

CORREÇÃO DE MUTAÇÕES NEOPLÁSICAS ATRAVÉS DA CRISPR-CAS CORRECTION OF NEOPLASTIC MUTATIONS USING CRISPR-CAS

Victória do Nascimento Menezes Gomes¹, Eduardo Gomes Mendonça²

1 Aluna do Curso de Farmácia

2 Professor Doutor do Curso de Farmácia

Resumo

Introdução: A técnica CRISPR-CAS 9 desde sua descoberta por Francisco Mojica em 1995, tem tido grande destaque no âmbito científico, principalmente na biologia molecular. Por se tratar de um mecanismo de defesa da bactéria, sua memória adaptativa, que consegue detectar e clivar o DNA invasor do fago, demonstrou sua facilidade e eficiência em realizar alterações genéticas. Validando sua importância a respeito da edição gênica, por possibilitar essas modificações vêm sendo estudada na correção de mutações neoplásicas, podendo ser a chave para o tratamento de pacientes, pois pode haver a edição do gene cancerígeno durante a manifestação ou até no processo inicial, permite assim a prevenção do surgimento da doença. **Objetivo:** Salienta ao leitor a importância dessa nova técnica, que está trazendo novas possibilidades de estudos e terapias tanto para ciência, como para os pacientes acometidos pela neoplasia. **Metodologia:** O artigo foi elaborado através do estudo transversal e qualitativo, revisão de literatura de trabalhos entre 2018 e 2023, escritos em inglês e português. As bases de dados utilizadas foram: SciELO - Scientific Electronic Library, LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e Google acadêmico. **Conclusão:** Demonstra a eficácia da CRISPR-CAS 9 na edição de DNA e as realizações que a mesma pode proporcionar. Destaca sua praticidade mediante a outros tratamentos referente aos carcinomas, trazendo uma nova alternativa aos pacientes.

Palavras-Chave: técnica CRISPR-CAS 9; neoplasia; edição gênica.

Abstract

Introduction: The CRISPR-CAS 9 technique, since its discovery by Francisco Mojica in 1995, has had great prominence in the scientific field, mainly in molecular biology. As it is a bacteria defense mechanism, its adaptive memory, which can detect and cleave the invading DNA of the bacteriophage, demonstrated its ease and efficiency in carrying out genetic changes. Validating its importance regarding gene editing, as it enables these modifications, they have been studied in the correction of neoplastic mutations, and could be the key to treating patients, as the cancerous gene may be edited during manifestation or even before, thus resulting in prevention of the onset of the disease. **Objective:** To highlight to the reader the importance of this new technique, which is bringing new possibilities for studies and treatments both for science and for patients affected by the neoplasia. **Methodology:** The article was prepared through a cross-sectional and qualitative study, with a literature review of works between 2018 and 2023, written in English and Portuguese. The databases used were: SciELO - Scientific Electronic Library, LILACS (Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences) and Google Scholar. **Conclusion:** Demonstrate the effectiveness of CRISPR-CAS 9 in DNA editing and the achievements it can provide. Highlight its practicality compared to other treatments for carcinomas, bringing a new alternative to patients.

Keywords: CRISPR-CAS 9 technique; neoplasm; gene editing.

Contato: victoria.menezes@souicesp.com.br; eduardo.mendonca@icesp.edu.br

Introdução

A técnica CRISPR/CAS (do inglês *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), ou seja, Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Inter Espaçadas, que foi descoberta em meados da década de 1990 pelo pesquisador Francisco Mojica e vem sendo estudada e aprimorada desde então. Mojica pesquisou os marcadores que são pequenas porções do DNA bacteriano compostas por repetições de nucleotídeos, essas repetições são a base para o uso da técnica, é um mecanismo adaptativo imunológico de bactérias que por serem atacados por bacteriófagos (uma espécie de vírus) utilizam desse mecanismo para se protegerem, detectam o DNA viral e conseguem destruí-lo rapidamente. Parte desse mecanismo funciona através da proteína CAS9 sendo esta a responsável por detectar, fragmentar e destruir o DNA viral de maneira específica (Dias *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2019).

