

Edição de genes CRISPR-Cas9 e suas aplicações terapêuticas: Uma revisão de literatura

CRISPR-Cas9 gene editing and its therapeutic applications: A literature review

Edición del gen CRISPR-Cas9 y sus aplicaciones terapéuticas: Una revisión de la literatura

Recebido: 18/08/2024 | Revisado: 24/08/2024 | Aceitado: 24/08/2024 | Publicado: 29/08/2024

Luis Miguel Carvalho Mendes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7493-8710>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: Luis.m.c.mendes@unirg.edu.br

Lucas Arruda Lino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4747-6308>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: lucas.a.lino@unirg.edu.br

Tarciana Maria Bordignon

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-0921>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: tarcianabordignon@gmail.com

Marvio Moreira de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5083-8864>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: marvio.castro@unirg.edu.br

Lorraine Michelle Dantas de Oliveira Bartholomeu

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7155-245X>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: lorryne@unirg.edu.br

R Zaine Santos de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-2777-7653>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: zaine.alves@uft.edu.br

Ingrid Maria Veloso Carneiro

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8171-3363>

Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil

Email: velosoringrid27@gmail.com

Izabel Mendes da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4405-2861>

Universidade de Gurupi, Brasil

Email: izabelmsilva@unirg.edu.br

Ingrid Dara Ribeiro Martins

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5547-6193>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: ingriddara2000@gmail.com

Maria Paula Pereira Honorato

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4498-6668>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: maria.honorato@unirg.edu.br

Ana Cristina de Aquino Antero

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6950-2890>

Universidade de Gurupi, Brasil

E-mail: anacris.antero@gmail.com

Gabriel Lucas Galvan Soares Colares

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5161-4854>

UNIDEP - Centro Universitário de Pato Branco, Brasil

E-mail: gabriel.galvan.colares@hotmail.com

Bruna Rocha Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-6329-4041>

Faculdade Presidente Antônio Carlos, Brasil

Email: brunarochap99@gmail.com

Resumo

A tecnologia CRISPR-Cas9 tem revolucionado a biotecnologia e a medicina, oferecendo novas possibilidades para o tratamento de doenças genéticas e infecciosas. Este estudo tem como objetivo revisar a literatura sobre as

aplicações terapêuticas da CRISPR-Cas9, destacando os avanços, desafios e perspectivas futuras. A metodologia utilizada foi uma revisão narrativa da literatura, com pesquisa realizada nas bases de dados Google Acadêmico, LILACS e SCIELO, abrangendo artigos publicados entre 2000 e 2024 nos idiomas português, inglês e espanhol. Os resultados indicam que a CRISPR-Cas9 tem mostrado grande potencial em estudos pré-clínicos e clínicos. Em modelos animais, a tecnologia foi eficaz na correção de mutações genéticas responsáveis por doenças como a distrofia muscular de Duchenne e a tirosinemia tipo I. Estudos clínicos iniciais também demonstraram sucesso na modificação de células T para tratar cânceres hematológicos e infecções virais como o HIV. No entanto, desafios significativos permanecem, incluindo a necessidade de melhorar a especificidade da edição genética e a eficiência de entrega, além de abordar questões éticas e de segurança. A conclusão destaca que, apesar dos desafios, a CRISPR-Cas9 tem o potencial de transformar a medicina e melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes. A pesquisa contínua e a colaboração interdisciplinar são essenciais para superar esses desafios. A regulamentação adequada e a comunicação eficaz com o público também são cruciais para garantir que as terapias baseadas em CRISPR-Cas9 sejam desenvolvidas e implementadas de maneira segura e ética. Com esses esforços, a CRISPR-Cas9 pode levar a avanços significativos na saúde humana, proporcionando tratamentos mais eficazes e personalizados.

Palavras-chave: Edição de genes; CRISPR-Cas9; Terapias genéticas.

