



A CRISPR-CAS9 COMO TERAPÊUTICA ALTERNATIVA EM DOENÇAS

CRISPR-CAS9 AS A THERAPEUTIC ALTERNATIVE IN DISEASES

*Renata de Miranda Nunes¹
Elenice Stroparo²*

Resumo

A Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) associada a proteína Cas9 é uma ferramenta da biologia molecular utilizada na edição genética. CRISPR-Cas9 guiado pelo RNA demonstra imenso potencial e maior vantagem em comparação com as técnicas convencionais. Sua capacidade de corrigir mutações ao editar genomas, é o que a torna uma possível terapêutica para desordens causadas por alterações genéticas e até no câncer. Ainda há limitações em seu uso, acerca de sua efetividade, segurança, efeitos colaterais, saúde da célula editada e resposta imune. É necessário regulamentações no que diz respeito a sua aplicação in vivo. O trabalho apresentará a aptidão da CRISPR-Cas9 na engenharia genética, sua classificação, meios de transporte e um apanhado do seu mecanismo. O intuito da revisão é discorrer sobre o uso da CRISPR-Cas9 como alternativa de terapia, a ética envolvida na sua utilização. A metodologia adotada foi a revisão de literatura incluindo artigos publicados durante o período de 2010 a 2025. Os estudos indicam que a CRISPR possui o potencial para ser aplicada em diversas áreas da saúde, visando a oferta de melhor qualidade de vida do paciente. Dado o seu potencial comprovado, ainda é necessário aprimorar a especificidade da edição genética e abordar claramente as questões éticas e de segurança. A conclusão apresenta a técnica como capaz de revolucionar a medicina atual ao possibilitar a personalização de terapias. A transparência e a comunicação eficaz com o público geral é indispensável para redigir as políticas éticas e implementar a técnica com a máxima segurança possível.

Palavras-chave: CRISPR-Cas9. Possibilidade terapêutica. Doenças genéticas.

Abstract

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) associated with Cas9 protein is a molecular biology tool used in genetic editing. CRISPR-Cas9 guided by RNA shows an enormous potential and greater advantage in comparison to other conventional therapies. Its capacity of correcting mutations through altering genomes is what allows it as possible to be therapeutic to disorders caused by genetic alterations and even cancer. There are still limitations with its use, surrounding its effectiveness, security, collateral effects, integrity of the edited cell and immune response. It is imperative the establishment of regulations in what evolves its use in vivo. This work will introduce CRISPR-Cas9 aptitude in genetic engineering, its classification, ways of delivery and an overview of its mechanisms. The objective of this review is to discuss CRISPR-Cas9 use as a therapeutic alternative, and the ethics surrounding its use. Literature review is the methodology used including articles published during the period of 2015 through 2025. Studies show that CRISPR has the potential to be applied in many scopes of science, viewing the best quality of the patient's life. Given its proven potential there is still need to better genetic editing specificity and approach ethical and security aspects. The conclusion presents the technology as the one to

1 Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR). Endereço para correspondência: renata.miranda.nunes@gmail.com

2 Docente do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR). Endereço para correspondência: elenice.stroparo@utp.br



revolutionize current medicine treatments through enabling therapeutic personalization. Transparency and effective communication with the public is indispensable to reach ethical politics and implementation with its most security.

Keywords: CRISPR-Cas9. Therapeutic alternative. Genetic diseases.

1 Introdução

O rápido e crescente avanço da CRISPR-Cas9 aplicado a terapêuticas, permitiu, até o momento, que imunoterapias e formas de contornar a resistência aos quimioterápicos fossem possíveis, oferecendo uma resposta clínica favorável aos pacientes submetidos ao tratamento contra o câncer (Wang et al., 2022^a). Inumeráveis pessoas encontram-se no meio de algum tratamento contra enfermidades, com a abordagem invasiva ou não. As alternativas disponíveis na medicina atual são limitadas e possuem diversos efeitos colaterais. Por esse motivo há a necessidade de uma terapia que seja eficaz, segura, acessível e aplicável na maior parte dos tratamentos patológicos. A técnica da CRISPR-Cas9 vem se apresentando como essa possível opção, ao oferecer resultados palpáveis e positivos. Outrossim, por se tratar de edição genética há inúmeras éticas a serem respeitadas, que fundamentam as discussões acerca de sua aplicação. Estudos são indispensáveis para compreender melhor o potencial terapêutico da CRISPR-Cas9 e para delimitar as divisas entre o que é considerado correto e incorreto na edição genética.

