferramenta indispensável para ser realizada com os pacientes com retinopatias hereditárias, como neuropatia óptica hereditária de Leber, desde a infância.

Portanto, mais estudos são necessários para avaliar o curso terapêutico e da doença por um período prolongado, para doses baixas e médias unilaterais e em uma amostra maior de pacientes, bem como estudos que avaliem a resposta do nervo óptico à terapia, a fim de que seja possível verificar, de forma mais detalhada, os resultados positivos e os efeitos adversos dessa terapêutica em pacientes com neuropatia óptica hereditária de Leber.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Vanessa de Oliveira e Silva: ajudou na concepção do tema e pergunta de pesquisa com base no método PICO, auxiliou na escrita dos resultados, discussão e metodologia. Além de ter contribuído para a análise da qualidade dos artigos e revisão crítica do conteúdo.

Joana Karollyne de Siqueira Mendes: ajudou na escrita dos resultados e discussão e contribuiu para a análise da qualidade dos artigos.

Valter Augusto de Barros Filho: auxiliou na escrita da introdução, conclusão e referências.

Michel de Souza Maximino: ajudou na escrita dos resultados e contribuiu para a análise da qualidade dos artigos.

Lucas Marinho de Luna Freire Medeiros: auxiliou no delineamento do método de estudo, revisão crítica do conteúdo e formatação para normas da revista.

Antônio Humberto Pereira da Silva Júnior: auxiliou no delineamento do método de estudo, escrita de resultados, introdução e discussão e revisão crítica do conteúdo e formatação para normas da revista.

## REFERÊNCIAS

1. Rasool N, Lessell S, Cestari DM. Leber Hereditary optic neuropathy: bringing the lab to the clinic. *Semin Ophthalmol*. 2016;31(1-2):107-16.
2. Jurkute N, Yu-Wai-Man P. Leber hereditary optic neuropathy: bridging the translational gap. *Curr Opin Ophthalmol*. 2017;28(5):403-9.
3. Vignal C, Uretsky S, Fitoussi S, Galy A, Blouin L, Girmens JF, et al. Safety of rAAV2/2-ND4 gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy. *Ophthalmology*. 2018;125(6):945-7.
4. Bouquet C, Vignal Clermont C, Galy A, Fitoussi S, Blouin L, Munk MR, et al. Immune Response and Intraocular Inflammation in Patients With Leber Hereditary Optic Neuropathy treated with intravitreal injection of recombinant adeno-associated virus 2 carrying the ND4 gene: A secondary analysis of a phase 1/2 clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2019;137(4):399-406.