Neoplasia maligna é o crescimento desordenado das células podendo se alastrar pelos órgãos e tecidos, caracterizando assim o

processo de metástase. Todo processo neoplásico envolve mutações no DNA, as quais podem ativar um proto-oncogene ou desativar um gene supressor de tumor. O CRISPR/CAS tem se mostrado cada vez mais promissor para o tratamento de câncer uma vez que poderá ser usado na edição dessas mutações neoplásicas a fim de reverter o processo do câncer. Faz-se necessário, portanto, trazer mais informações a respeito da técnica CRISPR/CAS e abordar o seguinte questionamento: "Como a técnica pode ser utilizada no tratamento para a correção das mutações neoplásicas?" (Almeida & Souza 2021).

O CRISPR-CAS está em evidência devido a sua funcionalidade por realizar a edição e rearranjos genômicos específicos, guiados pela proteína Cas9, que é proveniente do sistema imune adaptativo das bactérias. Sendo o centro de debates e estudos visando terapias gênicas avançadas, caminhando para o futuro dos tratamentos de diversas doenças genéticas, dentre elas destacam-se as neoplasias, é importante salientar a atuação da técnica para a

terapêutica do câncer, mostrando essa promissora linha de raciocínio para promover a cura e/ou maior sobrevida do paciente (Dias *et al.*, 2018).

O câncer, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), é a segunda causa de mortes no mundo. Quando diagnosticado no início, os índices de recuperação são geralmente positivos, mas pelas estatísticas os diagnósticos são considerados tardios por inúmeros fatores, dentre eles: a negligência dos sintomas e a demora do direcionamento correto para a oncologia. As atuais quimioterapias são extremamente agressivas, causando fraqueza e abatimento durante o tratamento. O CRISPR-CAS seria uma positiva intervenção terapêutica, por não ser tão invasivo e possibilitaria qualidade e menos estresse ao paciente, levando alteração gênica nas neoplasias malignas (Oliveira *et al.*, 2022).

O presente artigo visa mostrar para a academia médica e farmacêutica, principalmente nas especialidades oncológicas e genéticas, o avanço do método de CRISPR-CAS. Por identificar, clivar e degradar o DNA de forma especificamente direcionada leva à alteração genética, sendo uma ótima solução para modificar as células tumorais, para inativar seu surgimento e inibir seu crescimento. Tem por finalidade demonstrar para a sociedade, destacando os pacientes e familiares, que as terapias gênicas também têm funcionalidade para o tratamento de carcinomas. Investigar o uso da técnica CRISPR-CAS na correção de mutações neoplásicas, evitando-se, futuramente, o surgimento de um câncer.

Metodologia

O presente artigo foi elaborado através de uma revisão da literatura, pela análise de trabalhos, embasado em tipos de estudos transversais e qualitativos selecionados entre 2018 e 2023. Realizada uma busca eletrônica por publicações utilizando as bases de dados SciELO - Scientific Electronic Library, LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e Google acadêmico. Os descritores utilizados foram: CRISPR-CAS, neoplasia, câncer, tratamento, edição gênica, em buscas isoladas ou combinadas utilizando o operador booleano "AND", de acordo com a necessidade. Os artigos incluídos foram escritos em português e inglês, publicados entre 2018 e 2023, sobre o uso da técnica de edição gênica CRISPR-CAS no tratamento de cânceres. Somente artigos com acesso completo ao conteúdo foram selecionados. Os trabalhos que não se enquadrarem no período selecionado e não abordaram o objetivo principal do presente estudo foram excluídos.

Os artigos encontrados na busca inicial por meio dos filtros utilizados da análise do título e do resumo de acordo com a adequação ou não ao objetivo do estudo, e os que preencheram os requisitos estavam entre os selecionados para leitura na íntegra.

Referencial teórico

Descoberta da técnica CRISPR-CAS

CRISPR (um acrônimo de *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, ou seja, Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas) é um mecanismo imunológico adaptativo das bactérias. Foi desenvolvido por células procarióticas por serem constantemente atacadas por vírus. Esse aparato detém a capacidade de detectar o DNA viral invasor e destruí-lo, sendo utilizado por esse sistema a proteína conhecida como CAS9, que por si só tem a habilidade de localizar e degradar o DNA do microrganismo invasor de maneira específica (Dias *et al.*, 2018).

Dias *et al.* (2018) mencionam a descoberta da técnica pelo cientista espanhol Francisco Mojica que foi o pioneiro do estudo com a publicação do artigo científico em 1993. Em estudos realizados durante o período de 1990 e 2000, demonstrou o reconhecimento das marcações das sequências díspares de repetição, que encaminharam a um compartilhamento de recursos que hoje são reconhecidas como as marcações do CRISPR. Em 2005, Mojica trouxe mais uma nova informação, em que as sequências de fragmentos correspondem a parte dos genomas de bacteriófagos invasores, levando a conclusão de que CRISPR é um sistema imune adaptativo das bactérias.

