

Fundamentos da Terapia Gênica baseada em vetores virais - Revisão da Literatura

Principles of viral vector-based gene therapy - A Literature Review

Leandro Alves Inojosa Filho¹, Beatriz de Albuquerque Vilar¹,

Gabriela Souto Vieira de Mello²

¹Universidade Federal Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Recife, Pernambuco, Brasil

²Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Medicina Tropical, Recife, Pernambuco, Brasil

Autor para correspondência: Leandro Alves Inojosa Filho

Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências

Avenida Professor Moraes Rego, 1235, CEP 50670-901

Recife, Pernambuco, Brasil

Tel: +55 (81) 2126-8000

Email: leandro.afilho@ufpe.br

Submetido em 28/09/2025

Aceito em 26/11/2025

DOI: <https://doi.org/10.47456/hb.v6i4.50214>

RESUMO

Nas últimas quatro décadas os avanços da biologia molecular transformaram o papel dos vírus, deixando o papel comumente atribuído de “vilões” para se tornarem agentes fundamentais dentro de estratégias terapêuticas sofisticadas. A terapia gênica baseada em vetores virais emerge da investigação minuciosa desses organismos, junto do constante aprimoramento das técnicas de biologia molecular, visando ampliar o escopo terapêutico de condições intimamente ligadas a disfunções genéticas e quadros infecciosos que carecem de tratamentos convencionais eficazes. A terapia gênica inaugura um novo paradigma no desenvolvimento de vacinas: as vacinas genéticas, que, explorando os mecanismos complexos de transferência e regulação gênicas, podem induzir não apenas respostas imunes específicas, mas também alterações fisiológicas complexas e sistêmicas, ampliando o leque de abordagens terapêuticas para diversas doenças. Esta revisão tem como objetivo consolidar os conhecimentos virológicos fundamentais que sustentam o uso de vírus na terapia gênica, além de apresentar os vetores virais mais proeminentes utilizados até o momento e suas respectivas aplicações clínicas.

Palavras-chave: agentes de terapia gênica; terapia genética; terapia somática de genes; vetores virais; vírus.

ABSTRACT

Over the past four decades, advances in molecular biology have transformed the role of viruses, shifting them from a commonly assigned “villain” role to key players in sophisticated therapeutic strategies. Viral vector-based gene therapy arises from the detailed study of these organisms, combined with continuous improvements in molecular biology techniques, aiming to expand the therapeutic scope for conditions closely linked to genetic dysfunctions and infectious diseases lacking effective conventional treatments. Gene therapy introduces a new paradigm in vaccine development: genetic vaccines, which, by exploiting complex gene transfer and regulation mechanisms, can induce not only specific immune responses but also systemic and intricate physiological changes, broadening therapeutic approaches for various diseases. This review aims to consolidate fundamental virological knowledge supporting the use of viruses in gene therapy, as well as to present the most prominent viral vectors employed to date and their respective clinical applications.

Keywords: gene therapy agents; genetic therapy; somatic gene therapy; genetic vectors; viruses.

INTRODUÇÃO

A terapia gênica se baseia em abordagens que envolvem a adição, remoção ou correção de genes, ou ainda da regulação da expressão destes que estejam causando distúrbios do funcionamento normal do organismo, levando a quadros patológicos (SAYED et al., 2022). Para que isso seja possível é necessário alcançar o interior da célula para se obter acesso ao complexo mecanismo envolvido no processo de manutenção, replicação e expressão do material genético; nesse ponto encontramos diversas abordagens que tomam encargo de fazê-lo das mais diversas formas e com os mais variados intuitos e estratégias (CRING & SHEFFIELD, 2022).

Os vetores virais vêm obtendo destaque nas últimas duas décadas graças aos avanços realizados nas áreas da biologia molecular e biotecnologia que, com o passar dos anos, permitiram um melhor entendimento dos mecanismos utilizados por esses complexos organismos para a realização de seus ciclos biológicos (WANG; WANG; CAI, 2020). A natureza dependente do maquinário de transcrição e tradução do hospedeiro, os mecanismos de entrega de material genético, as diferentes partículas virais com diferentes tropismos celulares e a familiaridade com as espécies virais utilizadas são os principais fatores que tornam os vetores baseados em vírus ferramentas de grande interesse na terapia gênica (ARABI; MANSOURI; AHMADBEIGI, 2022).

Buscamos, portanto, elucidar como as diferentes características da partícula viral influenciam nas suas aplicações em terapia gênica, bem como apresentar ao leitor as espécies virais que vem obtendo maior destaque em pesquisas e ensaios clínicos nas últimas duas décadas além, é claro, de destacar os principais alvos terapêuticos dessas abordagens; tornando dessa forma o leitor familiar à linguagem e a alguns dos conceitos fundamentais que permeiam o tópico.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho se trata de uma revisão narrativa da literatura de caráter descritivo e qualitativo sobre a natureza virológica e aplicabilidade clínica de cada um dos quatro vetores selecionados. De forma geral, o trabalho pode ser dividido em duas partes: características gerais dos vírus, tratando de aspectos fundamentais desses microrganismos que embasam sua

aplicação na terapia gênica, e vetores virais mais proeminentes na área até o momento da produção deste trabalho. Para a determinação das espécies virais de interesse realizou-se o levantamento das espécies que aparecem com maior frequência em publicações em língua inglesa sobre o uso de vetores virais em terapia gênica no período de 2018 a 2025, chegando-se às quatro espécies presentes neste trabalho. Para esta busca foram empregadas palavras-chave como “terapia gênica”, “vetores virais”, “sistemas de entrega em terapia gênica”, etc. Em seguida foram levantados estudos específicos de acordo com cada espécie viral, incluindo revisões sistemáticas, estudos de caso, protocolos e relatórios de agências de saúde como a Agência Europeia de Medicamentos (EMA, do inglês *European medicines agency*) e a Administração de Drogas e Alimentos (FDA, do inglês *Food and Drug Administration*). Para a parte geral sobre a natureza da partícula viral foram usados livros e artigos científicos selecionados de acordo com os mesmos critérios supracitados. Seguindo esses parâmetros, 92 artigos, 1 livro e 5 relatórios de agências de saúde foram incluídos na bibliografia que embasa o presente trabalho.

Em seguida foi realizada a leitura minuciosa das publicações e avaliação de seus conteúdos, sendo levado em consideração para avaliação destes trabalhos, e posterior inclusão ou exclusão, o nível de informação sobre os tópicos específicos (características gerais dos vírus e aplicação clínica específica da espécie viral), cada trabalho foi selecionado de acordo com sua capacidade de elucidar de forma coesa e sucinta um dos pontos abordados ao longo da discussão sobre cada vetor, de acordo com a avaliação dos autores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características gerais dos vírus

Para que possamos compreender os vetores virais em sua totalidade é fundamental a compreensão dos aspectos morfológicos da partícula viral a fim de tornar possível uma abordagem satisfatória sobre a natureza dos vetores virais e sua aplicabilidade na terapia gênica (TG). É importante salientar também que os vírus compõem um grupo muito diverso de entidades biológicas, desse modo, alguns aspectos como tipo do material genético (DNA ou RNA) e presença ou não de envelope variam de acordo com a espécie viral. Contudo, existem características amplamente compartilhadas entre as famílias e gêneros virais e que, consequentemente, são de fundamental importância para a aplicação dos vírus na terapia gênica

(BULCHA et al., 2021).

Os principais componentes da partícula viral são o material genético, capsídeo e, em alguns casos, o envelope. O material genético é responsável por carregar as informações genéticas do vírus e, conseqüentemente, será um dos principais alvos da manipulação desses vetores para sua aplicação na TG (SANTOS et al., 2021). Outros alvos de manipulação desses vetores para possíveis aplicações terapêuticas são as proteínas presentes na membrana dos vírus envelopados; a manipulação minuciosa dessas estruturas, à exemplo do intercâmbio de proteínas de superfície (espículas), ou mesmo de todo o envelope, entre espécies virais através da seleção dos genes codificadores destas estruturas, possibilita uma maior precisão na estruturação desses vetores como ferramentas direcionadas à alvos moleculares específicos, como proteínas e glicoproteínas presentes na membrana da célula-alvo (DUVERGÉ & NEGRONI, 2020).

