VETORES VIRAIS NA VEICULAÇÃO DE DNA TERAPÊUTICO:

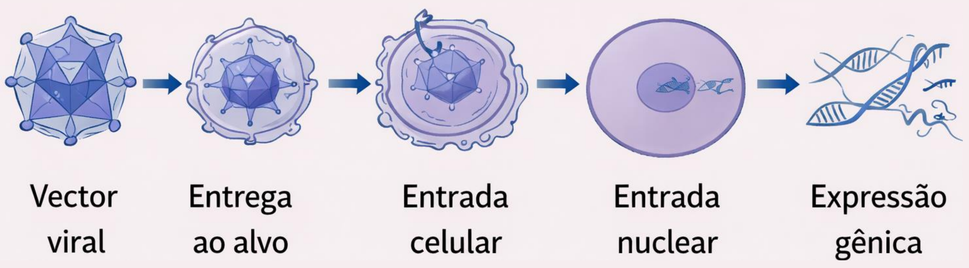
TROPISMO E ENTRADA NUCLEAR

Margarida Vieira [1], Madalena Teixeira [1], Mª Francisca Rosete[1], Sofia Martins[1] and Ana I. Fernandes[2]

[1] MSc in Pharmaceutical Sciences, Instituto Universitário Egas Moniz, Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal
[2] Egas Moniz Center for Interdisciplinary Research (CiiEM); Egas Moniz School of Health & Science, Campus Universitário, Quinta da Granja, 2829-511 Caparica, Almada, Portugal

1. Introdução

A **terapia génica** consiste na **introdução** ou **modificação** de **material genético** nas células do doente para **tratar** ou **prevenir doenças**. O **principal desafio** desta abordagem é a veiculação eficiente do DNA terapêutico, devido a barreiras como a **degradação, entrada celular** e **transporte nuclear**. Neste contexto, os vetores virais destacam-se pela elevada eficiência de transdução e capacidade de direcionamento para tecidos específicos.



2. Vetores Virais na Terapia Génica

Os vírus são **modificados** para serem deficientes em replicação, garantindo a segurança do paciente. Os vetores mais amplamente utilizados na clínica incluem:

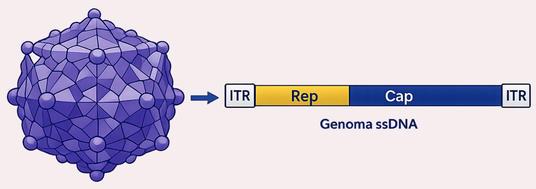
Adenovírus (Ad): Elevada expressão transitória e alta imunogenicidade, sendo preferidos para o tratamento do cancro.

Lentivírus (LV): Capazes de se integrar no genoma do hospedeiro, garantindo uma expressão estável a longo prazo.

Vírus Adeno-associados (AAV): Considerados os **vetores mais promissores** para **terapia in vivo** pela sua **baixa patogenicidade** e **tropismo versátil.**

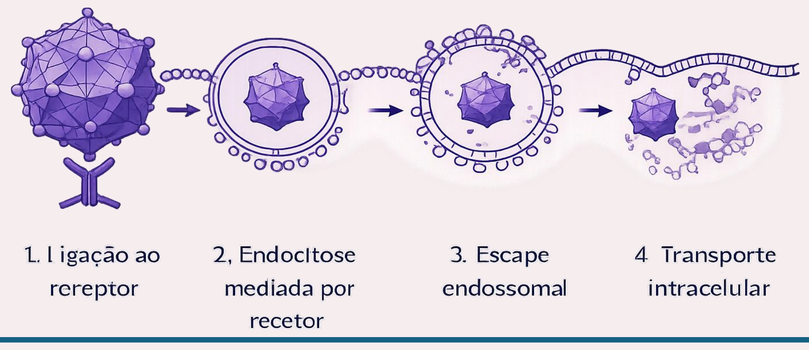
3. Vírus Adeno-Associados (AAV)

Estrutura dos AAVs:



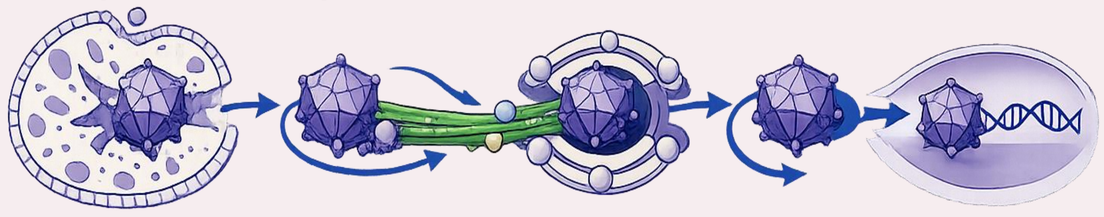
- Capsídeos não envelopados (20-26nm)
- Genoma: DNA cadeia simples
- Genes Rep e Cap: essenciais para a replicação e estrutura do capsídeo