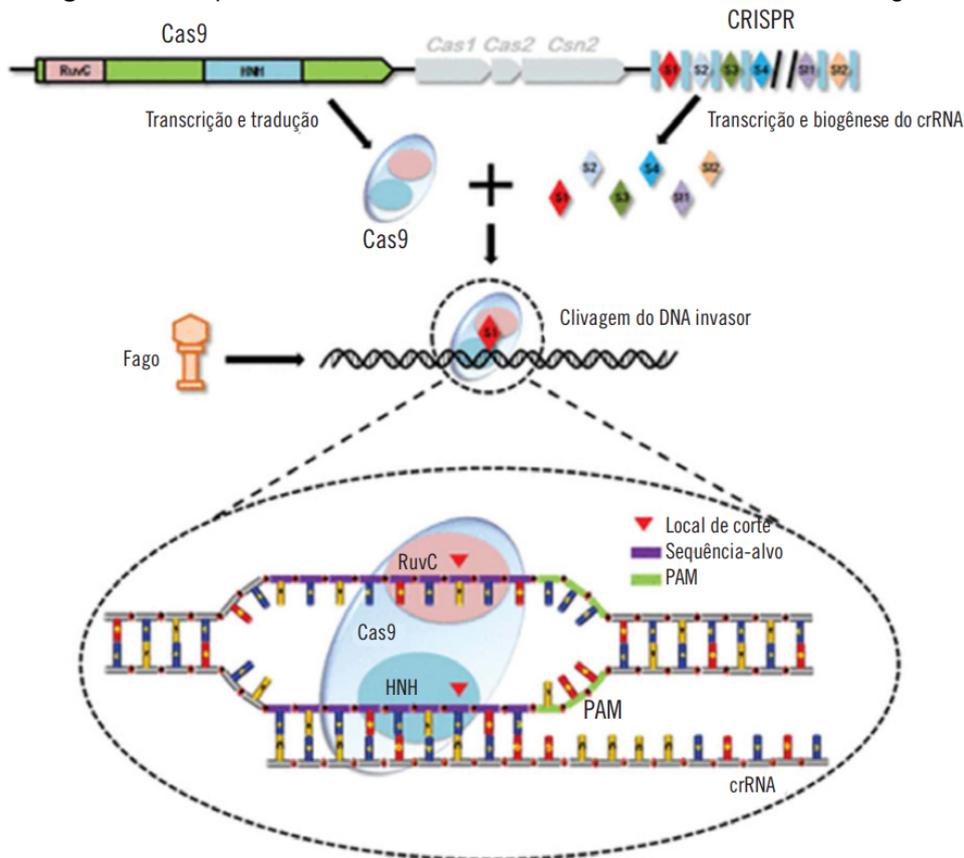
A técnica CRISPR-CAS tem se destacado nos estudos recentes a respeito de terapia gênica, pois é totalmente inovadora. Tem um bom custo benefício quando comparado com outros métodos. Por ser o mecanismo imune adaptativo desenvolvido da bactéria é possível remanejá-lo e adequá-lo para o tratamento de diversas doenças, em que se faz a alteração do gene que pode vir a causar a moléstia. É tão promissor que pode ser executado como um tratamento preventivo, durante a doença e até no período de remissão (Dias *et al.*, 2018).

As proteínas associadas ao CRISPR podem se dividir em duas classes: a classe I sua atuação se dá através de diversas proteínas CAS e a classe II somente uma proteína CAS está atuante sendo, o sistema CRISPR-CAS9 considerado classe II. Estima-se que em torno de 40% das espécies de bactérias e 90% das arqueas possuem o sistema que funciona por uma sequência de RNA e pequenos pedaços de DNA viral (21 a 72 pares) se integram no locus CRISPR

como espaçador. Na fase de imunização a bactéria é exposta a um material genético exógeno, sendo processado pela endonuclease CAS transformando-o em fragmentos curtos chamados de *protospacer* (PAM) (Figura 1). São integrados a novos espaçadores de repetição

CRISPR dentro do cromossomo bacteriano, o fragmento do DNA do organismo estranho vai intercalar com as regiões palindrômicas de DNA repetidas da bactéria, fornecendo assim um registro genético de invasores tornando-se a prevenção de uma futura infecção do mesmo agente (Almeida & Souza 2021).