A relevância do trabalho se dá no acelerado avanço da CRISPR-Cas9 na medicina e da urgência em compreender por inteiro todo o potencial dessa técnica no organismo humano, como uma opção terapêutica. Assim que todas as respostas sobre segurança e eficácia forem respondidas, é possível desenvolver abordagens de edição genética que garantam a longevidade do Homem. Por isso, a revisão literária contribui para construir um panorama atualizado sobre a CRISPR-Cas9, ao apresentar inovações na área e direcionar uma análise acerca da aplicação da técnica como terapêutica.

O presente trabalho tem como intuito introduzir o conceito e o mecanismo da tecnologia CRISPR-Cas9 como uma alternativa terapêutica moderna. Para que isso seja possível, é necessário compreender seu funcionamento in vivo e in vitro, de forma a explorar opções que sejam benéficas para o paciente em tratamento e garantir a reprodutibilidade da técnica.

2 Metodologia

O presente artigo é resultado de uma revisão de literatura conduzida no período de fevereiro a dezembro de 2025. As bases de dados consideradas foram SciELO, Google Scholar e a Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD), PubMed, para artigos publicados nos últimos 15 anos, utilizando os descritores 'CRISPR-Cas9' 'Câncer' 'Edição Genética' 'Tratamentos contra o câncer'



3 Discussão

A técnica da Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats Associated Protein 9 ou Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR-Cas9) foi descoberta em 1987 por cientistas japoneses que estudavam o genoma da bactéria *Escherichia coli* (Vimal et al., 2024). Seis anos após a descoberta, pesquisadoras da Espanha reportaram o mesmo mecanismo em genomas de organismos do domínio archaea. (Almeida; Souza, 2021).

O pesquisador espanhol, Francisco Mojica, foi o primeiro a caracterizar o que é a CRISPR em 1993. Logo, relatou que esses fragmentos observados eram correspondentes a parte dos genomas de bacteriófagos invasores. Então, foi possível a elaboração da hipótese de que a CRISPR é um sistema imunitário adaptativo inato a certos organismos (Almeida; Souza, 2021). No ano de 2012, as pesquisadoras Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier, propuseram a possibilidade da modificação e implementação da CRISPR-Cas9 para ser aplicado como uma ferramenta biotecnológica para edição programada de genomas, em que uma fita de ácido desoxirribonucleico (DNA) poderia ser clivada *in vitro* para propósitos terapêuticos. Assim, geraram um protocolo básico composto por três passos. O primeiro é a formação e a síntese do RNA (ácido ribonucleico) guia que pode ligar-se a Cas9 e se tornar capaz de reconhecer e se juntar a uma sequência específica de DNA que deseja corrigir. O segundo passo consiste em introduzir a CRISPR-Cas9 *in vitro* na célula a ser tratada, assim, o complexo iria reconhecer o exato local do genoma a ser cortado pela endonuclease Cas9 (Barbosa et al., 2019). Os mecanismos de reparos celulares são ativados no terceiro passo devido a clivagem enzimática, que pode causar a perda ou a adição de genes na região trabalhada. Essa etapa é conhecida como Non-Homologous End Join Repair (NHEJ) (Zhan, 2019).

Logo, a CRISPR é um sistema de defesa inato das bactérias contra bacteriófagos capaz de corrigir a expressão de genes alvos, ao armazenar e clivar o material molecular do vírus ao seu DNA (Cardoso; Siqueira, 2023). A proteína multifuncional Cas9 (Cas = CRISPR Associated Proteins ou proteína associada a CRISPR) está presente na resposta contra a invasão viral, guiando o ácido ribonucleico para clivar o DNA bacteriano. Essa proteína permite a formação de memória de defesa em uma eventual transferência lateral genética, ao incorporar um bacteriófago a uma bactéria (Chen et al., 2019^b). A união da CRISPR e da proteína Cas9 resulta na CRISPR-Cas9, nome de uma técnica de biologia molecular capaz de editar sequências de DNA localizadas em qualquer região do genoma. O complexo formado é capaz de degradar o material genético exógeno, mediante a um contato prévio com o organismo que irá se manifestar em forma de ácido ribonucleico (RNA).