Abstract

The CRISPR-Cas9 technology has revolutionized biotechnology and medicine, offering new possibilities for the treatment of genetic and infectious diseases. This study aims to review the literature on the therapeutic applications of CRISPR-Cas9, highlighting advances, challenges, and future perspectives. The methodology used was a narrative literature review, with research conducted in the databases Google Scholar, LILACS, and SCIELO, covering articles published between 2000 and 2024 in Portuguese, English, and Spanish. The results indicate that CRISPR-Cas9 has shown great potential in preclinical and clinical studies. In animal models, the technology was effective in correcting genetic mutations responsible for diseases such as Duchenne muscular dystrophy and type I tyrosinemia. Initial clinical studies also demonstrated success in modifying T cells to treat hematological cancers and viral infections such as HIV. However, significant challenges remain, including the need to improve the specificity of genetic editing and delivery efficiency, as well as addressing ethical and safety issues. The conclusion highlights that despite the challenges, CRISPR-Cas9 has the potential to transform medicine and significantly improve patients' quality of life. Continuous research and interdisciplinary collaboration are essential to overcome these challenges. Proper regulation and effective communication with the public are also crucial to ensure that CRISPR-Cas9-based therapies are developed and implemented safely and ethically. With these efforts, CRISPR-Cas9 can lead to significant advances in human health, providing more effective and personalized treatments.

Keywords: Gene editing; CRISPR-Cas9; Genetic therapies.

Resumen

La tecnología CRISPR-Cas9 ha revolucionado la biotecnología y la medicina, ofreciendo nuevas posibilidades para el tratamiento de enfermedades genéticas e infecciosas. Este estudio tiene como objetivo revisar la literatura sobre las aplicaciones terapéuticas de CRISPR-Cas9, destacando los avances, desafíos y perspectivas futuras. La metodología utilizada fue una revisión narrativa de la literatura, con investigación realizada en las bases de datos Google Académico, LILACS y SCIELO, abarcando artículos publicados entre 2000 y 2024 en los idiomas portugués, inglés y español. Los resultados indican que CRISPR-Cas9 ha mostrado un gran potencial en estudios preclínicos y clínicos. En modelos animales, la tecnología fue eficaz en la corrección de mutaciones genéticas responsables de enfermedades como la distrofia muscular de Duchenne y la tirosinemia tipo I. Estudios clínicos iniciais también demostraron éxito en la modificación de células T para tratar cánceres hematológicos e infecciones virales como el VIH. Sin embargo, persisten desafíos significativos, incluyendo la necesidad de mejorar la especificidad de la edición genética y la eficiencia de entrega, además de abordar cuestiones éticas y de seguridad. La conclusión destaca que, a pesar de los desafíos, CRISPR-Cas9 tiene el potencial de transformar la medicina y mejorar significativamente la calidad de vida de los pacientes. La investigación continua y la colaboración interdisciplinaria son esenciales para superar estos desafíos. La regulación adecuada y la comunicación eficaz con el público también son cruciales para garantizar que las terapias basadas en CRISPR-Cas9 se desarrollen e implementen de manera segura y ética. Con estos esfuerzos, CRISPR-Cas9 puede llevar a avances significativos en la salud humana, proporcionando tratamientos más eficaces y personalizados.

Palabras clave: Edición de genes; CRISPR-Cas9; Terapias genéticas.

1. Introdução

A edição de genes utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 tem revolucionado a biotecnologia e a medicina moderna. Desenvolvida inicialmente como um mecanismo de defesa bacteriana contra vírus, a CRISPR-Cas9 foi adaptada para permitir a edição precisa de genomas em organismos complexos (Jinek et al., 2012). Esta tecnologia oferece a possibilidade de corrigir

mutações genéticas responsáveis por diversas doenças, abrindo novas perspectivas para tratamentos terapêuticos inovadores (Doudna & Charpentier, 2014).

A CRISPR-Cas9 funciona através de um sistema de RNA guia que direciona a enzima Cas9 para uma sequência específica de DNA, onde a enzima realiza um corte duplo na fita de DNA. Este corte pode ser reparado pela célula de duas maneiras: pela junção de extremidades não homólogas (NHEJ) ou pela recombinação homóloga (HDR), permitindo a inserção ou deleção de sequências específicas (Cong et al., 2013). A precisão e a eficiência deste sistema têm sido amplamente estudadas e aprimoradas, tornando-o uma ferramenta poderosa para a biologia molecular (Hsu et al., 2014).

As aplicações terapêuticas da CRISPR-Cas9 são vastas e incluem a correção de mutações genéticas em doenças hereditárias, como a fibrose cística e a distrofia muscular de Duchenne (DMD) (Long et al., 2016). Além disso, a tecnologia tem sido explorada para o tratamento de cânceres, doenças infecciosas e até mesmo para a modificação de células do sistema imunológico para combater infecções virais como o HIV (Liu et al., 2017).