Figura 1: Complementariedade do sistema CRISPR-CAS9 ao DNA exógeno



Fonte: Almeida & Souza (2021)

Segundo Almeida & Souza (2021) as bactérias desenvolveram esse mecanismo imune adaptativo para conseguirem se proteger de microrganismos invasores, para quando houver uma nova tentativa de invasão o material genético já fica registrado e transcrito, ativando assim a proteína CAS9 (de classe II, especificamente para o presente estudo), levando a decodificação e a clivagem do material genético, acarretando assim em sua destruição. Por isso, essa memória é considerada importante: a bactéria programa sua defesa de organismos invasores específicos. Essa estrutura, por sua especificidade, se tornou fonte de estudos em várias áreas da ciência, provando que é possível a edição gênica mostrando ao gene o que realmente deve ser memorizado e o que deve ser descartado.

O estudo da Técnica CRISPR é necessário, pois demonstra possibilidades que antes não eram pensadas, ou quando pensadas eram de uma realidade bem distante. Pode ser

utilizado na edição genômica das plantas, por exemplo, para durarem mais tempo sem precisar de agrotóxicos químicos que tanto fazem mal à saúde. Diariamente pacientes são desenganados de que não há tratamento para as suas respectivas doenças, entretanto a edição gênica mudaria sua condição de vida e impediria diversas doenças de serem um fardo, possibilitando o tratamento sem o agravamento. Vale ressaltar que doenças hoje que não tem cura, cabe citar HIV, doenças autoimunes, mal de Parkinson e entre outras, seria possível a recuperação total do paciente e algumas que têm a terapia invasiva e dolorosa, seria possível o bom tratamento do paciente possibilitando assim o bem-estar do mesmo, como a neoplasia que poderia haver a alteração genética da célula que levaria a metástase (Dias *et al.*, 2018).

Segundo Ferreira *et al.*, (2019, p.3):

Com base nesse sistema de defesa natural,

pesquisadores puderam desenvolver uma forma de utilizar desse mecanismo para fazer edições genéticas com alvos específicos, para tal é necessário montar um RNA guia com que seja complementar à sequência alvo na qual se pretende editar, dentre suas possibilidades a técnica do CRISPR – Cas9 pode ser utilizado para realizar o desligamento de um gene, essa aplicação foi intitulada de *knockdown*, outra aplicação possível do sistema é o *knock-in* que é a adição de sequências de DNA no local alvo.

O sistema CRISPR-CAS utiliza-se desses dois efeitos: *knockdown* e *knock-in* para a edição dos genes. O *knockdown* mediante aos estudos tem sido mais utilizado pois realiza o desligamento de um gene específico, é analisado principalmente quando se trata de neoplasia, pois o gene quando identificado pode ser desligado evitando assim a proliferação das células que levam a metástase. Já o *knock-in* também é eficiente, pois consegue adicionar segmentos sequenciais de DNA no gene desejado agindo também de forma específica conforme toda a técnica em geral (Ferreira *et al.*, 2019).

Dias *et al.* (2018) e Almeida & Souza (2021) demonstram a importância da técnica CRISPR-CAS9, que tem se mostrado um tema cada vez mais animador para os estudos, evidenciando sua importância genética. A edição gênica é algo real e já presente na atualidade, demonstrado pela literatura científica. O procedimento veio para demonstrar sua aplicabilidade na prática em que não somente faz a alteração dos genes, mas consegue modificar sua memória podendo guiá-lo a corrigir alterações indesejáveis que poderiam levar ao futuro processo de defeito ou enfermidade celular. Trazendo tratamentos para pacientes improváveis os quais não têm diagnósticos e tratamentos promissores, proporcionando qualidade antes, durante e após a terapia.

Surgimento de neoplasias

Câncer é uma denominação abrangente de diversas doenças, identificadas por mutações genéticas, que caracterizam uma proliferação desordenada das células. O prognóstico dos pacientes está diretamente ligado ao grau de extensão da doença ao diagnóstico, tumores menores e localizados têm melhor prognóstico. A neoplasia pode evoluir com invasão de órgãos adjacentes ou distantes, se tornando fatal em

grande parte dos casos, para alguns tipos de carcinomas existem programas para a detecção da doença em estágios mais precoces, possibilitando ajuda no diagnóstico e, conseqüentemente na queda da mortalidade (Oliveria *et al.*, 2022). Segundo Bresolin *et al.* (2021) para chegar no processo de oncogênese existem dois genes que são precursores desta tarefa, sendo estes: Proto-oncogenes e Genes supressores de Tumor.