Em termos gerais, os vírus podem ser classificados pela presença ou não de envelope e pela geometria do capsídeo, podendo ser icosaédricos, helicoidais ou complexos. Poucos são os estudos sobre a utilização de vírus complexos em terapia gênica e por esse motivo eles não serão abordados neste trabalho. O envelope (ou sua ausência) é de fundamental importância na análise dos vírus para TG, pois não só influencia diretamente o tropismo viral como também determina a natureza da adsorção e replicação do vírus, além estar diretamente relacionada à natureza de possíveis respostas imunes desencadeadas por esses vetores; sendo assim, durante a análise detalhada de cada vetor abordado, esse é um dos principais aspectos morfológicos a se ter em mente (SHIRLEY et al., 2020).

Os vírus não-envelopados

Os vírus não-envelopados costumam ser, a nível morfológico-organizacional, uma classe mais simples, pois são compostos apenas pelo capsídeo e pelo cerne (ácido nucleico viral e proteínas envolvidas na replicação). Variando quanto a geometria do capsídeo, tamanho, presença e tipo de proteínas de superfície (PARVEZ, 2020).

Um fator de fundamental importância sobre este tipo de partícula viral é a natureza da sua replicação. Os vírus não-envelopados podem realizar tanto um ciclo lítico quanto lisogênico, à depender da espécie. A realização do ciclo lítico no interior da célula infectada pode em casos específicos, como no dos bacteriófagos, vírus não-envelopados complexos que infectam células bacterianas, culminar no rompimento da membrana plasmática, levando à

morte celular (DODGE et al., 2021). No caso de vírus animais não-envelopados, o processo de saída da célula de origem pode se dar através da exocitose das partículas virais através do retículo endoplasmático, associação ao conteúdo de vesículas celulares e transmissão direta entre células por meio de nanotubos e proteínas transportadoras (ALTAN-BONNET & PANIGRAHI, 2025).

A fim de evitar esse fenômeno em aplicações clínicas, são utilizados vírus não-envelopados defectivos, isso é, parcialmente incapazes de finalizar o ciclo de replicação, para a transferência de genes terapêuticos, evitando assim a morte celular. Alguns vírus que realizam esse tipo de replicação possuem tropismo natural por células em divisão, esse tipo de vírus é chamado *oncolítico*, e é de grande interesse para a terapia gênica. Os representantes desse grupo que despertam maior interesse em TG são os adenovírus (GALLARDO et al., 2021) e os vírus adenoassociados (LI & SAMULSKI, 2020).

Os vírus envelopados

Os vírus envelopados compartilham as mesmas estruturas dos não-envelopados, com o adicional de uma bicamada fosfolipídica, proveniente da célula hospedeira, que recebe o nome de envelope. O envelope, por sua vez, é recoberto por glicoproteínas que recebem o nome de espículas; essas estruturas desempenham um papel fundamental na internalização do vírus, atuando na adsorção e fusão com a membrana celular, portanto são fatores cruciais na determinação do tropismo. Alguns dos principais vírus envelopados utilizados como vetores em TG são o Herpes Simplex Vírus e os Retrovírus e, dentre estes últimos os Lentivírus (ZHAO; ANSELMO; MITRAGOTRI, 2021).

Diferentemente dos vírus não-envelopados, os vírus envelopados realizam um ciclo lisogênico, isto é, o vírus brota através da membrana celular carregando consigo uma parte da mesma, não alterando de forma significativa a integridade da célula hospedeira. Tendo isso em vista, as abordagens que utilizam como vetor vírus envelopados podem ainda manter parcialmente a replicação viral de modo controlado, sem prejuízos maiores à integridade física da célula hospedeira (PAGANI et al., 2022).

O genoma viral

Segundo a classificação de Baltimore, o genoma viral pode ser subdividido em sete classes levando em consideração o tipo de ácido nucleico, a sua complexidade (fita dupla ou

simples) e sua polaridade (+ ou -) e a presença da enzima transcriptase reversa. Essas características são de fundamental importância pois determinam a natureza da transmissão da informação genética e da replicação desses vetores e, conseqüentemente, suas possíveis aplicabilidades em métodos terapêuticos (KOONIN; KRUPOVIC; AGOL, 2021).

Os vetores abordados neste trabalho se enquadram nas seguintes categorias:

I - Vírus de DNA cadeia dupla (dsDNA): formam diretamente o mRNA. (Adenovírus e Herpes simplex);

II - Vírus de DNA cadeia simples (ssDNA): sintetizam o mRNA a partir de um intermediário de dsDNA. (AAV);

III - Vírus de RNA cadeia simples (ssRNA): sintetizam o mRNA através de um intermediário de dsDNA. (Retrovírus e Lentivírus).

Em seu genoma os vírus possuem sequências diversas, relacionadas a características fundamentais deste microrganismo, tais como sua composição bioquímica, sua replicação e sua virulência e a própria transdução do material genético viral, isso é, os mecanismos de transferência de genes da partícula viral para a célula hospedeira empregados pela espécie viral. Durante a utilização de vetores virais para a transferência de genes é necessário alterar a estrutura primordial do seu genoma, deletando ou suprimindo sequências e adicionando genes de interesse a serem transferidos pelo vetor para a célula alvo, para isso, são excluídas as regiões promotoras e reguladoras das “repetições terminais longas” (do inglês, LTR’s), gerando vetores auto-inativantes, que após a transferência do material, são incapazes de se replicar; outras técnicas mantêm as LTR’s, utilizando como alvo para a regulação da replicação as sequências relacionadas à deflagração da produção das estruturas virais. Chamamos de *transgene* as sequências codificantes adicionadas ao genoma com fins terapêuticos (POLETTI & MAVILIO, 2021).

A capacidade de empacotamento, isso é, a capacidade máxima de material genético que um vírus pode abrigar em seu capsídeo, é uma característica fundamental para a aplicação dos vetores virais em terapia gênica, pois o tamanho do gene-alvo pode variar e é necessário que o vetor seja capaz de abrigar de forma satisfatória e funcional o gene a ser transportado até o alvo terapêutico (LI et al., 2023). Essa característica depende de fatores como tamanho do genoma, tipo do material genético, tipo de transdução e tamanho do gene terapêutico a ser inserido (WANG et al., 2020). As características genômicas de cada vetor abordado neste

trabalho estão sintetizadas na tabela 1.

Afim de aprimorar essa característica e viabilizar o uso desses vetores, podem ser excluídos alguns genes dispensáveis à transferência gênica, as chamadas sequências (ou fases) de leitura aberta (do inglês *open reading frames*, ORF's), responsáveis pela codificação das características fundamentais do ciclo vital do vírus, como sua replicação e brotamento, com posterior inserção do transgene; dessa maneira o vetor transfere o gene presente no cassete de expressão, mas não é capaz de dar sequência a sua replicação; viabilizando desse modo a aplicação desses vetores em técnicas terapêuticas que não requerem vetores auto-replicativos, à exemplo de estratégias de entrega única (SWEENEY & VINK, 2021).

Vetores adenovirais

Os adenovírus (AdV) são vírus não envelopados da família *Adenoviridae* e possuem como material genético DNA dupla fita. Na natureza existe grande diversidade de variantes, incluindo mais de 100 variantes humanas (HAdVs) divididas em 7 espécies diferentes. Quanto à patogenicidade, as infecções por AdV costumam ser leves, assemelhando-se ao resfriado comum, com exceção de indivíduos imunocomprometidos, nas quais a doença pode ser agravada (GHOSH et al., 2020; GALLARDO et al., 2021).

Tabela 1. Capacidade de inserção de genes heterólogos e características dos vetores.

Espécie viral	Tipo do material genético	Capacidade de inserção	Características
Adenovirus (Ad5)	dsDNA	<7,5 kb	Ampla gama de hospedeiros; expressão transiente; forte imunogenicidade
AAV (AAV2, 3, 5, 6, 8, 9)	ssDNA	<4 kb	Gama de hospedeiros relativamente ampla, expressão lenta no início, integração cromossomal, resposta imunológica
Herpes Simplex (HSV1, HSV)	dsDNA	>30 kb	Ampla gama de hospedeiros, infecção latente, expressão a longo termo, alta capacidade de inserção
Retrovírus (MMSV, MSCV)	ssRNA	8 kb	Apenas transduz células em divisão, expressão à longo termo, integração aleatória
Lentivírus (HIV-1, HIV-2)	ssRNA	8kb	Ampla gama de hospedeiros, baixa citotoxicidade, integração estável, expressão à longo termo

Legenda: Ad: adenovírus; AAV: vírus adenoassociado; HSV: Herpes Simplex Vírus, MMSV: Vírus do Sarcoma Murino de Moloney; MSCV: Vírus de Células Tronco Murino; HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana; dsDNA: DNA de fita dupla; ssDNA: DNA de fita simples; ssRNA: RNA de fita simples. **Fonte:** Adaptado de LUNDSTROM K, 2018.

