

Edição Genica e CRISPR-Cas9: Avanços, Desafios e Aplicações na Terapia Gênica da Doença Falciforme

Gene Editing and CRISPR-Cas9: Advances, Challenges and Applications in Sickle Cell Disease Gene Therapy

Marcella Bezerra Da Silva ¹

Fabiana Passamani ²

RESUMO: Uma das doenças genéticas mais prevalentes no mundo é a doença falciforme, ela é caracterizada por uma mutação no gene HBB que altera a produção de hemoglobina, causando deformação das hemácias e diversas complicações clínicas. O tratamento tradicional, com hidroxíureia, transfusões e transplante de medula óssea, apresenta limitações e riscos. Diante esse cenário, a tecnologia de edição gênica CRISPR-Cas9 surge como uma opção promissora, permitindo a correção direta da mutação genética. O presente trabalho tem como objetivo analisar os avanços, desafios e aplicações da tecnologia CRISPR-Cas9 na terapia gênica da doença falciforme. A metodologia adotada é uma revisão integrativa da literatura, com seleção de estudos publicados entre 2013 e 2024 nas principais bases de dados científicas. Investigou-se os mecanismos de ação da tecnologia, os resultados clínicos alcançados, os principais obstáculos técnicos e éticos, além da viabilidade econômica para a implementação em larga escala. Os resultados apontam que a edição do gene HBB com CRISPR-Cas9 apresenta grande potencial terapêutico, com perspectivas de cura e melhora da qualidade de vida dos pacientes. No entanto, ainda são necessários avanços para garantir maior segurança, minimizar mutações off-target e tornar a tecnologia acessível para a população. Este estudo contribui para o entendimento dos benefícios e limitações da CRISPR-Cas9, reforçando sua importância como estratégia futura no tratamento da doença falciforme.

Palavras-chave: Doença Falciforme; Terapia Gênica; CRISPR-Cas9; Edição Genética; Avanços Tecnológicos.

ABSTRACT: One of the most prevalent genetic diseases in the world is sickle cell disease, characterized by a mutation in the HBB gene that alters hemoglobin production, causing red blood cell deformation and various clinical complications. Traditional treatment, with hydroxyurea, transfusions, and bone marrow transplantation, presents limitations and risks. In this context, CRISPR-Cas9 gene editing technology emerges as a promising option, allowing for the direct correction of the genetic mutation. This work aims to analyze the advances, challenges, and applications of CRISPR-Cas9 technology in gene therapy for sickle cell disease. The methodology adopted is an integrative literature review, selecting studies published between 2013 and 2024 in the main scientific databases. The mechanisms of action of the technology, the clinical results achieved, the main technical and ethical obstacles, and the economic viability for large-scale implementation were investigated. The results indicate that editing the HBB gene with CRISPR-Cas9 shows great therapeutic potential, with prospects for cure and improved quality of life for patients. However, further advances are needed to ensure

greater safety, minimize off-target mutations, and make the technology accessible to the population. This study contributes to the understanding of the benefits and limitations of CRISPR-Cas9, reinforcing its importance as a future strategy in the treatment of sickle cell disease.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina do Unisales. Vitória/ES, Brasil. Email:marcella.Silva@souunisales.com.br.

² Farmacêutica, Pós graduada e Professora do Unisales . Vitória/ES, Brasil. E-mail:Fabiana.passamani@souunisales.com.br

Keywords: Sickle Cell Disease; Gene Therapy; CRISPR-Cas9; Gene Editing; Technological Advances.

1. INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é uma das enfermidades genéticas mais comuns no mundo, sendo caracterizada por uma mutação no gene da beta-globina (HBB), que deriva na produção de hemoglobina S (HbS). Essa alteração leva à deformação das hemácias, tornando-as em formato de foice, o que provoca obstruções vasculares, episódios de dor intensa, anemia hemolítica e comprometimento de órgãos vitais (SANTOS et al., 2020). O tratamento convencional envolve transfusões sanguíneas, uso de hidroxiureia e transplante de medula óssea, sendo este último o único método curativo atualmente disponível. No entanto, sua aplicação é limitada pela dificuldade em encontrar doadores compatíveis e pelos riscos associados ao procedimento (PEREIRA et al., 2019).