Segundo o Instituto Oncoguia (2015), Proto-oncogenes está relacionado ao crescimento celular. No momento que passa pela mutação há várias cópias que permanecem ativadas quando não poderiam estar, há o crescimento desordenado da célula podendo levar ao desenvolvimento do tumor, havendo a modificação de proto-oncogene em oncogene. Nesse processo é destacado dois mecanismos responsáveis pela ativação dos oncogenes, que são: Rearranjos cromossômicos que são as transformações dos cromossomos que ligam um gene ao outro, gerando assim a ativação e a Duplicação que são as duplicatas do gene que levam a reprodução exacerbada de dada proteína.

Genes supressores do tumor são os responsáveis em frear a divisão celular, corrigindo os erros do DNA e levando ao processo de apoptose (morte programada da célula), que detém a função de impedir a divisão acelerada celular. Quando seu funcionamento é incorreto, há também o crescimento acentuado das células, pois não há quem interrompa a reprodução desenfreada, podendo acarretar na neoplasia. É preciso salientar a diferença do papel desses dois genes, os oncogenes são resultado do estímulo aos proto-oncogenes e os genes supressores de tumor possibilitam o carcinoma quando não estão funcionando adequadamente (Oncoguia, 2015).

O organismo detém um mecanismo que funciona como um controle de reparo, sendo regido por proteínas que são marcadores tumorais que conseguem identificar quando há a replicação incorreta da célula. São derivadas dos genes supressores de tumor (GST) como por exemplo a *TP53* que está inserida na parte regulatória que consegue reconhecer o estresse genotóxico (Ferreira *et al.*, 2019). As neoplasias benignas são caracterizadas por manter uma proliferação contida, restrita e diminuída, já as malignas tem um comportamento avassalador em que as células e as transformadas, tem poder destrutivo em estruturas próximas e se disseminam levando ao processo metastático (Almeida & Souza 2021).

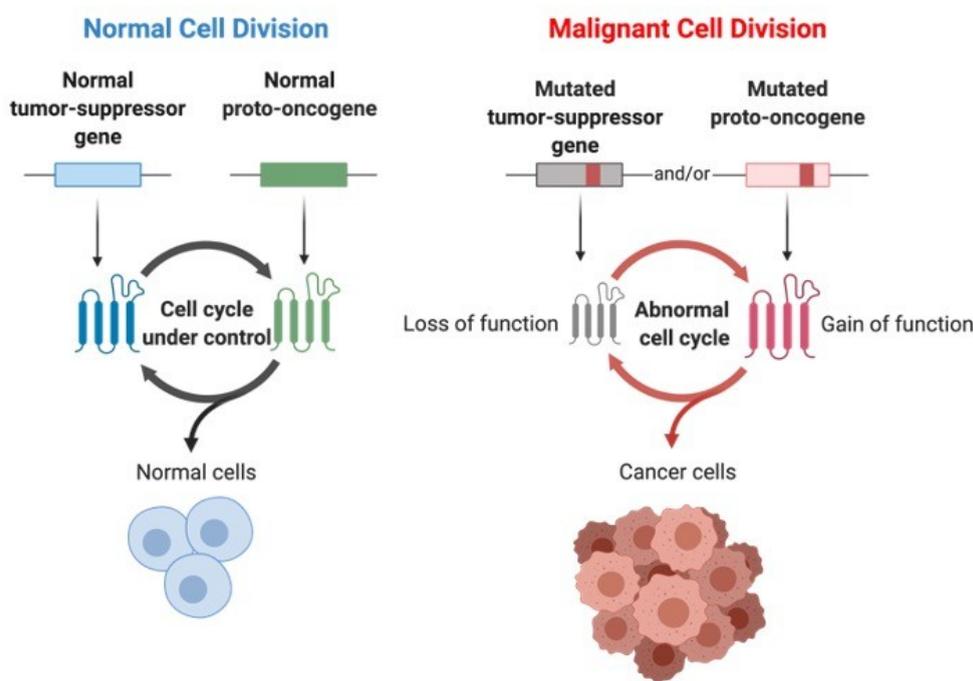
Ferreira *et al.* (2019) explicam que a proteína TP53 está localizada no cromossomo 17 e sua principal função é reconhecer a regulação da expressão dos genes que agem no ciclo celular e na apoptose, possibilitando a ligação com a

região de domínio da central do DNA. Por diversos fatores, pode haver a incapacidade do funcionamento da proteína de realizar suas funções, dentre elas a principal de parar o ciclo celular nos pontos de controle ou em disparar o mecanismo de apoptose, ocorrendo assim a proliferação de células com o DNA modificado. As modificações genéticas são influenciadas por fatores de mutações espontâneas e fatores de mutações induzidas, o processo que leva ao câncer é denominado carcinogênese ou oncogênese.