Esses vírus têm tropismo por células do sistema respiratório, do trato gastrointestinal, rins e olhos. A estrutura da proteína Fiber Knob encontra-se preservada nas 7 espécies de HdAVs, com algumas variações na sequência de aminoácidos, e interage com diversos receptores como CD46, CAR, DSG 2, ácido siálico entre outros a depender da espécie e sorotipo. Entre as características do ciclo biológico do vírus, é importante ressaltar a baixa integração ao genoma do hospedeiro em razão de ser vantajosa para aplicações que visam expressão temporária, como nas terapias antitumorais (WATANABE et al., 2021).

Assim como os demais vetores, as aplicações de adenovírus na medicina genética são amplas e vão desde o tratamento de condições hereditárias ao desenvolvimento de vacinas e terapias antitumorais. Em relação aos demais vetores, os vetores adenovirais têm papel de destaque juntamente com adenoassociados, isso se deve a diversos fatores como a facilidade de projetar um vetor recombinante, amplo tropismo e a relativa segurança de seu uso comercial. (GREBER, 2021).

Existem duas abordagens distintas para terapias antitumorais: 1) Vetores recombinantes que induzem a expressão de genes antitumorais; 2) Vetores oncolíticos, vírus que infectam e induzem lise especificamente em células tumorais. Em vacinas, os AdVs recombinantes expressam epítomos de outros patógenos para estimular a produção de anticorpos específicos (CHEN et al., 2018).

Apesar das vantagens, alguns desafios surgem na utilização dos AdVs na terapia gênica. Por exemplo, a imunogenicidade que pode ser vantajosa em relação ao desenvolvimento de vacinas também representa um risco quanto a segurança do vetor; isso ocorre devido a presença de diversos Padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs; *do inglês Pathogen-associated molecular pattern*) em sua estrutura, resultando em resposta inflamatória. Outra desvantagem é a baixa expressão de genes, a qual também pode ser uma vantagem a depender da terapia. Esses obstáculos podem ser superados através da engenharia genética, tendo-se uma produção de vetores recombinantes adaptados para aplicações específicas (TRIVEDI; BYRNE; CORTI, 2023).

Entre os produtos de terapia gênica aprovados com o uso do vetor estão o Adenovírus p53 humano recombinante (Gendicine, nome comercial); H101 (Oncorine, nome comercial), o primeiro vírus oncolítico a ser comercializado e nadofaragene firadenovec-vncg (Adstriladin, nome comercial) (ZHANG et al., 2018; CETIN et al., 2024).

Vetores baseados em vírus adeno-associados

Os vírus adenoassociados (AAV) são vírus de DNA de fita simples não envelopados pertencentes à família *parvoviridae* e gênero *dependoparvovirus*, caracterizados por necessitar de um vírus auxiliar para a replicação. Entre esses auxiliares está o Adenovírus (AdV), motivo pelo qual os AAVs recebem este nome, mas esse papel também pode ser desempenhado por outros vírus como Herpes Simplex (HSV) e o papilomavírus humano (HPV). No contexto da terapia gênica, os vetores adenoassociados constituem atualmente uma

das principais plataformas para a entrega de genes (ZENDEL & CARETTE, 2020).

Os AAVs invadem as células por endocitose e possuem pouca capacidade de integração com o genoma do hospedeiro. As infecções por esses vírus são consideradas assintomáticas e os ciclos e mecanismos ainda são pouco conhecidos. Entre os 13 sorotipos conhecidos, de ocorrência natural, é possível observar tropismo por diferentes tecidos e têm sido encontrados em amostras de células sanguíneas, sêmen, células epiteliais, fluido amniótico entre outros (SANT'ANNA & ARAUJO, 2022).

Apesar disso, diversas características vantajosas consolidaram os AAVs como os principais vetores virais empregados na terapia gênica. Entre elas, uma ampla variedade de tropismos, incapacidade de se replicar sem auxílios, natureza pouco patogênica, tamanho reduzido e a habilidade de integrar seu genoma ao DNA do hospedeiro, podem ser destacadas. Além dessas características inatas ao vírus, a obtenção, modificação e adaptação com objetivo terapêutico são relativamente fáceis quando comparado a outros vetores (WANG et al., 2024).

Como principais desafios do uso de AAVs na terapia gênica podemos citar a baixa capacidade de inserção de genes, hepatotoxicidade, microangiopatia trombótica e outros efeitos adversos associados à imunogenicidade do vetor. A duração do transgene depende de fatores como o tecido em que é aplicado, a resposta imune ao vetor e a célula modificada, em muitos casos limitando o tratamento a uma dose única. Além dos desafios associados à biologia do vetor, outro importante fator é o custo de produção e consequentemente custo final da terapia, as quais atualmente representam alguns dos medicamentos mais caros disponíveis no mercado (KOHN; CHEN; SPENCER, 2023).

Estima-se que a presença de AAVs não modificados na população humana seja de até 80%, e isso representa um dos principais desafios relacionados ao seu uso como vetor, uma vez que, devido a sua imunogenicidade, é observada presença de anticorpos para o vírus em grande parte da população. Em adição, a ativação de resposta imune, tanto inata como adaptativa, é observada em terapias *in vivo*, em que há resposta contra o capsídeo e outras estruturas virais, além de respostas contra os produtos da transdução. Como uma maneira de contornar a resposta imune direcionada ao vetor, é possível associar a terapia a imunossuppressores, como os corticosteroides. Uma alternativa apresentada por Leborgne et al. (2020) é a administração de peptidases para hidrolisar anticorpos neutralizantes pré-existentes, assim permitindo o uso de AAVs em terapias *in vivo* com menor comprometimento do sistema imune (LEBORGNE et al., 2020).

Atualmente, já possuem aprovação de agências de saúde, incluindo a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e a Administração de Drogas e Alimentos (FDA), os seguintes medicamentos: voretigene neparvoveque (Luxturna, nome comercial), para tratamento de distrofia hereditária da retina, sendo o primeiro registro de produto para terapia gênica no Brasil, onasemnogeno abeparvoveque (Zolgensma), autorizado para o tratamento da atrofia muscular espinhal; etranacogene dezaparvovec (Hemgenix) e valoctocogene roxaparvovec (Roctavian), para o tratamento de hemofilia tipo B e tipo A, respectivamente (FDA, 2017; EMA, 2018; ANVISA, 2020).

Vetores baseados no Herpes Simplex vírus

Os vírus Herpes Simplex (HHV) são de DNA dupla-fita e envelopados, sendo divididos em dois tipos: HHV-1 e HHV-2, agentes etiológicos da herpes labial e herpes genital, respectivamente. Os HHVs são capazes de entrar em estado de latência, em que o vírus permanece no hospedeiro sem manifestação clínica. Durante infecção primária o HHV se estabelece e inicia replicação em células epiteliais da pele ou mucosa, ao atingir terminações nervosas de neurônios periféricos é iniciado o período de latência, em que, a expressão dos genes é reduzida e não há produção de novas partículas virais. Estímulos como estresse, flutuações hormonais e outras infecções como a COVID-19 podem reativar o vírus, acarretando um novo ciclo de replicação lítico (MALDONADO; ROMERO-AIBAR; PÉREZ-SAN-GREGORIO, 2021; ZHU & VIEJO-BORBOLLA, 2021).

Algumas características do HHV despertam o interesse de utilizá-lo como vetor viral. Uma delas é o neurotropismo, ou seja, a capacidade do vírus de infectar células do sistema nervoso, e seu tropismo por células epiteliais. Outro fator é o tamanho de seu genoma, tendo aproximadamente 152 kb, contendo até 30 kb de genes que podem ser substituídos sem prejuízos, sendo a capacidade de inserção a principal vantagem em relação a outros vetores virais (MODY et al., 2020).

Uma característica também observada é a habilidade do vírus de evadir as defesas do organismo. O HHV é capaz de inibir vias de sinalização como a resposta ao dano no DNA (DDR), ativação de receptores toll-like, mecanismos de detecção de DNA, entre outras, viabilizando o ciclo de replicação e posteriormente o início do período de latência. Esses mecanismos de evasão são importantes para evitar resposta imune contra o vetor durante o tratamento (VERZOSA et al., 2021).