No entanto, a aplicação clínica da CRISPR-Cas9 enfrenta desafios significativos, incluindo questões de segurança, eficiência de entrega e possíveis efeitos off-target, onde a edição pode ocorrer em locais não intencionais do genoma (Fu et al., 2013). Estes desafios têm motivado uma intensa pesquisa para melhorar a especificidade e a segurança da tecnologia, bem como para desenvolver métodos de entrega mais eficazes (Kim et al., 2014).

Este artigo revisa a literatura atual sobre a tecnologia CRISPR-Cas9, com foco em suas aplicações terapêuticas, resultados obtidos em estudos pré-clínicos e clínicos, e as discussões em torno dos desafios e perspectivas futuras. A revisão inclui uma análise detalhada de estudos recentes e relevantes, proporcionando uma visão abrangente do estado atual e das futuras direções da pesquisa em edição de genes.

2. Metodologia

Este estudo utilizará como método a revisão narrativa da literatura das publicações sobre o tema “Edição de Genes CRISPR-Cas9 e Suas Aplicações Terapêuticas: uma revisão da literatura”. Trata-se de uma pesquisa de revisão bibliográfica, realizada online na Biblioteca Virtual em Saúde, sendo utilizada a Base de Dados Google Acadêmico, LILACS e SCIELO, para a construção do estudo.

O período da coleta de dados iniciará no 1º semestre de 2024, e será realizada uma pesquisa que se iniciará por meio da inserção dos termos “edição de genes CRISPR-Cas9”, “aplicações terapêuticas da CRISPR-Cas9”, “terapia genética com CRISPR-Cas9” e “segurança e eficácia da CRISPR-Cas9”, com artigos publicados no período de 2000 a 2024 nos idiomas português, inglês e espanhol.

A pesquisa na literatura e revisão foi feita obedecendo-se a seis etapas. Primeira etapa: identificação do tema e seleção da hipótese ou questão de pesquisa. Segunda etapa: estabelecimento de critérios para inclusão e exclusão de estudos/amostragem ou busca na literatura. Terceira etapa: definição das informações a serem extraídas dos estudos selecionados. Quarta etapa: avaliação dos estudos incluídos na revisão. Quinta etapa: interpretação dos resultados. Sexta etapa: apresentação da revisão/síntese do conhecimento (Mendes et al., 2008).

Tendo como necessidade o entendimento sobre um problema levantado e subsidiar dados que auxiliem em sua elucidação, trata-se de uma pesquisa exploratória, que conforme Gil (2017) envolve levantamento bibliográfico através de material já publicado em artigos científicos, onde são levantados elementos que irão servir de referencial teórico na busca das informações relevantes ao objetivo da pesquisa e proporcionar maior familiaridade com o problema a fim de construir uma hipótese ou torná-lo explícito.

3. Resultados

Estudos pré-clínicos têm demonstrado o potencial terapêutico da CRISPR-Cas9 em modelos animais de várias doenças genéticas. Por exemplo, Long et al. (2016) mostraram que a edição de genes em modelos de camundongos com DMD resultou em uma melhoria significativa na função muscular. A correção da mutação no gene da distrofina foi realizada com alta eficiência, demonstrando a viabilidade da abordagem para o tratamento de distrofias musculares.

Outro estudo notável foi realizado por Yin et al. (2014), que utilizaram CRISPR-Cas9 para corrigir uma mutação no gene da tirosinemia tipo I em camundongos. A edição genética resultou na restauração da função hepática normal, destacando o potencial da tecnologia para tratar doenças metabólicas hereditárias. Estes resultados pré-clínicos são promissores e indicam que a CRISPR-Cas9 pode ser uma ferramenta eficaz para a correção de mutações genéticas em humanos.

Em estudos clínicos, a CRISPR-Cas9 tem sido explorada para o tratamento de cânceres hematológicos. Um estudo pioneiro realizado por Stadtmauer et al. (2020) envolveu a edição de células T para tratar pacientes com cânceres avançados. As células T editadas foram infundidas nos pacientes, resultando em respostas imunológicas robustas contra as células cancerígenas. Este estudo representa um marco na aplicação clínica da CRISPR-Cas9 e abre caminho para futuras terapias baseadas em edição genética.