Para atuar como um sistema de defesa bacteriano, a proteína Cas9 necessita de um direcionamento, o RNA guia. A enzima endonuclease Cas9 possui dois lóbulos: o lóbulo de reconhecimento (REC) que é importante para o transporte do RNA guia (gRNA); e o lóbulo nucleose (NUC) responsável pela clivagem do DNA. A arquitetura bi-lobular permite a formação do complexo Cas9-gRNA, oferecendo maior versatilidade na edição genética (Barroso, 2024).



A CRISPR não é a primeira ferramenta criada e disponível para a edição genética, mas é de longe a mais eficiente, versátil e facilmente usada por cientistas. Porém, há três grandes preocupações que foram expressas em diversas publicações científicas – como a Academia Nacional de Ciências, são elas: os efeitos off-target (que fugiram do alvo definido deserdando a sua posição), as consequências não pretendidas on-target (no local pretendido, porém com efeitos não planejados) e as modificações epigenéticas (Scheinerman; Sherkow, 2025).

Gouw e Peters (2025) defendem veemente o uso sábio da CRISPR, equilibrando a segurança no tratamento junto com o estabelecimento de normas e éticas que limitem o uso e a experimentação da técnica. Hoje, não há um acordo universal que regulamenta o uso da tecnologia CRISPR. Em 2018, a China anunciou o sucesso na edição gênica de duas crianças e um feto ainda na placenta, que consistiu na retirada do gene CCR5, bloqueando o caminho possível que o HIV (vírus da imunodeficiência humana) faria para adentrar as células do sistema imunológico. O caso repercutiu na comunidade científica, onde inúmeras figuras respeitadas se referiram à atitude do professor como prematura e exigiram explicações dos métodos adotados.

3.1 A Edição gênica como alternativa terapêutica personalizada

A CRISPR-Cas9 revolucionou a ciência ao oferecer um método simples e versátil capaz de manipular o genoma, o transcriptoma e o epigenoma. A técnica, quando incorporada a informações genéticas patológicas já conhecidas, oferecerá um conjunto de genes essenciais para uma terapêutica eficaz. É sabido da existência de três sistemas da CRISPR-Cas9, sendo I, II e III. Entretanto, somente a CRISPR-Cas9 II demonstra ser a mais adequada para aplicar na engenharia genética, pois só exige a atuação de uma única endonuclease. O quadro 1 compara os três tipos existentes da CRISPR-Cas (Barbosa; Cavalcante, 2019).

Quadro 1 - Comparação entre os tipos existentes da CRISPR.

	TIPO I	TIPO II	TIPO III
Ativa adaptação, seja para depende da PAM quando selecionar proto-spacer	Sim	Sim	Não
Expressa conjugado de pre-crRNA	Complexo de cascata	Cas9 (Csn1/Csx12) tracrRNA	Cas6
Expressa enzimas de clivagem pre-crRNA	Cas6 e subunidade	RNase III	Cas6
Expressa processo para maturação de crRNA	1- Típica repetição de fragmentos de 8-nucleotídeos no final 5' 2- Uma estrutura de 'presilha' na parte 3'	Clivagem em uma distância fixa dentro dos spacers (provavelmente catalisado pela Cas9)	1 - Cas6 é responsável pelo processamento dos passos 2- Aparar a parte final do 3' da crRNA DISTAL (nucleases ainda não foram identificadas)
Interfere em métodos de reconhecimento do alvo	Cascata complexa guiada pelo crRNA	Cas9 carregado com crRNA direto	O fragmento de DNA invasor que não possui base para pareamento com a 5' de repetição do crRNA maduro (resulta em interferência)



Interfere na clivagem de enzimas alvo	Cas3	Cas9	Cas6 ou Complexo Cmr/Csm
Interfere no alvo	DNA	DNA	DNA e RNA
Depende ou não da PAM para processo de clivagem	Sim	Sim	Não
Sistema especial que contém:	cas3gene	'HNH' - tipo de sistema	Polimerase e módulos de RAMP
Distribuição de três tipos de sistema CRISPR-Cas	Comum em Archaea	Somente em bactérias	Comum em Archaea

Fonte: Wang et al., 2022^b (adaptado).