Apesar do neurotropismo, as aplicações de HHV na terapia gênica não se restringem ao tecido nervoso, o vetor é utilizado no tratamento de tumores em diversos tecidos, sendo células neoplásicas o principal alvo dos testes clínicos. Sua capacidade de infectar diferentes tipos de células, a natureza citolítica de sua replicação e as características previamente mencionadas fazem do Herpes Simplex Virus um excelente potencial vírus oncolítico. Esses vetores são projetados para infectar especificamente células neoplásicas e uma vez infectadas, os vírus oncolíticos podem induzir apoptose e/ou estimular resposta imune contra as células tumorais (YAHYA & ALQADHI, 2021; ZHAO; ANSELMO; MITRAGORI, 2021).

Em um estudo publicado na década de noventa, Martuza e colaboradores (1991) inibiram o crescimento de glioma humano em ratos utilizando HHV-1 geneticamente modificado, um marco significativo não só para o uso do herpes simplex como vetor, mas também para terapias antitumorais. O vírus modificado não possuía a enzima timidina quinase (TK, do inglês *thymidine kinase*) inibindo o seu ciclo de replicação em células não divisíveis, como neurônios, sem prejudicar a atividade naquelas com alta taxa de divisão celular (MARTUZA, 1991).

Desde então ocorreram grandes avanços na terapia gênica, sendo atualmente aprovado pela FDA e EMA o uso do medicamento IMLYGIC (Talimogene laherparepvec) para tratamento de melanoma (FDA, 2023; EMA 2024). Foi também aprovado pelo FDA o Vyjuvek (Beremagene Geperpavec), um medicamento tópico utilizado no tratamento de lesões em pacientes com epidermólise bolhosa distrófica (EBD) (KHAN et al., 2023).

Vetores baseados em retrovírus

Os retrovírus são vírus de RNA de fita simples envelopados cuja principal característica é o processo de transcrição reversa, que consiste na produção de moléculas de cDNA a partir do RNA viral, posteriormente integrado ao genoma da célula hospedeira. Isso é possibilitado pelas enzimas transcriptase reversa e integrases e a sequência viral é então transcrita e traduzida pela maquinaria celular. Essa família de vírus é dividida em sete gêneros ou subfamílias, sendo elas: Alpharetrovirus, betaretrovirus, deltaretrovirus, gammaretrovirus, epsilon-retrovírus, lentivirus e spumaretrovirus (CHAMEETTACHAL; MUSTAFA; RIZVI, 2023).

De maneira geral, o ciclo de vida de retrovírus se inicia pela adsorção, onde a partícula viral é ancorada à membrana celular por interações entre receptores da célula e moléculas do vírus. Em seguida ocorre a fusão entre o envelope e a membrana permitindo que o capsídeo

penetre no ambiente intracelular, iniciando o desnudamento e a transcrição reversa no capsídeo parcialmente aberto. Uma vez no núcleo acontece a finalização da transcrição reversa e então a integração. Após isso, o material genético viral é transcrito, processado e exportado para o citosol, onde, por fim, ocorre a síntese proteica, empacotamento do RNA genômico, maturação e liberação das partículas virais (CHAMEETTACHAL; MUSTAFA; RIZVI, 2023).

Exemplos de retrovírus empregados em pesquisas de terapia gênica é o vírus da leucemia murina de Moloney (MoMuLV), pertencente ao gênero Gammaretrovirus, e os vírus espumosos (FVs, do inglês *Foamy Viruses*) do gênero Spumavirus, outro exemplo são os lentivírus, os quais serão abordados em um tópico posterior, como os vírus da imunodeficiência humana (HIV), felina (FIV) e símia (SIV). A grande vantagem da aplicação dessa família resulta do processo evolutivo que os torna extremamente eficientes na inserção de informações genéticas no genoma da célula. Foi demonstrado por diversos estudos efetividade no uso de retrovírus como vetores na entrega de transgenes em células pluripotentes, no tratamento de câncer e na entrega de vacinas de DNA (MAETZIG; GALLA; BAUM, 2011; FERRUA & AIUTI, 2017; BUDZIK; NACE; IKEDA, 2021; CHO et al., 2021).

As principais aplicações da terapia gênica utilizando vetores retrovirais são transferência de “genes suicidas” (genes que, mediante estímulo, levam a morte celular), modificação de linfócitos T, terapia gênica corretiva e indução de apoptose/resposta imune. Há dois principais métodos na transdução de genes: terapias *in vivo* e *ex vivo*, em que o produto é entregue às células diretamente no organismo e na qual as células-alvo são modificadas geneticamente fora do organismo e depois transplantadas, respectivamente (ZHAO; ANSELMO; MITRAGOTRI, 2022).

O uso de vetores retrovirais demonstrou sucesso em terapias corretivas para deficiência de adenosina desaminase (ADA), enzima responsável pela conversão de adenosina em inosina na degradação de nucleotídeos, a doença afeta linfócitos B e T resultando em grave comprometimento do sistema imunológico. A terapia gênica também representa uma alternativa para o transplante de células hematopoiéticas e, diferentemente de terapias de reposição enzimática, não resulta em resposta imune à enzima exógena. Além da terapia corretiva, uma aplicação bem-sucedida e disponível no mercado envolve a transdução de linfócitos com o objetivo de induzir resposta antitumoral (SECORD & HARTOG, 2022).

Em 2016 foi aprovado pela Agência Europeia de Medicamentos o medicamento Strimvelis (*autologous CD34+ enriched cell fraction that contains CD34+ cells transduced*

with retroviral vector that encodes for the human ADA cDNA sequence) para tratamento da ADA, o princípio ativo são células CD34+ transduzidas por vetor gamma-retroviral. Outros dois exemplos são Yescarta (axicabtagene ciloleucel) e Tecartus (brexucabtagene autoleucel) aprovados em 2017 e 2020, respectivamente, ambos indicados para linfoma.

Vetores baseados em lentivírus

Os lentivírus compõem a família *Retroviridae* e são amplamente conhecidos por abrigar a subfamília dos vírus da imunodeficiência humana (HIV), felina (FIV) e simiana (SIV), causadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) em seus hospedeiros. Se tratando de organismos pertencentes à família *Retroviridae*, os lentivírus compartilham muitas das características expressas por outros retrovírus, com algumas particularidades que estabelecem um quadro distinto de outros retrovírus quanto às suas aplicações (GHALEH et al., 2020).

Os lentivírus não apresentam um ciclo de replicação lítico e seu genoma bastante complexo é composto de duas moléculas de RNA fita simples (ssRNA). Os lentivírus utilizam esse RNA para sintetizar DNA através da Transcriptase reversa viral e em seguida introduzem esse DNA ao genoma do hospedeiro de maneira estável por meio de enzimas virais chamadas integrases. Para isso, após a síntese da fita de DNA, ocorre a formação do PIC (complexo de pré-integração) constituído do dsDNA viral, da integrase viral e de proteínas do envelope, que interage com proteínas citoplasmáticas e cariofílicas da célula hospedeira, responsáveis por carrear o PIC para dentro do núcleo celular (BEDWELL & ENGELMAN, 2021) (Figura 1).