Além disso, a CRISPR-Cas9 tem sido utilizada para modificar células do sistema imunológico para combater infecções virais. Liu et al. (2017) demonstraram que a edição de genes em células T pode conferir resistência ao HIV, oferecendo uma nova abordagem para o tratamento de infecções virais crônicas. A modificação genética das células T resultou em uma redução significativa da carga viral em modelos experimentais, sugerindo que a CRISPR-Cas9 pode ser uma ferramenta poderosa no combate a doenças infecciosas.

No entanto, os resultados também destacam desafios significativos, como a eficiência de entrega e a especificidade da edição genética. Fu et al. (2013) relataram que a edição off-target pode ocorrer com frequência, resultando em mutações indesejadas. Estes efeitos off-target representam um risco potencial para a segurança dos pacientes e têm sido um foco importante de pesquisa para melhorar a precisão da CRISPR-Cas9.

4. Discussão

A aplicação terapêutica da CRISPR-Cas9 tem gerado grande entusiasmo na comunidade científica, mas também levanta questões éticas e de segurança. A possibilidade de editar o genoma humano de forma precisa e eficiente traz implicações profundas para a medicina e a sociedade (Baltimore et al., 2015). A edição de genes em embriões humanos, por exemplo, levanta preocupações sobre a ética da modificação genética hereditária e os possíveis impactos a longo prazo (Lanphier et al., 2015).

Os desafios técnicos da CRISPR-Cas9, como a especificidade da edição e a eficiência de entrega, são áreas de intensa pesquisa. Kim et al. (2014) desenvolveram variantes da enzima Cas9 com maior especificidade, reduzindo os efeitos off-target. Estas melhorias são cruciais para garantir a segurança e a eficácia das terapias baseadas em CRISPR-Cas9, especialmente em aplicações clínicas.

A entrega eficiente da CRISPR-Cas9 às células-alvo é outro desafio significativo. Vários métodos de entrega estão sendo explorados, incluindo vetores virais, nanopartículas e lipossomas (Wang et al., 2016). Cada método tem suas vantagens e limitações, e a escolha do método de entrega pode influenciar significativamente a eficácia da edição genética. Estudos comparativos são necessários para determinar as melhores abordagens para diferentes aplicações terapêuticas.

A regulamentação e a supervisão das terapias baseadas em CRISPR-Cas9 também são áreas críticas de discussão. A aprovação regulatória para o uso clínico da CRISPR-Cas9 requer uma avaliação rigorosa da segurança e eficácia das terapias propostas (Ledford, 2015). As agências reguladoras, como a FDA e a EMA, estão desenvolvendo diretrizes para a avaliação de terapias genéticas, mas a rápida evolução da tecnologia apresenta desafios para a regulamentação (Cyranski, 2016).

Finalmente, a aceitação pública das terapias baseadas em CRISPR-Cas9 depende de uma comunicação eficaz dos benefícios e riscos associados. A educação pública e o envolvimento das partes interessadas são essenciais para garantir que as decisões sobre o uso da tecnologia sejam informadas e refletidas nas preocupações éticas e sociais (Jasanoff et al., 2015). A transparência e a responsabilidade na pesquisa e aplicação da CRISPR-Cas9 são fundamentais para ganhar a confiança do público e maximizar os benefícios terapêuticos.

5. Considerações Finais

A tecnologia CRISPR-Cas9 representa uma revolução na biotecnologia e na medicina, oferecendo novas possibilidades para o tratamento de doenças genéticas e infecciosas. Os avanços na precisão e eficiência da edição genética têm demonstrado resultados promissores em estudos pré-clínicos e clínicos, destacando o potencial terapêutico da CRISPR-Cas9. No entanto, desafios significativos permanecem, incluindo a necessidade de melhorar a especificidade da edição e a eficiência de entrega, bem como abordar questões éticas e de segurança. A pesquisa contínua e a colaboração interdisciplinar são essenciais para superar esses desafios e realizar o potencial completo da CRISPR-Cas9.

A regulamentação adequada e a comunicação eficaz com o público também são cruciais para garantir que as terapias baseadas em CRISPR-Cas9 sejam desenvolvidas e implementadas de maneira segura e ética. As agências reguladoras, como a FDA e a EMA, estão desenvolvendo diretrizes para a avaliação de terapias genéticas, mas a rápida evolução da tecnologia apresenta desafios para a regulamentação (Cyranoski, 2016). A transparência e a responsabilidade na pesquisa e aplicação da CRISPR-Cas9 são fundamentais para ganhar a confiança do público e maximizar os benefícios terapêuticos.