A CRISPR-Cas9 II é constituída por três componentes: Proteína Cas9, uma enzima que atua para cortar as duas fitas do DNA. RNA Guia (sgRNA), uma molécula de RNA que é produzida em laboratório e fixa-se a uma sequência de DNA particular no genoma, direcionando a proteína Cas9 até o local de interesse. Região PAM, é uma sequência curta no DNA, que a proteína Cas9 identifica para assegurar o caminho exato do corte.

Atualmente, o transporte do sistema CRISPR-Cas9 para as demais células continua a ser um desafio constante para a engenharia genética, pois necessita de métodos seletivos que introduza o complexo apenas nas células pretendidas (Bernardes, 2021).

Na medicina personalizada, a CRISPR-Cas9 apresenta-se como uma alternativa para superar a resistência às drogas utilizadas durante a quimioterapia, no exemplo do tratamento oncológico. Desde o projeto Genoma Humano, caracterizar os elementos genéticos envolvidos nos processos fisiológicos e patológicos têm sido prioridade para a comunidade científica. O perfil genético individual pode ser analisado através da NGS (next-generation sequencing ou sequenciamento genético de última geração) e das mutações identificadas, que podem ser editadas com o auxílio da CRISPR-Cas9 (Cong et al., 2013).

A grande maioria dos pacientes em tratamentos longos, desenvolvem resistências aos medicamentos devido a mutações no DNA e mudanças metabólicas que aumentam a degradação dos fármacos. A análise da mutação permite o planejamento de um tratamento segundo a medicina personalizada. O principal objetivo da medicina molecular personalizada é alcançar genes específicos causadores de doenças, enquanto minimiza os danos dos efeitos colaterais causados pelos mecanismos da doença (Liu; Zhao, 2018).

O aperfeiçoamento do NGS auxiliou no aprofundamento da medicina precisa, provendo uma poderosa ferramenta aos médicos durante o tratamento. Também, a NGS é capaz de detectar uma mutação característica de um câncer com apenas um nucleotídeo (Kim et al., 2017). Como todas as tecnologias, a NGS possui limitações. A NGS tem dificuldade na análise sensível da detecção de mutações provenientes de tumores pequenos e com baixo índice de mutação devido a heterogeneidade tumoral.

Sobre o transporte da CRISPR-Cas9 até o tecido alvo, os exossomos derivados de células cancerígenas, funcionam como um veículo natural que consegue, de forma eficiente, conduzir os



plasmídeos da CRISPR-Cas9 no câncer. Em comparação com exossomos derivados da célula epitelial, que não possuem potência e eficácia na mesma função *in vivo*, provavelmente por conta do tropismo celular intrínseco (Kim et al., 2017).

3.2 Meios de transporte da CRISPR-CAS9

Para que a CRISPR-Cas9 exerça seu papel na regulação genética é necessário escolher a melhor forma de transporte até o alvo. Há algumas opções estudadas que conseguem entregar o completo, porém há ressalvas. O vetor viral foi desenvolvido a partir da habilidade viral de transferir o material genético atípico dentro das células, para entregar os genes terapêuticos no tecido doente. Há três tipos de vetores virais: o adenovírus, lentivírus e vírus associados a adeno (AAV) (Chen et al., 2019^a).

Ainda que os vetores virais não causem doenças severas em humanos, eles possuem a capacidade de induzir a sua eliminação pelo sistema imunológico, diminuindo sua eficácia no transporte. Outra preocupação ao utilizar o vetor viral, é a possibilidade da integração juntamente com o DNA da célula hospedeira, resultando na expressão gênica que causa o efeito colateral de uma possível mutação adversa. O Adenovírus, caracterizado por sua dupla fita de DNA e diâmetro de 80 a 100 nm, é capaz de armazenar uma larga carga genética, pois seu genoma possui 34-43 kb (Selvakumar et al., 2022). A habilidade de armazenamento intrínseco é o que explica sua eficácia na entrega do complexo. Os múltiplos avanços da tecnologia permitiram a criação de um adenovírus geneticamente modificado sem o seu genoma viral, permitindo assim, o carregamento de DNA de até 37 kb. O principal benefício ao utilizar o Adenovírus é que seu genoma não se integra com o a célula hospedeira, reduzindo drasticamente os efeitos colaterais não desejados. Porém, a patogenicidade intrínseca desse tipo de vetor pode ativar a resposta imunológica do sistema imune. Assim, uma alternativa ainda estudada é encapsular o Adenovírus com ácido glicólico para reduzir a resposta imune do organismo, impedindo a infecção *in vitro* na presença de anticorpos neutralizantes. (Xu et al., 2021).