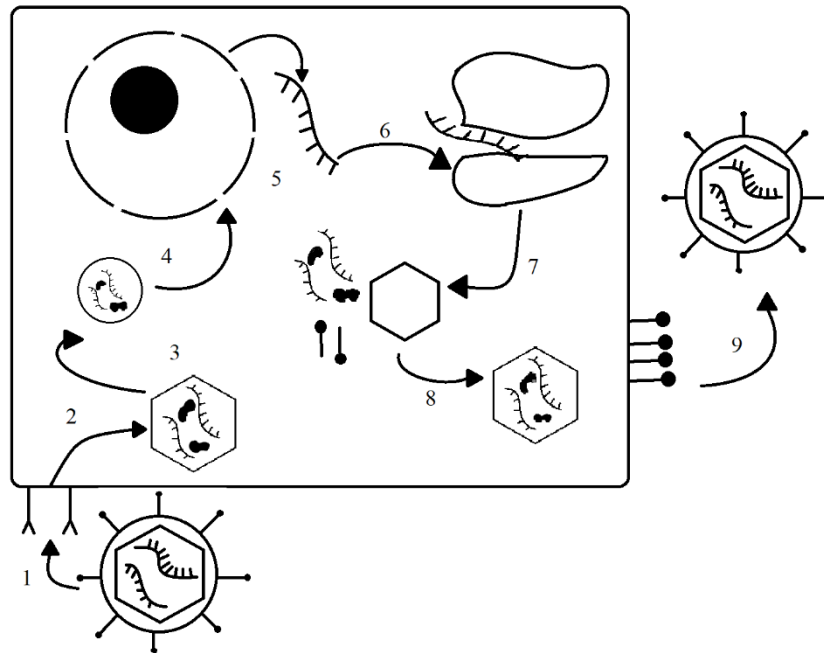


Figura 1. Representação esquemática do processo de infecção dos lentivírus. Legenda: 1 - reconhecimento de proteínas de superfície celular por receptores celulares específicos, como no caso da interação das espículas virais do HIV-1 em interação com os receptores CD4 dos linfócitos TCD4+; 2 - desnudamento viral e liberação do capsídeo no interior da célula; 3 - formação do PIC; 4 - translocação nuclear e integração do provírus; 5 - transcrição do provírus; 6 - tradução do provírus; 7 - síntese e maturação das proteínas virais; 8 - montagem da partícula viral e translocação das proteínas de superfície para a membrana da célula hospedeira; 9 - brotamento da partícula viral madura). Fonte: autoria própria.

O tamanho do PIC parece interferir nesse processo, tendo em vista que é necessária à sua passagem pelos poros da membrana nuclear durante a pré-integração. Após isso, as integrases virais juntamente de outras proteínas nucleares são responsáveis por integrar o provírus ao genoma do hospedeiro e a partir desse ponto segue-se o processo da síntese viral lisogênica (VEENHUIS et al., 2021.)

Os vetores lentivirais apresentam inúmeras vantagens para transferência gênica. A sua estabilidade de transdução, isso é, a forma segura com a qual o vetor transfere o gene de interesse para a célula hospedeira, até mesmo em células quiescentes (com baixa atividade metabólica/mitótica) é fundamental para a terapia gênica, pois garante não apenas a confiabilidade do vetor, promovendo um menor potencial oncogênico, mas também a sua efetividade e viabilidade aplicacional garantindo uma expressão a longo prazo do gene de

interesse. Sua capacidade de empacotamento, tropismo e baixa imunogenicidade são outras características que tornam o uso desses vetores muito interessante para terapia gênica. (COMISEL et al., 2021).

O tropismo e a transdução do material genético dos vetores lentivirais apresentam algumas características interessantes que os destacam dos demais vetores retrovirais. Sua preferência por infectar células do sistema imunológico, como ocorre no caso dos vírus da imunodeficiência humana, além de células nervosas (RITTINER et al., 2020), fornece um amplo espectro de aplicabilidade desses vetores em doenças neurodegenerativas congênitas, como no caso da Doença de Huntington e do mal de Parkinson (KAKOTY et al., 2021), alguns tipos de leucemias (WANG et al., 2021), hemofilia (MILANI et al., 2022), β -talassemia (NUALKAEW et al., 2021), entre outros (GUIMARAES et al., 2020).

Em adição ao seu tropismo natural para as células afetadas nessas doenças (nervosas e hematopoiéticas/imunológicas), estes vetores garantem a expressão à longo termo do transgene nessas células, podendo promover melhoras significativas nos quadros gerados por essas patologias graças a natureza integrativa genômica da sua transdução. Diversos estudos e protocolos vêm sendo elaborados nas últimas décadas visando a aplicação dos vetores lentivirais na terapêutica de doenças que até então desfrutavam de poucos recursos terapêuticos ou eram até mesmo ditas intratáveis (ZITTERSTEIJN; GONÇALVES; HOEBEN, 2020).

Todavia, o caráter integrativo dos lentivetores pode gerar a chamada mutagenese insercional, isso é, mutações provenientes de inserções próximas à proto-oncogenes, o que pode acarretar na geração de vírus competentes para replicação e transformações celulares malignas. Nos vetores lentivirais de terceira geração, contudo, esse problema foi remediado com o promotor das sequências LTR sendo sintetizado independentemente da proteína TAT do HIV para sua ativação (GUTIERREZ-GUERRERO; COSSET; VERHOEYEN, 2020).

Além disso, outra medida de segurança adotada foi a utilização de lentivetores não-integrativos a partir da inativação das integrases virais, sem interferências no processo de transcrição reversa e no transporte do PIC para o núcleo, dessa forma o vetor é responsável pelo transporte e transdução do material, enquanto a integração do gene terapêutico fica a cargo de outras ferramentas moleculares mais seguras, como a técnica de CRISPR-Cas9 e nucleases de dedos de zinco (*zinc finger nucleases/ZFN*), tornando o processo de integração mais confiável e seguro (YODER et al., 2021).

Essas características fornecem um amplo espectro de aplicação dos lentivetores em

doenças que compartilham em sua patogênese interações com células hematogênicas de linhagens variadas, estabelecendo um grande leque de populações celulares de interesse para a aplicação destes; a seguir encontram-se resumidas as principais aplicações de interesse clínico de acordo com essas populações celulares.

As células linfoides são alvo de grande interesse para a terapia gênica de inúmeras doenças imuno-debilitantes e autoimunes, como é o caso da AIDS (MEHMETOGLU-GURBUZ et al., 2021), leucemias linfocíticas (SAWAISORN et al., 2023) e deficiência de adenosina desaminase (ADA), com estudos clínicos em fase 1 - 2 em pacientes portadores de SCID-ADA (KOHN et al., 2021), etc. As características únicas combinadas dessas células como alvo terapêutico e do vetor em questão geram um interessante panorama para a investigação de tratamentos baseados na transdução de linfócitos a partir de vetores lentivirais (KU et al., 2021).

Os linfócitos T apresentam um baixo risco de sofrer transformações aleatórias quando comparados com células tronco linfoides, apesar disso, ainda podem ocorrer desregulações da expressão gênica dessas células, todavia, sem causar alteração de suas funções. As células T se mostram muito interessantes, por exemplo, na correção dos efeitos colaterais do transplante alogênico de medula, podendo, talvez, ser uma possibilidade de tratamento seguro para a leucemia mieloide crônica, por exemplo (CHEN et al., 2020).

Ainda se tratando das células T, mais especificamente dos linfócitos T CD4⁺, os lentivetores possibilitam uma abordagem imunomoduladora na terapia anti-HIV. Isso pois essas células são alvo fundamental do vírus durante seu processo de infecção e patogênese; infectando essas células o vírus se replica e compromete a resposta imune do hospedeiro, causando um quadro de imunocomprometimento. Desse modo, surge como alternativa de tratamento, a transdução dessas células a partir de lentivetores, fazendo com estas expressem um receptor variante em suas membranas, impedindo a adsorção e consequente infecção pelo HIV (KITAWI et al., 2024).

As células B, por sua vez, apresentam como características serem células de tolerância e controle imune específico, sendo mediadoras fundamentais da tolerância celular e, por essa razão, desempenham um papel de destaque no combate a doenças autoimunes e câncer por meio da TG, modulando a intensidade das respostas e reconhecendo receptores de membrana e padrões moleculares relacionados ao complexo de histocompatibilidade, por exemplo, podendo promover a partir dessas células um possível mecanismo de respostas anti-neoplásicas, anti-

doenças-autoimunes e até mesmo anti-HIV (ROGERS & CANNON, 2021).

Tendo em mente o mesmo princípio, diversas doenças genéticas causadoras de alterações nas funções normais ou síntese da hemoglobina estão intimamente relacionadas a regulação gênica ou mutações ligadas a linhagem hematopoiética eritróide. O caráter genômico e proteômico dessas condições abre uma janela para possíveis intervenções terapêuticas baseadas em TG e consequentemente, pelas características anteriormente citadas, os lentivetores se mostram muito interessantes nesse caso (TANHEHCO, 2021).

A anemia falciforme, por exemplo, é uma condição onde há uma alteração funcional na estrutura tridimensional da hemoglobina que leva a falcização dos eritrócitos; esta condição é causada pela substituição de uma glutamina por uma valina na cadeia polipeptídica, causada por uma mutação na posição 6 do gene da β -globina, conduzindo a polimerização da hemoglobina-S (falciforme/HbS) responsável pela alteração morfológica das células (TEBBI, 2022).