5. Wassmer SJ, De Repentigny Y, Sheppard D, Lagali PS, Fang L, Coupland SG, et al. XIAP protects retinal ganglion cells in the mutant ND4 mouse model of Leber hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61(8):49.
6. Wan X, Pei H, Zhao MJ, Yang S, Hu WK, He H, et al. Efficacy and safety of rAAV2-ND4 treatment for Leber's hereditary optic neuropathy. *Cell Rep Phys Sci.* 2016;6:21587.
7. Yu-Wai-Man P, Newman NJ, Carelli V, La Morgia C, Biousse V, Bandello FM, et al. História natural de pacientes com neuropatia óptica hereditária de Leber - resultados do estudo REALITY. *Olho.* 2021.
8. Zhang Y, Tian Z, Yuan J, Liu C, Liu HL, Ma SQ, et al. The progress of gene therapy for Leber's optic hereditary neuropathy. *Current gene therapy.* 2017;17(4):320-36.
9. Zhou X, Zhang H, Zhao F, Ji Y, Tong Y, Zhang J, et al. Very high penetrance and occurrence of Leber's hereditary optic neuropathy in a large Han Chinese pedigree carrying the ND4 G11778A mutation. *Mol Genet Metab.* 2010;100(4):379-84.
10. Melo AC. Terapia Génica Mitocondrial: Estudos in vitro usando um sistema de transporte de DNA plasmídico (pDNA) com afinidade pela mitocôndria [dissertação]. Covilhã: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Beira Interior; 2018.
11. Newman NJ, Biousse V, David R, Bhatti MT, Hamilton SR, Farris BK, et al. Prophylaxis for second eye involvement in leber hereditary optic neuropathy: an open-labeled, nonrandomized multicenter trial of topical brimonidine purite. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(3):407-15.
12. Coco M, Han SW, Sallum JM. Terapia génica em distrofias hereditárias de retina. *Arq Bras Oftalmol.* 2009;72(4):560-6.
13. Yang S, Ma SQ, Wan X, He H, Pei H, Zhao MJ, et al. Long-term outcomes of gene therapy for the treatment of Leber's hereditary optic neuropathy. *EBioMedicine.* 2016;10:258-68.
14. Newman NJ, Carelli V, Taiel M, Yu-Wai-Man P. Visual outcomes in Leber hereditary optic neuropathy patients with the m.11778G>A (MTND4) mitochondrial DNA mutation. *J Neuroophthalmol.* 2020;40(4):547-57.
15. Pansani TS et al. Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises: A recomendação PRISMA. *Epidemiol Serv Saude.* 2015;24:335-42.
16. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
17. Greenhalgh T. Assessing the methodological quality of published papers. *BMJ.* 1997;315:305-8.
18. MacDermid JC, Walton DM, Avery S, Blanchard A, Etruw E, McAlpine C, et al. Measurement properties of the neck disability index: a systematic review. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2009;39(5):400-17.
19. Galvão CM. Níveis de evidência. *Acta Paul Enferm.* 2006;19(2).
20. Feuer WJ, Schiffman JC, Davis JL, Porciatti V, Gonzalez P, Koilkonda RD, et al. Gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy: initial results. *Ophthalmology.* 2016;123(3):558-70.
21. Guy J, Feuer WJ, Davis JL, Porciatti V, Gonzalez PJ, Koilkonda RD, et al. Gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy: low- and medium-dose visual results. *Ophthalmology.* 2017;124(11):1621-34.
22. Yang S, Ma SQ, Wan X, He H, Pei H, Zhao MJ, et al. Long-term outcomes of gene therapy for the treatment of Leber's hereditary optic neuropathy. *EBioMedicine.* 2016a;10:258-68.
23. Yang S, Yang H, Ma SQ, Wang SS, He H, Zhao MJ, et al. Evaluation of Leber's hereditary optic neuropathy patients prior to a gene therapy clinical trial. *Medicine.* 2016b;95(40):e5110-e.
24. Yuan J, Zhang Y, Liu H, Tian Z, Li X, Zheng Y, et al. Clinical observation of patients with leber's hereditary optic neuropathy before gene therapy. *Curr Gene Ther.* 2018;18(6):386.
25. Bucher K, Rodríguez-Bocanegra E, Dauletbekov D, Fischer MD. Immune responses to retinal gene therapy using adeno-associated viral vectors – Implications for treatment success and safety. *Prog Retin Eye Res.* 2021;83:100915.
26. Tummala G, Crain A, Rowlan J, Pepple KL. Characterization of gene therapy associated uveitis following intravitreal adeno-associated virus injection in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021;62(2):41.
27. Casey GA, Papp KM, MacDonald IM. Ocular gene therapy with adeno-associated virus vectors: current outlook for patients and researchers. *J Ophthalmic Vis Res.* 2020;15(3):396-9.