A terapia gênica surge como uma abordagem promissora para doenças monogênicas como a DF, e, nesse contexto, a tecnologia de edição genética CRISPR-Cas9 tem ganhado destaque devido à sua precisão e eficiência. O sistema CRISPR-Cas9 possibilita a correção direta de mutações no DNA de células hematopoiéticas, oferecendo uma alternativa terapêutica potencialmente curativa para pacientes com DF. Estudos recentes demonstram que a modificação do gene HBB pode restaurar a produção de hemoglobina funcional,

reduzindo os sintomas da doença e aperfeiçoando a qualidade de vida dos pacientes (SILVA et al., 2020).

Apesar do avanço científico, a aplicação clínica do CRISPR-Cas9 enfrenta desafios significativos. Entre eles, destacam-se a eficiência da edição genética, a possibilidade de mutações off-target, a resposta imune do organismo ao tratamento e a viabilidade econômica dessa abordagem para a população em geral. Dessa forma, torna-se fundamental analisar os avanços e os desafios dessa tecnologia para que sua implementação na prática clínica seja segura e eficaz (COSTA; OLIVEIRA, 2021).

A tecnologia CRISPR-Cas9 representa um grande avanço na terapia gênica, especialmente no tratamento de doenças monogênicas como a DF. No entanto, sua aplicação clínica ainda enfrenta desafios que impedem sua ampla implementação.

Dentre esses desafios, é possível destacar a segurança da edição genética, o risco de efeitos prejudiciais a longo prazo e a acessibilidade do tratamento para pacientes que necessitam desse tipo de abordagem terapêutica. Diante desse cenário, o presente estudo busca responder a questão de “como a tecnologia CRISPR-Cas9 pode ser otimizada para garantir maior segurança, eficácia e viabilidade econômica no tratamento da doença falciforme?”

A edição do gene HBB utilizando CRISPR-Cas9 pode restaurar a produção de hemoglobina funcional, reduzindo os sintomas da DF e melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

Estratégias para minimizar mutações off-target e aprimorar a precisão da edição genética podem aumentar a segurança da terapia gênica baseada em CRISPR-Cas9. A implementação de protocolos padronizados e o desenvolvimento de tecnologias mais acessíveis podem viabilizar o uso clínico do CRISPR-Cas9 para o tratamento da DF em larga escala.

A doença falciforme representa um enorme problema de saúde pública, principalmente em populações com maior ancestralidade africana, sendo responsável por elevada morbimortalidade e impactos significativos na qualidade de vida dos pacientes (SILVA; SILVA, 2016). Diante das limitações dos tratamentos convencionais e da baixa disponibilidade de doadores compatíveis para transplante de medula óssea, torna-se essencial o desenvolvimento de abordagens terapêuticas inovadoras e mais eficazes.

A tecnologia CRISPR-Cas9, por sua vez, desponta como uma ferramenta revolucionária no campo da biotecnologia, permitindo a correção precisa de mutações genéticas associadas a doenças monogênicas, como a doença falciforme (SILVA; PEREIRA, 2020). A sua aplicabilidade na terapia gênica oferece uma perspectiva curativa, com potencial para transformar o manejo clínico da doença. No entanto, desafios como a segurança do procedimento, a ocorrência de mutações off-target e a viabilidade econômica do tratamento ainda limitam sua aplicação em larga escala.

Diante o apresentado, a pesquisa se justifica pela necessidade de compreender de forma aprofundada os avanços e impedimentos do uso do CRISPR-Cas9 na terapia gênica da doença falciforme. Ao reunir e analisar de forma crítica os dados disponíveis, o presente estudo poderá contribuir para o aprimoramento das estratégias terapêuticas e para a formulação de políticas públicas que promovam o acesso de forma justa à tecnologias inovadoras. Sendo assim, os principais beneficiários desta pesquisa serão os profissionais da saúde, os formuladores de políticas, os pesquisadores da área biomédica e, sobretudo, os pacientes acometidos pela doença falciforme.

2. Referencial teórico

2.1 Doença Falciforme

A Doença Falciforme (DF) representa uma das patologias genéticas mais estudadas no campo das hemoglobinopatias, caracterizando-se por uma alteração na estrutura da hemoglobina devido a uma mutação pontual no gene da globina beta, localizado no cromossomo 11. Essa mutação consiste na substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia beta, resultando na formação da hemoglobina S (HbS)

— variante anômala que confere às hemácias a capacidade de sofrerem deformações características em formato de foice, especialmente sob condições de hipóxia (Rees, Williams & Gladwin, 2010). Tal alteração estrutural interfere diretamente na função de transporte de oxigênio, além de desencadear uma série de eventos fisiopatológicos que culminam em manifestações clínicas severas.