Estudos recentes, baseados na transdução de células CD34+ da medula de roedores apresentaram utilizando lentivetores apresentaram níveis terapêuticos de HbA-globina (funcional), restaurando a morfologia e fisiologia normal dessas células (HART et al., 2024), sem efeitos adversos relacionados à transdução viral tendo sido relatados até então (HSIEH et al., 2020).

A β -thalassemia, por sua vez, consiste em um conjunto de doenças causadas pelos níveis reduzidos ou inexistência de cadeias beta da hemoglobina, resultando num excesso de cadeias alfas não-ligadas, o que leva a proteína a precipitar-se em progenitores eritróides medulares, fazendo com que essas células morram precocemente e promovendo uma eritropoiese débil. O nível de redução da cadeia polipeptídica é determinado pelo tipo da mutação ocorrida no gene da beta globina, localizado no cromossomo 11 e está relacionado ao grau e evolução da doença (ALI et al., 2021).

Testes envolvendo a transdução de células progenitoras eritróides da medula de modelos murinos a partir de lentivetores já relataram uma grande eficácia na correção do gene da beta globina, expressão em níveis satisfatórios e de maneira estável da proteína funcional, restaurando a morfologia e fisiologia eritrocitária a longo prazo e de forma segura, revertendo total ou parcialmente o quadro da doença (NUALKAEW et al., 2021).

Doenças neurodegenerativas, tais como o Parkinson e o mal de Alzheimer, possuem um caráter proteômico, e consequentemente genômico, de fundamental importância em suas

patogêneses, isso pois os principais eventos responsáveis pela instalação de quadros neurodegenerativos congênitos são deficiências ou falhas na síntese proteica e desregulação da expressão gênica das células nervosas (WINGO et al., 2022).

Os vetores baseados em lentivírus já demonstram seu grande potencial para o tratamento de doenças neurodegenerativas, danos neurológicos e lesões medulares (ISLAM & TOM, 2022), e diversos estudos já comprovam a eficácia dos lentivetores no tratamento de doenças como o mal de Parkinson, promovendo uma melhora a longo prazo, sem relatos de efeitos adversos inesperados ou potencialmente prejudiciais até então (MEROLA et al., 2020) e no mal de Alzheimer, com abordagens metabólicas e neuroprotetoras, atrasando o avanço da doença (EL-BATTARI et al., 2021), com grande influência das células da glia, responsáveis pela vigília imune do sistema nervoso, possibilitando a formulação de estratégias terapêuticas baseadas em imunomodulação no sistema nervoso (MANDALAWATTA et al., 2024).

CONCLUSÃO

Os dados aqui reunidos demonstram que a terapia gênica baseada em vetores virais consolida-se como um pilar transformador na medicina contemporânea. Avanços significativos em virologia, engenharia genética e imunologia permitiram o desenvolvimento de vetores cada vez mais sofisticados, seguros e eficientes. Este progresso é materializado por diversas terapias aprovadas comercialmente e por um robusto e crescente cenário de ensaios clínicos, que desenha os contornos de um futuro promissor para o tratamento de doenças genéticas, oncológicas e infecciosas consideradas até então intratáveis.

A escolha do vetor ideal dentre os reunidos neste trabalho, bem como outros vírus ainda emergentes em estudos a respeito de suas aplicações em TG e outras técnicas baseadas em vetores sintéticos, como nanopartículas ou lipossomas, permanece como uma decisão crítica, fundamentada em um balanço criterioso entre sua capacidade de transdução, tropismo celular, capacidade de carga genética, perfil de imunogenicidade e potencial de genotoxicidade. O conhecimento aprofundado dessas características, associado a contínuas melhorias na purificação e produção em larga escala, é essencial para desenhar terapias mais precisas, duráveis e seguras.

Diante deste cenário é possível afirmar que a terapia gênica baseada em vetores virais evoluiu de uma promessa visionária para uma realidade clínica em franca expansão. Seu futuro

sucesso e consolidação clínica dependerá da contínua pesquisa translacional, que deve focar na superação dos desafios atuais, em especial as respostas imunes desencadeadas por estes vetores, estratégias de entrega tecido-específica e otimização de custo, além da integração inteligente com outras plataformas emergentes. Este panorama estabelece o avanço da medicina molecular em direção à tratamentos cada vez mais específicos, eficientes e personalizados, redefinindo o manejo de um espectro cada vez mais expressivo de doenças humanas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALI S, MUMTAZ S, SHAKIR HA, KHAN M, TAHIR HM, MUMTAZ S, MUGHAL TA, HASSAN A, KAZMI SAR, SADIA, IRFAN M, KHAN MA. Current status of beta-thalassemia and its treatment strategies. *Mol Genet Genomic Med* 9(12): e1788, 2021.
2. ALTAN-BONNET N, PANIGRAHI M. Nonlytic egress and transmission in the virus world. *Annu Rev Biochem* 94(1): 531-560, 2025.
3. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Aprovado primeiro produto de terapia avançada no Brasil. Brasília, 06 ago. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/aprovado-primeiro-produto-de-terapia-avancada-no-brasil>. Acesso em 27 dezembro de 2025.
4. ARABI F, MANSOURI V, AHMADBEIGI N. Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomed Pharmacother* 153: 113324, 2022.
5. BEDWELL GJ, ENGELMAN AN. Factors That Mold the Nuclear Landscape of HIV-1 Integration. *Nucleic Acids Res* 49(2): 621-635, 2021.
6. BUDZIK KM, NACE RA, IKEDA Y, RUSSEL SJ. Oncolytic Foamy Virus: Generation and Properties of a Nonpathogenic Replicating Retroviral Vector System That Targets Chronically Proliferating Cancer Cells. *J Virol* 95(10): e00015-21, 2021.
7. BULCHA JT, WANG Y, MA H, TAI PWL, GAO G. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduct Target Ther* 6(1): 53, 2021.
8. CETIN B, ERENDOR F, EKSİ YE, SANLIOGLU AD, SANLIOGLU S. Gene and Cell Therapy of Human Genetic diseases: Recent Advances and Future Directions. *J Cell Mol Med* 28(17): e70056, 2024.
9. CHAMEETTACHAL A, MUSTAFA F, RIZVI TA. Understanding Retroviral Life Cycle and its Genomic RNA Packaging. *J Mol Biol* 435(3): 167924, 2023.

10. CHEN S, HSIEH Y, TZENG H, LIN C, HSU K, CHIANG Y, LIN S, SU M, HSIEH W, LEE C. ABL Genomic Editing Sufficiently Abolishes Oncogenesis of Human Chronic Myeloid Leukemia Cells In Vitro and In Vivo. *Cancers* 12(6): 1399, 2020.
11. CHEN YH, KEISER MS, DAVIDSON BL. Viral Vectors for Gene Transfer. *Curr Protoc Mouse Biol* 8(4): e58, 2018.
12. CHO H, JANG Y, PARK K, CHOI H, NOWAKOWSKA A, LEE H, KIM M, KANG M, KIM J, SHIN HY, OH Y, KIM YB. Human endogenous retrovirus-enveloped baculoviral DNA vaccines against MERS-CoV and SARS-CoV2. *NPJ Vaccines* 6(37): 2021. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00303-w>
13. COMISEL RM, KARA B, FIESSER FH, FARID SS. Gene therapy process change evaluation framework: Transient transfection and stable producer cell line comparison. *Biochem Eng J* 176: 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108202>.
14. CRING MR, SHEFFIELD VC. Gene Therapy and Gene correction: targets, progress, and Challenges for Treating Human Diseases. *Gene Ther* 29(1-2): 3-12, 2022.
15. DODGE MJ, MACNEIL KM, TESSIER TM, WEINBERG JB, MYMRYK JS. Emerging antiviral therapeutics for human adenovirus infection: Recent developments and novel strategies. *Antiviral Res* 188: 105034, 2021.
16. DUVERGÉ A, NEGRONI M. Pseudotyping Lentiviral Vectors: When the Clothes Make the Virus. *Viruses* 12(11): 1311, 2020.
17. EL-BATTARI A, RODRIGUEZ L, CHAHINIAN H, DELÉZAY O, FANTINI J, YAHYI N, Di SCALA C. Gene Therapy Strategy for Alzheimer's and Parkinson's Diseases Aimed at Preventing the Formation of Neurotoxic Oligomers in SH-SY5Y Cells. *Int J Mol Sci* 22(21): 11550, 2021.
18. EMA. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Luxturna (Voretigene neparvovec), 2018. EPAR. European Public Assessment Report. Amsterdam: Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/luxturna>. Accessed on July 15, 2025.
19. EMA. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Imlygic, 2024. EPAR. European Public Assessment Report. Amsterdam: Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/imlygic>. Accessed on July 15, 2025.
20. FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Luxturna (voretigene neparvovec-rzyl) -