Os genes que estimulam o desenvolvimento do ciclo celular são chamados de proto-oncogene, sofrendo mutações tornam-se permanentemente ativas e levam a proliferação

celular exacerbada, tornando-se assim oncogenes. Os genes supressores de tumor são os responsáveis por frear a divisão celular, reparar os danos do DNA e estimular a apoptose, quando sofrem mutação levam as células à divisão desordenadamente. A tumorigênese pode ser provocada pela ativação de proto-oncogene em oncogenes ou através da inativação dos genes supressores de tumor (Bresolin *et al.*, 2021), conforme representado a seguir na figura 2.

Figura 2: Diferença entre proto-oncogene e gene supressor de tumor na carcinogênese.



Fonte: Proto-Oncogene: Definição, Função e Exemplos (2021).

De acordo com o INCA Instituto Nacional de Câncer (2022) a formação de neoplasia é o processo de carcinogênese ou oncogênese, sendo este um processo gradativo e lento. Por exemplo, para uma célula cancerígena se multiplicar, chegar na fase de metástase e até se tornar um tumor evidente leva-se tempo, é atribuído os segmentos simultâneos aos diversos agentes cancerígenos ou carcinógenos estando relacionado a eles o início, a promoção, progressão e até a inibição do tumor. A oncogênese ocorre por meio da exposição desses agentes, através de fatores conectados entre si, destacando-se: tempo, frequência e interação. É importante analisar a carcinogênese nos detalhes individuais, que

possibilitam facilitar ou dificultar a instalação do dano celular. Sendo dividido em três estágios.

Estágio de iniciação: é nesse estágio em que os genes passam pela ação dos agentes iniciadores, sendo estes com ação cancerígena os responsáveis pela alteração dos mesmos. As células são encontradas geneticamente modificadas, entretanto ainda não há a possibilidade de um tumor ser identificado clinicamente. As células ficam em estado de preparação para o próximo grupo que atuará no próximo estado (INCA, 2022). Exemplificado na figura 3.

Figura 3: Demonstração dos agentes iniciadores



Fonte: INCA (2022)

Estágio de promoção: segundo o INCA, nessa etapa as células já se encontram geneticamente alteradas, o processo foi iniciado pela ação dos agentes cancerígenos, categorizados como oncopromotores. Ocorre a transformação da célula em maligna, de maneira demorada e gradativa, para possibilitar essa mudança de estado, é necessário um grande período de proximidade e contato com o agente cancerígeno promotor, quando há a interrupção do contato em alguns casos o procedimento é interrompido conforme demonstrado na figura 4.

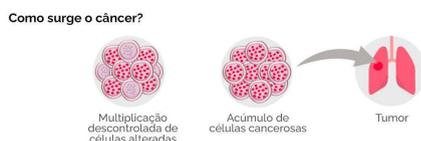
Figura 4: Agentes promotores



Fonte: INCA (2022)

Estágio de progressão: este é o último estágio, sendo caracterizado pela proliferação exacerbada e irreversível das células que foram modificadas. O carcinoma se instaurou no paciente, sendo possível perceber as manifestações clínicas da patologia. Os causadores que possibilitam a iniciação e até o avanço da oncogênese, são denominados agentes oncoaceleradores ou carcinógenos (INCA,2022), conforme mostra figura 5.

Figura 5: Processo da carcinogênese



A edição gênica como terapia

A evolução da tecnologia das ciências biomédicas tem permitido diagnósticos cada vez mais precoces. A partir do mapeamento do genoma humano os testes genéticos se tornaram uma realidade, descobrindo a sequência dos genes e possibilitando a predição genômica de determinadas patologias. O principal benefício mostrado para realizar o teste genético foi orientar o rastreamento, as prevenções e recomendações da obtenção de estimativas certas a respeito do risco de desenvolvimento de neoplasia (Neves *et al.*, 2022).