O vírus associado a adeno ou Adeno-associated virus (AAVs) é uma proteína capsídeo de formato icosaedro com diâmetro de aproximadamente 26 nm e genoma de ácido desoxirribonucleico de fita única ou single stranded DNA (ssDNA) com 4.7 kb. Por conta de sua não patogenicidade, diversidade de sorotipos, tropismo variável, expressão gênica de longo termo e a habilidade de infectar células que se dividem e não se dividem, esse meio de transporte é extensivamente aplicado nos sistemas de entrega *in vivo*. O armazenamento do AAV varia de 4,1 a 4.9 kb de tamanho, e mesmo que seja capaz de empacotar vetores maiores que seu genoma, ainda precisa carregar elementos essenciais para sua expressão gênica. Por isso, a sua eficiência no empacotamento cai pela metade quando analisado o tamanho da proteína Cas9 para transporte (aproximadamente 4,2 kb) (Li et al., 2020).



O lentivírus é uma subcategoria da família dos retrovírus que possui uma única fita de RNA com 7-12 kb de tamanho. Esse tipo de vetor oferece uma entrega eficiente do material genético em inúmeros tipos celulares e diminui o tempo de cultura requerida para transfecção celular (Xu et al., 2021). O lentivírus integra seu genoma com o genoma do hospedeiro que pode aumentar significativamente o tempo da expressão transgênica. Porém, essa expressão prolongada da Cas9 pode aumentar o risco de efeitos off-target e atrapalhar a aplicação da alta precisão na engenharia genética. Em comparação com o adenovírus ou o AAV, o lentivírus demonstrou baixa citotoxicidade e imunogenicidade, e ainda, possui mínimo impacto nas células que recebem o material genético (Wang et al., 2022^a).

Entretanto, há opções de entrega do sistema CRISPR-Cas9 sem que se utilize vetores virais, como os baseados na nanotecnologia. Essa alternativa permite aumento na eficácia e na segurança, e ainda viabiliza a produção em grande escala. São elas: a nanopartícula de lipídio, de polímero e de ouro. A nanopartícula de lipídio (LNP) é um sistema anfifílico composto por inúmeros componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, como os lipídios catiônicos ou ionizados, lipídios neutros (fosfolipídios ou colesterol) e lipídios de glicol polietilenos. O que diferencia as LNP de lipossomos é a sua não continuidade de uma bicamada lipídica (Sanchez-Rivera; Jacks, 2015).

As LNPs foram desenvolvidas para serem carreadoras de diversas moléculas, em destaque, a entrega de ácido nucleico que são extremamente instáveis fora das células e carregam consigo muitos ânions que dificultam a passagem pela membrana celular. Como veículo para a CRISPR, a LNP pode ser carreadores por dois principais métodos: entregando a Cas9 e sgRNA/mRNA plasmídeo DNA ou Cas9 e complexo ribonucleoproteína (RNP).

As nanopartículas de polímeros são materiais com longa circulação sanguínea, alta disponibilidade em fármacos, baixa toxicidade, excelente biocompatibilidade e degradabilidade, e são consideradas poderosas ferramentas para transporte de moléculas. Porém, ao transportar a sgRNA, Cas9 e RNP, essa opção possui baixa estabilidade e são ineficientes ao carregar proteases às células. Ao unir a proteína do núcleo celular a uma fina camada externa permeável de polímero, forma-se um novo tipo de nanocápsula que pode ser artificialmente editada para estabelecer sua degradação e estabilidade em diferentes níveis de pH. Assim, a degradação da cápsula quebra a camada externa celular permitindo que a proteína do núcleo adentre a célula (Li et al., 2020).

Em 2019, Chen et al. sintetizou um polímero covalente clivável a partir de uma fina glutationa, originando uma camada ao redor do complexo Cas9 RNP, e como resultado, uma nova nanocápsula foi criada. Essa criação produziu genes alvo na edição genética *in vitro* sem nenhuma citotoxicidade óbvia, que resultou numa poderosa alternativa para engenharia genética em ratos. A partir desse desenvolvimento, novos estudos comprovaram a eficácia na entrega da Cas9 RNP em 293 células T e células cancerígenas cólon-retal, e a alta atividade de edição genética.