- gene therapy for RPE65 mutation-associated retinal dystrophy. Silver Spring, MD: FDA, 18 dez. 2017 (approval history). Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/luxturna>. Accessed on July 15, 2025.
21. FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Approval Letter. IMLYGIC (Talimogene Laherparepvec). Silver Spring: FDA, 2023. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/imlygic>. Accessed on July 15, 2025.
 22. FERRUA F, AIUTI A. Twenty-Five Years of Gene Therapy for ADA-SCID: from Bubble Babies to an Approved Drug. *Hum Gene Ther* 28(11): 972-981, 2017.
 23. GALLARDO J, PÉREZ-ILLANA M, MARTÍN-GONZÁLEZ N, SAN MARTÍN C. Adenovirus Structure: What Is New? *Int J Mol Sci* 22(10): 5240, 2021.
 24. GHOSH S, BROWN AM, JENKINS C, CAMPBELL K. Viral Vector Systems for Gene Therapy: a Comprehensive Literature Review of Progress and Biosafety Challenges. *Appl Biosaf* 25(1): 7-18, 2020.
 25. GHALEH HEG, BOLANDIAN M, DOROSTKAR R, JAFARI A, POUR MF. Concise Review on Optimized Methods in Production and Transduction of Lentiviral Vectors in Order to Facilitate Immunotherapy and Gene Therapy. *Biomed Pharmacother* 128: 110276, 2020.
 26. GREBER UF, GÓMEZ-GONZÁLEZ A. Adenovirus - a Blueprint for Gene Delivery. *Curr Opin Virol* 48: 49-56, 2021.
 27. GUIMARAES TAC, GEORGIU M, BAINBRIDGE JWB, MICHAELIDES M. Gene therapy for neovascular age-related macular degeneration: rationale, clinical trials and future directions. *Br J Ophthalmol* 105(2): 151-157, 2020.
 28. GUTIERREZ-GUERRERO A, COSSET F, VERHOEYEN E. Lentiviral Vector Pseudotypes: Precious Tools to Improve Gene Modification of Hematopoietic Cells for Research and Gene Therapy. *Viruses* 12(9): 1016, 2020.
 29. HART KL, LIU B, BROWN D, CAMPO-FERNANDEZ B, TAM K, ORR K, HOLLIS RP, BRENDEN C, WILLIAMS DA, KOHN DB. A novel high-titer, bifunctional lentiviral vector for autologous hematopoietic stem cell gene therapy of sickle cell disease. *Mol Ther Methods Clin Dev* 32(2): 101254, 2024.
 30. HSIEH MH, BONNER M, PIERCIEY FJ, UCHIDA N, ROTTMAN J, DEMOPOULUS L, SCHMIDT M, KANTER J, WALTERS MC, THOMPSON AA, ASMAL M, TISDALE JF. Myelodysplastic syndrome unrelated to lentiviral vector in a patient treated with gene

- therapy for sickle cell disease. *Blood Adv* 4(9): 2058-2063, 2020.
31. ISLAM A, TOM VJ. The Use of Viral Vectors to Promote Repair after Spinal Cord Injury. *Exp Neurology* 354: 114102, 2022.
 32. KAKOTY V, SARATHLAL KC, DUBEY SK, YANG CH, KESHARWANI P, TALIYAN R. Lentiviral mediated gene delivery as an effective therapeutic approach for Parkinson disease. *Neurosci Lett* 750: 135769, 2021.
 33. KHAN A, RIAZ R, SAAD A, AKILIMALI A. Revolutionary breakthrough: FDA Approves Vyjuvektm, the First Topical Gene Therapy for Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Ann Med Surg* 85(12): 6298-6301, 2023.
 34. KITAWI R, LEDGER S, KELLEHER AD, AHLENSTIEL CL. Advances in HIV Gene Therapy. *Int J Mol Sci* 25(5): 2771, 2024.
 35. KOHN DB, BOOTH C, SHAW KL, XU-BAYFORD J, GARABEDIAN E, TREVISAN V, CARBONARO-SARRACINO DA, SONI K, TERRAZAS D, SNELL K, IKEDA A, LEON-RICO D, MOORE TB, BUCKLAND KF, SHAH AJ, GILMOUR KC, DE OLIVEIRA S, RIVAT C, CROOKS GM, IZOTOVA N, TSE J, ADAMS S, SHUPIEN S, RICKETTS H, DAVILA A, UZOWURU C, ICREVERZI A, BARMAN P, CAMPO FERNANDEZ B, HOLLIS RP, CORONEL M, YU A, CHUN KM, CASAS CE, ZHANG R, ARDUINI S, LYNN F, KUDARI M, SPEZZI A, ZAHN M, HEIMKE R, LABIK I, PARROTT R, BUCKLEY RH, REEVES L, CORNETTA K, SOKOLIC R, HERSHFELD M, SCHMIDT M, CANDOTTI F, MALECH HL, THRASHER AJ, GASPAR HB. Autologous Ex Vivo Lentiviral Gene Therapy for Adenosine Deaminase Deficiency. *N Engl J Med* 384(21): 2002-2013, 2021.
 36. KOHN DB, CHEN YY, SPENCER MJ. Successes and Challenges in Clinical Gene Therapy. *Gene Ther* 30(10-11): 738-746, 2023.
 37. KOONIN EV, KRUPOVIC M, AGOL VI. The Baltimore Classification of Viruses 50 Years Later: How Does It Stand in the Light of Virus Evolution? *Microbiol Mol Biol Rev* 85(3): e0005321, 2021.
 38. KU MW, AUTHIÉ P, NEVO F, SOUQUE P, BOURGINE M, ROMANO M, CHARNEAU P, MAJLESSI L. Lentiviral vector induces high-quality memory T cells via dendritic cells transduction. *Commun Biol* 4(1): 713, 2021.
 39. LEBORGNE C, BARBON E, ALEXANDER JM, HANBY H, DELIGNAT S, COHEN DM, COLLAUD F, MURALEETHARAN S, LUPO D, SILVERBERG J, HUANG K, VAN

- WITTENGERGHE L, MAROLLEAU B, MIRANDA A, FABIANO A, DAVENTURE V, BECK H, ANGUELA XM, RONZITTI G, ARMOUR SM, LACROIX-DESMAZES S, MINGOZZI F. IgG-cleaving endopeptidase enables in vivo gene therapy in the presence of anti-AAV neutralizing antibodies. *Nat Med* 26(7): 1096-1101, 2020.
40. LI C, SAMULSKI RJ. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 21(4): 255-272, 2020.
 41. LI X, LE Y, ZHANG Z, NIAN X, LIU B, YANG X. Viral Vector-Based Gene Therapy. *Int J Mol Sci* 24(9): 7736, 2023.
 42. LUNDSTROM K. Viral vectors in gene therapy. *Dis Basel Switz* 6(2): 42, 2018. DOI: 10.3390/diseases6020042.
 43. MAETZIG T, GALLA M, BAUM C, SCHAMBACH A. Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application. *Viruses* 3(6): 677-713, 2011.
 44. MALDONADO MD, ROMERO-AIBAR J, PÉREZ-SAN-GREGORIO MA. COVID-19 Pandemic as a Risk Factor for the Reactivation of Herpes Viruses. *Epidemiol Infect* 149: e173, 2021.
 45. MANDALAWAITTA HP, RAJENDRA KC, FAIRFAX K, HEWITT AW. Emerging trends in virus and virus-like particle gene therapy delivery to the brain. *Mol. Ther. Nucleic Acids* 35(3): 102280, 2024.
 46. MARTUZA RL, MALICK A, MARKERT JM, RUFFNER KL, COEN DM. Experimental Therapy of Human Glioma by Means of a Genetically Engineered Virus Mutant. *Science* 252(5007): 854-856, 1991.
 47. MEHMETOGLU-GURBUZ T, YEH R, GARG H, JOSHI A. Combination gene therapy for HIV using a conditional suicidal gene with CCR5 knockout. *Virol J* 18(1): 31, 2021.
 48. MEROLA A, VAN LAAR A, LONER R, BANKIEWICZ K. Gene therapy for Parkinson's disease: contemporary practice and emerging concepts. *Expert Rev Neurother* 20(6): 577-590, 2020.
 49. MILANI M, CANEPARI C, LIU T, BIFFI M, RUSSO F, PLATI T, CURTO R, PATARROYO-WHITE S, DRAGER D, VISIGALLI I, BROMBIN C, ALBERTINI P, FOLLENZI A, AYUSO E, MUELLER C, ANNONI A, NADINI L, CANTORE A. Liver-directed lentiviral gene therapy corrects hemophilia A mice and achieves normal-range factor VIII activity in non-human primates. *Nat Commun* 13: 2454, 2022.
 50. MODY PH, PATHAK S, HANSON LK, SPENCER JV. Herpes Simplex Virus: a Versatile