Além disso, a aceitação pública das terapias baseadas em CRISPR-Cas9 depende de uma comunicação eficaz dos benefícios e riscos associados. A educação pública e o envolvimento das partes interessadas são essenciais para garantir que as decisões sobre o uso da tecnologia sejam informadas e refletidas nas preocupações éticas e sociais (Jasanoff et al., 2015). A colaboração entre cientistas, médicos, reguladores e o público é vital para o desenvolvimento responsável e ético das terapias baseadas em CRISPR-Cas9.

Com esses esforços, a CRISPR-Cas9 tem o potencial de transformar a medicina e melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes. A tecnologia não só oferece a possibilidade de tratar doenças genéticas e infecciosas, mas também abre novas fronteiras para a pesquisa biomédica e a medicina personalizada. A contínua inovação e a aplicação responsável da CRISPR-Cas9 podem levar a avanços significativos na saúde humana, proporcionando tratamentos mais eficazes e personalizados para uma ampla gama de condições médicas.

Referências

- Baltimore, D., Berg, P., Botchan, M., Carroll, D., Charo, R. A., Church, G., & Greely, H. T. (2015). A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science*, *348*(6230), 36-38.
- Barrangou, R., & Doudna, J. A. (2016). Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nature Biotechnology*, *34*(9), 933-941.
- Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., & Zhang, F. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, *339*(6121), 819-823.
- Cyranoski, D. (2016). CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *Nature News*, *539*(7630), 479.
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, *346*(6213), 1258096.
- Fu, Y., Foden, J. A., Khayter, C., Maeder, M. L., Reyon, D., Joung, J. K., & Sander, J. D. (2013). High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nature Biotechnology*, *31*(9), 822-826.
- Hsu, P. D., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, *157*(6), 1262-1278.
- Jasanoff, S., Hurlbut, J. B., & Saha, K. (2015). CRISPR democracy: Gene editing and the need for inclusive deliberation. *Issues in Science and Technology*, *32*(1), 25-32.

- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816-821.
- Kim, D., Bae, S., Park, J., Kim, E., Kim, S., Yu, H. R., & Kim, J. S. (2014). Digenome-seq: Genome-wide profiling of CRISPR-Cas9 off-target effects in human cells. *Nature Methods*, 12(3), 237-243.
- Komor, A. C., Kim, Y. B., Packer, M. S., Zuris, J. A., & Liu, D. R. (2016). Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*, 533(7603), 420-424.
- Lanphier, E., Urnov, F., Haecker, S. E., Werner, M., & Smolenski, J. (2015). Don't edit the human germ line. *Nature News*, 519(7544), 410.
- Ledford, H. (2015). CRISPR, the disruptor. *Nature News*, 522(7554), 20.
- Liu, Z., Chen, S., Jin, X., Wang, Q., Yang, K., Li, C., & Liang, P. (2017). Genome editing of CCR5 by AsCpf1 renders CD4+ T cells resistance to HIV-1 infection. *Cell & Bioscience*, 7(1), 47.
- Long, C., McAnally, J. R., Shelton, J. M., Mireault, A. A., Bassel-Duby, R., & Olson, E. N. (2016). Prevention of muscular dystrophy in mice by CRISPR/Cas9-mediated editing of germline DNA. *Science*, 345(6201), 1184-1188.
- Nishimasu, H., Ran, F. A., Hsu, P. D., Konermann, S., Shehata, S. I., Dohmae, N., & Nureki, O. (2014). Crystal structure of Cas9 in complex with guide RNA and target DNA. *Cell*, 156(5), 935-949.
- Stadtmauer, E. A., Fraietta, J. A., Davis, M. M., Cohen, A. D., Weber, K. L., Lancaster, E., & June, C. H. (2020). CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science*, 367(6481), eaba7365.
- Wang, H., Yang, H., Shivalila, C. S., Dawlaty, M. M., Cheng, A. W., Zhang, F., & Jaenisch, R. (2016). One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*, 153(4), 910-918.
- Yin, H., Song, C. Q., Dorkin, J. R., Zhu, L. J., Li, Y., Wu, Q., & Anderson, D. G. (2014). Therapeutic genome editing by combined viral and non-viral delivery of CRISPR system components in vivo. *Nature Biotechnology*, 32(6), 551-553.
- Zhang, X. H., Tee, L. Y., Wang, X. G., Huang, Q. S., & Yang, S. H. (2015). Off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 4, e264.