Finalmente, as nanopartículas de ouro ou gold nanoparticles (GNPs) são uma alternativa disponível para transporte da CRISPR (Wang et al., 2022^b). A GNP quando combinada a componentes como ácidos nucleicos, lipídios ou polímeros, pode ter biocompatibilidade e penetrar dentro de



vários tipos de células no organismo. Ao alocar componentes funcionais, como ácido nucleico e glicoproteínas na superfície da partícula, ocorre o alcance na diversidade funcional. Também, a farmacocinética da GNP pode ser modificada para ajustar tamanho, formato e superfície. Quando equipada com a Cas9 e sgRNA pode atingir aproximadamente 90% de entrega intracelular e 30% de eficiência na engenharia genética, proporcionando um novo método de pesquisa genômica. Outrossim, o sistema imune é a primeira barreira para as GNPs adentrarem no organismo humano, e por esse motivo é necessário estudos aprofundados para explorar essa interação, e desativar a produção de citocinas pró inflamatórias. Em adição, a biofísica única de partículas de metais, como carga e campo eletromagnético, também afetam significativamente a resposta imune (Wang et al., 2022^a). Em resumo, o quadro 2 apresenta as vantagens e desvantagens de cada modelo de transporte apresentado.

Quadro 2 – Vantagens e desvantagens de cada modelo de transporte da CRISPR-CAS9.

Veículo	Capacidade de Armazenamento e/ou opções de carga	Vantagens	Desvantagens
Adenovírus	Aproximadamente 8-10 kb	Entrega Eficiente Grande capacidade de carga	Resposta inflamatória
Adenovírus Associado	Aproximadamente 4.7 kb	Múltiplos sorotipos Baixa imunogenicidade Carrega material genético para células que dividem e que não dividem, em diferentes tecidos	Anticorpos neutralizantes pré-existentes Expressão da Cas9 de longo termo que causa efeitos off-target Dificuldade na produção em massa
Lentivírus	Aproximadamente 10 kb	Alta eficiência em conduzir material genético Baixa imunogenicidade Carrega material genético para células que dividem e que não dividem, em diferentes tecidos	Integração com DNA não específica que causa risco a câncer Estrutura complexa de empacotamento
Nanopartículas de lipídeos (LNP)	Pode ser: Complexo RNP, Cas9 mRNA, sgRNA, DNA doador, RNP de plasmídeo DNA	Alta biocompatibilidade Baixa imunogenicidade Efeitos off-target reduzidos Pode ser produzido em massa Baixo custo	Degradação in vivo
Nanopartículas de polímero (RNP)	Pode ser: Complexo RNP, Cas9 mRNA, sgRNA, DNA doador, RNP de plasmídeo DNA	Alta biocompatibilidade Baixa imunogenicidade Efeitos off-target reduzidos Pode ser produzido em massa Baixo custo	Toxicidade Eficiência de entrega limitada
Nanopartículas de ouro (GNP)	Pode ser: Complexo RNP, Cas9 mRNA, sgRNA, DNA doador, RNP de plasmídeo DNA	Alta biocompatibilidade Baixa imunogenicidade Efeitos off-target reduzidos Pode ser produzido em massa Baixo custo	Eficiência de entrega limitada

Fonte: WANG et al., 2022^a (adaptado).

A terapia de genes somáticos tradicionalmente se refere à introdução de um novo material genético dentro de células somáticas para tratar as doenças por expressar produtos dos genes inseridos. Os estudos e testes iniciaram nos anos 1980 e se apresentaram com sucesso



limitado devido às dificuldades de silenciamento de genes, resposta imune do hospedeiro e efeitos off-target. Atualmente, a maioria desses problemas permanecem parcialmente resolvidos, porém, múltiplos estudos mostraram que a terapia focada na engenharia genética em células somáticas possui boas chances na aplicação (Martinez-Lages et al., 2018).

Acerca da governança das opções de patenteamento de edição genética, a regulamentação da CRISPR-Cas9 representa um desafio. Como qualquer outra tecnologia revolucionária, controlar a edição gênica através de canais típicos de democracia é desafiador e uma preocupação do público consciente.