- Tool for Insights into Evolution, Gene Delivery, and Tumor Immunotherapy. *Virol* 11: 1178122X2091327, 2020.
51. NUALKAEW T, SII-FELICE K, GIORGI M, MCCOLL B, GOUZIL J, GLASER A, VOON HPJ, TEE HY, GRIGORIADIS G, SVASTI S, FUCHAROEN S, HONGENG S, LEBOUICH P, PAYEN E, VADOLAS J. Coordinated β -globin expression and $\alpha 2$ -globin reduction in a multiplex lentiviral gene therapy vector for β -thalassemia. *Mol Ther* 29(9): 2841-2853, 2021.
 52. PAGANI I, DEMELA P, GHEZZI S, VICENZI E, PIZZATO M, POLI G. Host Restriction Factors Modulating HIV Latency and Replication in Macrophages. *Int J Mol Sci* 23(6): 3021, 2022.
 53. PARVEZ MK. Geometric Architecture of Viruses. *World J Virol* 9(2): 5-18, 2020.
 54. POLETTI V, MAVILIO F. Designing Lentiviral Vectors for Gene Therapy of Genetic Diseases. *Viruses* 13(8): 1526, 2021.
 55. RITTINER JE, MONCALVO M, CHIBA-FALEK O, KANTOR B. Gene-Editing Technologies Paired With Viral Vectors for Translational Research Into Neurodegenerative Diseases. *Front Mol Neurosci* 13: 148, 2020.
 56. ROGERS GL, CANNON PM. Genome Edited B cells: a New Frontier in Immune Cell Therapies. *Mol Ther* 29(11): 3192-3204, 2021.
 57. SANT'ANNA TB, ARAUJO NM. Adeno-associated Virus Infection and Its Impact in Human health: an Overview. *Virol J* 19(173): 2022. DOI: 10.1186/s12985-022-01900-4.
 58. SANTOS, NORMA SUELY DE OLIVEIRA; ROMANOS, MARIA TERESA; WIGG, MARCIA; COUCEIRO, JOSÉ NELSON. Estrutura viral e composição dos vírus. In: SANTOS NOS, ROMANOS MT, WIGG M, COUCEIRO JN. *Virologia Humana*, 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021, p.23-45.
 59. SAWAISORN P, ATJANASUPPAT K, UAESOONTRACHOON K, RATTANANON P, TREESUPPHARAT W, HONGENG S, ANURATHAPAN U. Comparison of the Efficacy of Second and Third Generation Lentiviral Vector Transduced CAR CD19 T Cells for Use in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia Both in Vitro and in Vivo Models. *PLoS One* 18(2): e0281735, 2023.
 60. SAYED N, ALLAWADHI P, KHURANA A, SINGH V, NAVIK U, PASUMARTHI SK, KHURANA I, BANOTHU AK, WEISKIRCHEN R, BHARANI KK. Gene therapy: Comprehensive Overview and Therapeutic Applications. *Life Sci* 294: 120375, 2022.

61. SECORD E, HARTOG NL. Review of Treatment for Adenosine Deaminase Deficiency (ADA) Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Ther Clin Risk Manag* 18: 939-944, 2022.
62. SHIRLEY JL, DE JONG YP, TERHORST C, HERZOG RW. Immune Responses to Viral Gene Therapy Vectors. *Mol Ther* 28(3): 709-722, 2020.
63. SWEENEY NP, VINK CA. The impact of lentiviral vector genome size and producer cell genomic to gag-pol mRNA ratios on packaging efficiency and titre. *Mol Ther Methods Clin Dev* 21: 574-584, 2021.
64. TANHEHCO YC. Gene Therapy for Hemoglobinopathies. *Transfus Apher Sci* 60(1): 103061, 2021.
65. TEBBI CK. Sickle Cell Disease, a Review. *Hemato* 3(2): 341-366, 2022.
66. TRIVEDI PD, BYRNE BJ, CORTI M. Evolving Horizons: Adenovirus Vectors' Timeless Influence on Cancer, Gene Therapy and Vaccines. *Viruses* 15(12): 2378, 2023.
67. VEENHUIS RT, ABREU CM, SHIRK EN, GAMA L, CLEMENTS JE. HIV replication and latency in monocytes and macrophages. *Semin Immunol* 51: 101472, 2021.
68. VERZOSA AL, MCGEEVER LA, BHARK S-J, DELGADO T, SALAZAR N, SANCHEZ EL. Herpes Simplex Virus 1 Infection of Neuronal and Non-Neuronal Cells Elicits Specific Innate Immune Responses and Immune Evasion Mechanisms. *Front Immunol* 12: 644334, 2021.
69. WANG D, WANG K, CAI Y. An overview of development in gene therapeutics in China. *Gene Ther* 27(7-8): 338-348, 2020.
70. WANG J-H, GESSLER DJ, ZHAN W, GALLAGHER TL, GAO G. Adeno-associated Virus as a Delivery Vector for Gene Therapy of Human Diseases. *Signal Transduct Target Ther* 9: 78, 2024.
71. WANG X, MA C, RODRÍGUEZ LABRADA R, QIN Z, XU T, HE Z, WEI Y. Recent advances in lentiviral vectors for gene therapy. *Sci China Life Sci* 64(11): 1842-1857, 2021.
72. WANG Y, BRUGGEMAN KF, FRANKS S, GAUTAM V, HODGETTS SI, HARVEY AR, WILLIAMS RJ, NISBET DR. Is Viral Vector Gene Delivery More Effective Using Biomaterials? *Adv Healthc Mater* 10(1): e2001238, 2020.
73. WATANABE M, NISHIKAWAJI Y, KAWAKAMI H, KOSAI K. Adenovirus Biology, Recombinant Adenovirus, and Adenovirus Usage in Gene Therapy. *Viruses* 13(12): 2502, 2021.

74. WINGO TS, LIU Y, GERASIMOV ES, VATTATHIL SM, WYNNE ME, LIU J, LORI A, FAUNDEZ V, BENNETT DA, SEYFRIED NT, LEVEY AI, WINGO AP. Shared Mechanisms across the Major Psychiatric and Neurodegenerative Diseases. *Nat Commun* 13: 4314, 2022.
75. YAHYA EB, ALQADHI AM. Recent Trends in Cancer therapy: a Review on the Current State of Gene Delivery. *Life Sci* 269: 119087, 2021.
76. YODER KE, RABE AJ, FISHEL R, LARUE RC. Strategies for Targeting Retroviral Integration for Safer Gene Therapy: Advances and Challenges. *Front Mol Biosci* 8: 644294, 2021.
77. ZENGEL J, CARETTE JE. Structural and Cellular Biology of adeno-associated Virus Attachment and Entry. *Adv Virus Res* 106: 39-84, 2020.
78. ZHANG W-W, LI L, LI D, LIU J, LI X, LI W, XU X, ZHANG MJ, CHANDLER LA, LIN H, HU A, XU W, LAM DM-K. The First Approved Gene Therapy Product for Cancer Ad-p53 (Gendicine): 12 Years in the Clinic. *Hum Gene Ther* 29(2): 160-179, 2018.
79. ZHAO Z, ANSELMO AC, MITRAGOTRI S. Viral Vector-based Gene Therapies in the Clinic. *Bioeng Transl Med* 7(1): e10258, 2021.
80. ZHU S, VIEJO-BORBOLLA A. Pathogenesis and Virulence of Herpes Simplex Virus. *Virulence* 12(1): 2670-2702, 2021.
81. ZITTERSTEIJN HA, GONÇALVES MAFV, HOEBEN RC. A primer to gene therapy: Progress, prospects, and problems. *J Inherit Metab Dis* 44(1): 54-71, 2020.