Neves *et al* (2022) mencionam que “o aconselhamento genético é o procedimento de explicar as consequências prováveis dos resultados de um teste ou rastreio genético, constatando seus riscos e benefícios”. Este conceito remete aos princípios da bioética relativos ao bem-estar da saúde física e mental do paciente, devido ao impacto que o resultado positivo pode impactar em sua psique. Por meio das equipes multiprofissionais tem se destacado como fator preponderante para situar o paciente dentro de sua nova realidade, com acolhimento e auxílio. É fundamental reconceituar os modelos atuais para que as equipes se comprometam com o enfermo, estando cientes da complexidade do problema que o mesmo enfrenta.

A terapia gênica é o aprimoramento genético efetuado através de correções dos genes alterados, cujo seu objetivo é terapêutico. Seu procedimento é o aperfeiçoamento dos vetores de entrega, sendo em generalidade plasmídeos nano estruturados ou vírus. Células somáticas in vivo vêm sendo analisadas, apresentam resultados satisfatórios e estão sendo regulamentadas para estudos clínicos, porém as pesquisas ainda estão em andamento para o melhoramento desta tecnologia. Existem três mecanismos para transferência genética, sendo estes: vetores virais, vetores não virais e métodos físicos. O último método mencionado, é considerável na área de estudo envolvendo eletroporação dos vetores plasmidiais e microinjeção (De castro & Montardo 2020).

De Castro & Montardo (2020) explicam que a terapia gênica se dá pela inserção de um gene normal no genoma com a função de substituir o gene anômalo que origina uma dada doença. É necessário um carreador molecular para a emissão do gene, que necessita ser específico para que possa desempenhar aplicabilidade na liberação de uma ou mais moléculas transmissoras de DNA nos tamanhos corretos, para que o sistema imunológico não consiga reconhecê-las, precisando ser depurado em altas quantidades e grandes concentrações

para que possam ser elaboradas e distribuídas em larga proporção. Quando este vetor é enquadrado, seu objetivo é elevar as atribuições normais do organismo, efetuar a correção de deficiências ou diminuir as atividades deletérias, tornando capaz a expressão de gene durante toda vida do paciente.

Vem sendo aprovado por grande parte do quórum científico, o crescimento pontual e arrematador desta tecnologia o que solidifica a sua efetividade na prática clínica, sendo um caminho para pacientes com doenças congênitas, mutações monogênicas e a neoplasia, destacando os quadros em que todas as intervenções, sendo estas farmacológicas ou cirúrgicas, não obtiveram bons resultados para melhora do quadro.

Avanços científicos exponenciais da edição gênica e da biotecnologia vêm provocando grandes discussões dentro da bioética. Diversos debates são gerados, baseados em erros que foram cometidos no passado utilizando a ciência como pretexto. A bioética vem para demarcar o limite entre a valorização da vida humana, mediante as alterações genéticas, focando em garantir que os benefícios sejam superiores aos prováveis malefícios (Bernardes *et al.*, 2021).

Ferreira e Filipe (2019, p.3) mencionam a seguinte caracterização da Bioética:

A bioética refere-se a uma abordagem normativa assente em quatro princípios consagrados, desde os anos 60, na Declaração de Helsínquia: respeito pela autonomia individual, beneficência, não-maleficência e justiça. Esta abordagem traduz-se em normas orientadoras da conduta profissional (e.g. normas deontológicas) e científica, que se aplicam também à gestão das relações entre pesquisador e participante e/ou entre médico e paciente. Este cânone bioético assenta numa definição biomédica da saúde e traduz-se em práticas bem estabelecidas na investigação e intervenção na medicina, na saúde pública e na saúde global, como a aprovação de estudos científicos e clínicos em comités bioéticos, ou a obtenção de consentimento informado para a recolha de dados e amostras biológicas dos participantes.

A Técnica CRISPR-Cas9 está em ascensão devido a suas possibilidades e aplicabilidades na genética. Tem despertado o interesse de diversas áreas por sua funcionalidade e já estão sendo feitas investigações sobre a redução de Efeitos Fora do Alvo (OTEs, no inglês *Off-target effects*) e algumas outras falhas que podem acontecer no decorrer de experimentos do genoma. Há verificação de ferramentas que possam medir a atividade da técnica para levar ao melhoramento de sua precisão, como a concepção de variantes de cas9: a sniper-cas9, SpG e SprY. Mediante a todos esses conglomerados de pesquisas e estudos, a CRISPR-Cas9 demonstra um futuro otimista e esperançoso para a terapia gênica (Bernardes *et al.*, 2021).