Atualmente, alguns membros de sociedades acadêmicas compartilham a patente da CRISPR-Cas9, são elas: a Broad Institute em Cambridge (resultado da junção da Harvard University e Massachusetts Institute of Technology), Universidade da Califórnia - Berkeley e outras menores instituições. Tendo em vista a rápida evolução dessa técnica, a Organização Mundial da Saúde expressou sua opinião sobre a governança na edição genética, já que o patenteamento da técnica foi ignorado por tempo demais como uma forma de limitar a engenharia gênica. Portanto, patentes são um instrumento legal feito para limitar o uso de determinada tecnologia e licenças são permissões concedidas para utilizar uma tecnologia já patenteada nos termos determinados pela dona da patente. Há a necessidade de regulamentar e delimitar o uso da engenharia genética no Brasil e no Mundo de forma consensual e única, a fim de evitar o abuso da tecnologia em má fé e futuras consequências populacionais (Gouw; Peters, 2025).

Conclusão

A CRISPR-Cas9 está na vanguarda da ciência, pavimentando caminhos para próxima tecnologias ainda mais revolucionárias e inovadoras. A sua regulamentação é improrrogável para que seja dado sequência em estudos de mais a mais aplicável em seres humanos. Em contrapartida, a futura legislação deve respeitar normas institucionalizadas no meio acadêmico científico, a ética e a moral, para que todos possam beneficiar-se da tecnologia. Ao facilitar o acesso e a experimentação dessa tecnologia em universidades e centros de pesquisas, o código genético será ainda mais assimilado, e disponível para prolongamento da qualidade de vida.

Entretanto, após apresentar o mecanismo da técnica e seu potencial, há muito o que ser estudado e testado sobre a CRISPR-Cas9, visto que apresenta limitações, como dificuldades de edição, desafios de entrega quanto ao uso de vetores virais e respostas imunes na entrega in vivo e possíveis riscos à saúde humana. Porém algo é certeza, a CRISPR é inevitável. Seu potencial ainda há de ser totalmente compreendido e adaptável para o Homem, entendendo o impacto deixado na saúde das células editadas e seu efeito in vivo. A CRISPR é uma tecnologia potente, mas recém concebida, com capacidade de auxiliar a terapêutica de inúmeras doenças inevitáveis.



Referências

- ALMEIDA, A. S. R.; SOUZA, C. B. Sistema CRISPR-Cas9: uma alternativa terapêutica para neoplasia pulmonar. *Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratório*, v. 57, p. 1-9, 2021. DOI: 10.5935/1676-2444.20210051_PT.pdf Acesso em: 09 abril 2025.
- BARBOSA, C. M. S. et al. A técnica de CRISPR-Cas9 na terapia gênica: uma revisão de literatura. *Revista Transformar*, v. 14, n. 1, 2019. Disponível em: A TÉCNICA DE CRISPR-Cas9 NA TERAPIA GÊNICA: uma revisão da literatura | Barboza | *Revista Transformar* Acesso em: 05 abril 2025.
- BARBOSA, K.; CAVALCANTE, G. S. S. A biotecnologia envolvida no sistema CRISPR. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 18, n. 1, p. 123-127, 2019. DOI: <https://doi.org/10.9771/cmbio.v18i1.25090> Acesso em: 05 abril de 2025.
- BARROSO, D. Z. et al. CRISPR-Cas9 aplicado à oncologia: uma revisão de literatura. *Revista Caderno Pedagógico*, v.21, n. 10, p. 1-19, 2024. DOI: <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n10-006> Acesso em: 10 abril 2025.
- BERNARDES, V. A. et al. A utilização da técnica de CRISPR-Cas9 na Terapia Gênica. *Research Society and Development*, v. 10, n. 14, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i14.21778> Acesso em: 11 abril 2025.
- BRESOLIN, E.; WIETHOLTER, P.; KIRSTEN, K. S. CRISPR: Edição genômica aplicada à Oncologia. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 9, p. 90908-90927, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n9-310 Acesso em: 14 abril 2025.
- CARDOSO, W. C.; SIQUEIRA, A. S. Potencial terapêutico contra o câncer utilizando a tecnologia de edição de genes CRISPR-Cas9: Uma revisão da literatura. *Revista CPAQV – Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida*, v. 15, n. 3, p. 1-15, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.36692/V15n3-07R> Acesso em: 11 abril 2025.
- CHEN, G. et al. A biodegradable nanocapsule delivers a Cas9 ribonucleoprotein complex for in vivo genome editing. *Nature Nanotechnology*, v. 14, p. 974-980, 2019^a. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0539-2> Acesso em: 24 maio 2025.
- CHEN, M. et al. CRISPR-Cas9 for cancer therapy: Opportunities and challenges. *Cancer Letters*, v. 447, p. 48-55, 2019^b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.01.017> Acesso em: 21 abril 2025.
- CONG, L.; et al. Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. *Revista Science*, v. 339, n. 6121, p. 819-823, 2013. DOI: 10.1126/science.1231143 Acesso em: 18 maio 2025.
- DIAS, C. A. P.; DIAS, J. M. R. O sistema CRISPR/CAS como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: aplicações e implicações. *Revista Multivix*, p. 16, 2018. Disponível em: <revista-ambiente-academico-v04-n01-artigo01.pdf> Acesos em: 15 de abril 2025.
- GOUW, A. M.; PETERS, T. *The CRISPR Revolution in Science, Religion and Ethics*. Bloomsbury Academic, EUA, 2025. Acesso em: 18 maio 2025.
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of cancer. *Cell*, n. 1, v. 100, p. 57-70, 2000. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9 Acesso em 18 maio 2025.
- KANG, X. J. et al. Addressing challenges in the clinical applications associated with CRISPR/Cas9 technology and ethical questions to prevent its misuse. *Protein & Cell*, v. 11, n. 8, p. 791-795, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0477-4> Acesso em: 15 abril 2025.
- KIM, S. M.; et al. Cancer-derived exosomes as a delivery platform of CRISPR/Cas9 confer cancer cell tropism-dependent targeting. *Journal of Controlled Release*, v. 266, p. 8-16, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.013> Acesso em: 18 maio 2025.
- LI, H. et al. Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. *Revista Nature – Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 5, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0089-y> Acesso em: 15 abril 2025.