Mecanismo de Internalização:



4. Entrada Nuclear do DNA Terapêutico

Após o **escape endossomal**, o **capsídeo do AAV** é **transportado pelo citoesqueleto até ao poro nuclear**, onde ocorre a **entrada do DNA.**



Desafios na entrada nuclear:

- Transporte dependente do ciclo celular
- Barreiras do complexo do poro nuclear
- Eficiência limitada em células em estado pós-mitótico

Estratégias de otimização:

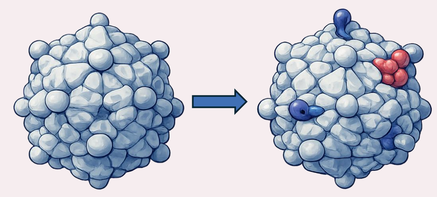
- Modificação de capsídeos
- Vetores com sinais NLS
- Inibição de vias de degradação
- Engenharia de proteínas do capsídeo

5. Tropismo dos Diferentes Serótipos

O **tropismo** (preferência por tecidos) é determinado pelas **proteínas do capsídeo** e pela **interação com recetores específicos**.

Serótipo	Órgãos/Tecidos Principais
AAVrh74	Músculo Esquelético
AAV2	Retina e SNC
AAV5	Fígado e SNC
AAV8	Fígado, Retina e SNC
AAV9	SNC e Coração

A **Engenharia de Capsídeos** permitem alterar ou **melhorar o tropismo**, **diminuir a patogenicidade** e **aumentar a eficácia da veiculação.**



6. Aplicações Clínicas

Zolgensma (Onasemnogene abeparvovec)

Primeiro tratamento de infusão única para uma doença neuromuscular sistémica.

Indicação: Atrofia Muscular Espinhal (AME)

Vetor: AAV9 (atravessa a barreira hematoencefálica e tem tropismo por neurónios motores)

Administração: IV

Resultados: melhoria significativa da sobrevivência e função motora

7. Desafios/Limitações

Imunogenicidade: A presença de anticorpos neutralizantes pré-existentes pode reduzir a eficácia terapêutica.

Capacidade de carga limitada: Os AAV suportam apenas cerca de 4,7 kb de DNA terapêutico.

Produção complexa e dispendiosa: Os processos de fabrico são tecnicamente exigentes e de elevado custo.

Tropismo não ideal: A distribuição fora do tecido-alvo pode originar efeitos indesejados.

Toxicidade: Doses sistémicas elevadas podem estar associadas a hepatotoxicidade, neurotoxicidade e microangiopatia trombótica.

Integração genómica indesejada: Embora rara nos AAV, continua a ser uma preocupação noutras classes de vetores virais.

8. Perspetivas Futuras

Engenharia de capsídeos: Desenvolvimento de capsídeos com maior especificidade tecidular e evasão ao sistema imunitário.

Design de vetores: Criação de vetores por evolução dirigida e inteligência artificial.

Sistemas combinados: Integração de AAV com nanopartículas para melhorar a veiculação terapêutica.

Vetores duplos: Transporte de genes de grandes dimensões através da divisão do transgene em dois vetores.

Controlo e edição génica: Uso de promotores reguláveis e ferramentas como CRISPR/Cas9 para modificações precisas.

Expansão terapêutica: Aplicação da terapia génica em doenças comuns e complexas.

9. Conclusão

Os **vetores virais**, especialmente os **AAV**, revolucionaram a terapia génica ao permitirem a **veiculação eficaz de DNA terapêutico para células-alvo.** O seu **tropismo** e a **capacidade de entrada nuclear** são determinantes para o sucesso terapêutico.

Apesar de **limitações** como **imunogenicidade** e **toxicidade** em altas doses, os avanços na engenharia de capsídeos têm vindo a tornar estas terapias mais seguras e eficazes.

Fontes e Agradecimentos:

Wang, J.-H., et al.. (2024). Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*
Zoulikha, M., Chen, Z., Wu, J., & He, W. (2025). Approved delivery strategies for biopharmaceuticals. *Chinese Chemical Letters*
Pham, Q., Glicksman, J., & Chatterjee, A. (2024). Chemical approaches to probe and engineer AAV vectors. *Nanoscale*
Guo, J., et al. (2024). Computationally guided AAV engineering for enhanced gene delivery. *Trends in Biochemical Sciences*
Mendes, B. B., et al. (2022). Nanodelivery of nucleic acids. *Nature Reviews Methods Primers*
Lopez-Gordo, E., et al. (2024). Natural adeno-associated virus serotypes and engineered adeno-associated virus capsid variants: Tropism differences and mechanistic insights. *Viruses*
Geng, G., et al. (2025). Viral and non-viral vectors in gene therapy: Current state and clinical perspectives. *eBioMedicine*

Imagens e esquemas gerados por Copilot

Produzido no âmbito da UC de Sistemas Terapêuticos Avançados | MICF | 4º ano | 2025-2026