28. Koilkonda RD, Yu H, Chou TH, Feuer WJ, Ruggeri M, Porciatti V, et al. Safety and effects of the vector for the Leber hereditary optic neuropathy gene therapy clinical trial. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(4):409-20.
29. Zhang Y, Li X, Yuan J, Tian Z, Liu H, Wang D, Li B. Prognostic factors for visual acuity in patients with Leber's hereditary optic neuropathy after rAAV2-ND4 gene therapy. *Clin Exp Ophthalmol.* 2019;47:774-8.
30. Chun BY, Rizzo JF. Atrofia óptica dominante e neuropatia óptica hereditária de Leber: Atualização sobre características clínicas e abordagens terapêuticas atuais. *Semin Neurol Pediatr.* 2017;24(2):129-34.
31. Pemp B, Kircher K, Reitner A. Visual function in chronic Leber's hereditary optic neuropathy during idebenone treatment initiated 5 to 50 years after onset. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019;257(12):2751-7.
32. Yang S, He H, Zhu Y, Wan X, Zhou LF, Wang J, et al. Chemical and material communication between the optic nerves in rats. *Clin Exp Ophthalmol.* 2015;43(8):742-8.
33. Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2015;372(20):1887-97.
34. Liu HL, Yuan JJ, Zhang Y, Tian Z, Li X, Wang D, et al. Factors associated with rapid improvement in visual acuity in patients with Leber's hereditary optic neuropathy after gene therapy. *Acta Ophthalmol.* 2020;98(6):e730-3.
35. Yuan J, Zhang Y, Liu H, Wang D, Du Y, Tian Z, et al. Seven-year follow-up of gene therapy for Leber's hereditary optic neuropathy. *Ophthalmology.* 2020;127(8):1125-7.
36. Chun BY, Rizzo JF. Atrofia óptica dominante e neuropatia óptica hereditária de Leber: Atualização sobre características clínicas e abordagens terapêuticas atuais. *Semin Neurol Pediatr.* 2017;24(2):129-34.
37. Sallum JM, Motta FL, Salles MV, Vasconcelos JP, Gabriel LA, Brasil OM. Distrofias hereditárias de retina – diagnóstico genético molecular e aconselhamento genético. São Paulo: Associação Médica Brasileira; 2021.
38. Amore G, Romagnoli M, Carbonelli M, Barboni P, Carelli V, La Morgia C. Therapeutic options in hereditary optic neuropathies. *Drugs.* 2021;81(1):57-86.
39. Carelli V, Barboni P, Zacchini A, Mancini R, Monari L, Cevoli S, et al. Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) with 14484/ND6 mutation in a North African patient. *J Neurol Sci.* 1998;160(2):183-8.
40. Carelli V, Ghelli A, Bucchi L, Montagna P, De Negri A, Leuzzi V, et al. Biochemical features of mtDNA 14484 (ND6/M64V) point mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Ann Neurol.* 1999;45(3):320-8.
41. Ghosh SS, Fahy E, Bodis-Wollner I, Sherman J, Howell N. Longitudinal study of a heteroplasmic 3460 Leber hereditary optic neuropathy family by multiplexed primer-extension analysis and nucleotide sequencing. *Am J Hum Genet.* 1996;58(2):325-34.
42. Holt IJ, Miller DH, Harding AE. Genetic heterogeneity and mitochondrial DNA heteroplasmy in Leber's hereditary optic neuropathy. *J Med Genet.* 1989;26(12):739-43.
43. Isashiki Y, Nakagawa M. Clinical correlation of mitochondrial DNA heteroplasmy and Leber's hereditary optic neuropathy. *Jpn J Ophthalmol.* 1991;35(3):259-67.
44. Klopstock T, Yu-Wai-Man P, Dimitriadis K, Rouleau J, Heck S, Bailie M, et al. A randomized placebo-controlled trial of idebenone in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain.* 2011;134(Pt 9):2677-86.
45. Lam BL, Feuer WJ, Schiffman JC, Porciatti V, Vandenbroucke R, Rosa PR, et al. Trial end points and natural history in patients with G11778A Leber hereditary optic neuropathy: preparation for gene therapy clinical trial. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(4):428-36.
46. Leber T. Ueber hereditäre und congenital-angelegte Sehnervenleiden. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie.* 1871;17(2):249-91.
47. Linde K, Willich SN. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. *J Royal Soc Med.* 2003;96(1):17-22.
48. Oliveira C. Toxic-metabolic and hereditary optic neuropathies. *Continuum (Minneapolis).* 2019;25(5):1265-88.
49. Theodorou-Kanakari A, Karampitanis S, Karageorgou V, Kampourelli E, Kapasakis E, Theodossiadis P, et al. Current and emerging treatment modalities for leber's hereditary optic neuropathy: a review of the literature. *Adv Therapy.* 2018;35(10):1510-8.