LIU, X.; ZHAO, Y. CRISPR/Cas9 genome editing: Fueling the revolution in cancer immunotherapy. *Current Research in Translational Medicine*, v. 6, n. 2, p. 39-42, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.retram.2018.04.003> Acesso em: 18 maio 2025.

JANDOVA, J.; WONDRAK, G. T. Genomic GLO1 deletion modulates TXNIP expression, glucose metabolism, and redox homeostasis while accelerating human A375 malignant melanoma tumor growth. *Redox Biology*, v. 39, n. 101838, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101838> Acesso em: 25 maio 2025.

MARTINEZ-LAGE, M.; et al. CRISPR/Cas9 for Cancer Therapy: Hopes and Challenges. *MDPI Journal – Biomedicines*, v. 6, n. 105, 2018. DOI: [10.3390/biomedicines6040105](https://doi.org/10.3390/biomedicines6040105) Acesso em: 21 abril 2025.

SÁNCHEZ-RIVERA, F. J.; JACKS, T. Applications of the CRISPR-Cas/ system un cancer biology. *Nature Reviews Cancer*, v. 15, p. 387-393, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrc3950> Acesso em: 21 abril 2025.

SCHEINERMAN, N.; SHERKOW, J. S. Governance Choices of Genome Editing Patents. *Frontiers in Political Science*, v. 3, n. 745898, 2021. DOI: [10.3389/fpos.2021.745898](https://doi.org/10.3389/fpos.2021.745898) Acesso em: 18 maio 2025.

SELVAKUMAR, S. C., et al. CRISPR-Cas9 and next generation sequencing in the personalized treatment of Cancer. *Molecular Cancer*, v. 21, n. 83, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01565-1> Acesso em: 18 maio 2025.

VIMAL, S. et al. CRISPR/Cas9: Role of genome editing in cancer immunotherapy. *Oral Oncology Reports. Journal Elsevier*, v. 10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oor.2024.100251> Acesso em: 09 abril 2025.

WANG, L. et al. The application of CRISPR/Cas9 Technology for Cancer Immunotherapy: Currents Status and Problems. *Frontiers in Oncology*, v. 11, 2022^a. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.704999> Acesso em: 08 abril 2025.

WANG, S. et al. Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer. *Molecular Cancer*, v. 21, n. 57, 2022^b. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01518-8> Acesso em: 21 de abril 2025.

XU, X. et al. Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment. *Elsevier Journal – Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 176, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113891> Acesso em: 21 abril 2025.

ZHAN, T. et al. CRISPR/CAS9 for cancer research and therapy. *European Journal of Cancer*, v. 55, p. 106-119, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcan.2018.04.001> Acesso em 08 abril 2025.