Conclusão:

Dessa forma podemos olhar para a técnica CRISPR-CAS como o futuro da biologia molecular, trazendo seu foco para o tratamento de neoplasias, sendo uma chance para muitos pacientes que: não conseguiram aderir bem ao tratamento quimioterápico devido aos efeitos adversos, não obtiveram sucessos com outras terapias, estão com metástases muito avançadas e assim por diante. Essa técnica traz esperança como um todo para a comunidade científica, sendo também uma nova chance para diversos pacientes que infelizmente acreditam que um diagnóstico de câncer já é fatal, é mais uma possibilidade terapêutica que ajudará no procedimento da possível remissão do carcinoma ou pelo menos na manutenção da sobrevivência de pacientes em casos muito avançados. E mesmo com toda questão ética e moral, a ciência tem a bioética para lembrá-la dos limites, são mais prós do que contras, vale a pena estudar, investir e permitir esse recurso terapêutico para aqueles que precisam.

Agradecimentos:

Primeiramente quero agradecer a Deus por esta oportunidade. Ele sempre cuidou dos meus sonhos nos detalhes! Meus Familiares pelo apoio e compreensão, sem meus pais não conseguiria ter chegado até aqui, meu Esposo por nunca ter soltado a minha mão mesmo nos momentos mais difíceis. Meus amigos que me incentivaram a todo momento, todos importantes para mim, meu Orientador por toda paciência, zelo e ajuda para tornar este artigo possível. Quero dedicá-lo a minha mãe, ela não pode estar aqui para conseguir participar deste momento, mas esse artigo foi escrito para ela, minha singela forma de homenageá-la, te amo sempre Mãe!

Referências:

ALMEIDA, Amanda SR; SOUZA, Cleide B. Sistema CRISPR-Cas9: uma alternativa terapêutica para neoplasia pulmonar. **J Bras Patol Med Lab**, v. 57, p. 1-9, 2021.

BERNARDES, Vinicius Alves et al. A utilização da técnica de CRISPR-CAS9 na Terapia Gênica. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e75101421778-e75101421778, 2021.

BRESOLIN, Eduarda; WIETHÖLTER, Paula; KIRSTEN, Karina Schreiner. CRISPR: Edição genômica aplicada à Oncologia CRISPR: Genomic editing applied to Oncology. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 90908-90927, 2021.

Como surge o Câncer? **INCA**, 2022. Acesso em 28/04/2023. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>

DE CASTRO, Juliana Dal Corso; MONTARDO, Enilson Carmo. O avanço da terapia gênica no tratamento de doenças. In: **X Mostra Integrada de Iniciação Científica**. 2020.

DIAS, Camila Almeida de Paula; DIAS, Janice Maria Ribeiro. O Sistema CRISPR-CAS como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: aplicações e implicações. **Rev. Ambiente Acadêmico (ISSN Impresso 2447-7273, ISSN online 2526-0286)**, v. 4, n. 1, 2018.

FERREIRA, João Paulo da Cruz et al. Aplicação da engenharia genética CRISPR-CAS9 para o tratamento de neoplasias. **Trabalho de Conclusão de Curso**, 2019.

NEVES, Nedy Maria Branco Cerqueira et al. Implicações éticas dos testes genéticos de suscetibilidade ao câncer de mama. **Revista Bioética vol.30 no.3** Brasília Jul./Set. 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/Djfnbn6vKL5KjS47HGXSqm/> Acesso em: 18/04/2023

OLIVEIRA, Isabela et al. O impacto da pandemia da COVID-19 nos exames de rastreamento do câncer no Brasil: um estudo comparativo dos cânceres de mama, próstata e colo de útero. **J. bras. econ. saúde (Impr.)**, 2022.

Oncogenes e Genes supressores do Tumor, **Oncoguia**, 2015. Acesso em 26/04/2023. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/oncogenes-e-genes-supressores-do-tumor/8161/73/#:~:text=Proto%2D oncogenes%20s%C3%A3o%20genes%20que,quando%20n%C3%A3o%20deveria%20ser%20assim.>

Proto-Oncogene: Definition, Function, and Examples. **Researchweet.com**, 2021. Acesso em 27/04/2023. Disponível em: <https://researchtweet.com/proto-oncogene-definition-function-and-examples/>