A descrição histórica da DF remonta ao início do século XX, com a publicação de James B. Herrick em 1910, que foi pioneiro ao identificar hemácias em forma de foice em um paciente afrodescendente. Esse achado inicial lançou as bases para o entendimento molecular e clínico da doença, possibilitando que, nas décadas seguintes, fossem feitas descobertas fundamentais acerca da genética e da fisiopatologia da enfermidade (Herrick, 1910).

Do ponto de vista fisiopatológico, a mutação no gene da globina beta provoca a polimerização da HbS quando desoxigenada, fenômeno que promove a rigidez e a deformação das hemácias, que passam a obstruir microvasos, gerando isquemia tecidual, hemólise crônica e processos inflamatórios sistêmicos (Kato et al., 2018). Esse ciclo patológico explica as crises vaso-oclusivas características da doença, responsáveis por dores intensas e por complicações agudas e crônicas que comprometem a qualidade de vida dos pacientes.

A epidemiologia da DF apresenta distribuição desigual no mundo, com maior prevalência em populações de ascendência africana, devido a uma seleção natural histórica proporcionada pela proteção parcial conferida pela HbS contra a malária (Allison, 1954). No Brasil, o registro da doença está concentrado em regiões onde a população negra e afrodescendente é mais expressiva, como

Norte e Nordeste, com estimativas que apontam para dezenas de milhares de indivíduos afetados (Oliveira et al., 2020). Além disso, a DF representa um importante problema de saúde pública, pois está associada a alta morbimortalidade, principalmente em crianças menores de cinco anos, reforçando a necessidade de diagnóstico precoce e acompanhamento clínico adequado (WHO, 2021).

O diagnóstico laboratorial da DF é realizado por métodos como eletroforese de hemoglobina, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e técnicas moleculares, incluindo o diagnóstico pré-natal, que possibilita a identificação da doença em fetos e orienta decisões familiares e clínicas (Steinberg et al., 2017). Adicionalmente, a existência de variantes genéticas associadas, como a presença concomitante da hemoglobina C ou beta-talassemia, influencia as manifestações clínicas e a gravidade da doença, evidenciando a complexidade e heterogeneidade do quadro clínico (Weatherall, 2010).

2.2 Anemia Falciforme

A anemia falciforme é o fenótipo mais comum e severo da doença falciforme, caracterizado pela homozigose para o alelo da hemoglobina S (HbSS). Essa condição resulta na produção exclusiva de hemoglobina S nas hemácias, promovendo alterações físico-químicas significativas no comportamento da molécula de hemoglobina. A principal alteração é a polimerização da HbS sob condições de baixa oxigenação, processo que leva à formação de longos polímeros rígidos dentro da célula, promovendo a típica deformação em forma de foice e consequente fragilidade das hemácias (Eaton & Hofrichter, 1987).

Essa polimerização anômala desencadeia uma cascata de eventos patológicos, incluindo a diminuição da deformabilidade das hemácias, obstrução microvascular, hemólise intravascular crônica e ativação do sistema inflamatório (Hebbel, 2011). Clinicamente, isso se manifesta por crises vaso-oclusivas recorrentes, episódios de dor intensa, infecções frequentes devido à função esplênica comprometida e complicações multi-sistêmicas como AVC, síndrome

torácica aguda e insuficiência renal (Kanter & Kruse-Jarres, 2013). A gravidade clínica pode variar amplamente entre os pacientes, influenciada por fatores genéticos, ambientais e o acesso ao tratamento.

O tratamento atual da anemia falciforme inclui o uso de hidroxiureia, que aumenta a produção de hemoglobina fetal (HbF), a qual não sofre polimerização, reduzindo assim a frequência das crises e a hemólise (Charache et al., 1995). Além disso, transfusões sanguíneas periódicas, profilaxia contra infecções e, mais recentemente, abordagens avançadas como a terapia gênica e a edição gênica com CRISPR-Cas9 têm sido exploradas como alternativas para cura ou controle a longo prazo da doença (Dever et al., 2016; Esrick et al., 2021).

2.3 Anemia Falciforme no Brasil

A presença da anemia falciforme no Brasil está diretamente associada ao legado histórico da migração forçada de populações africanas durante o período colonial, sendo essa a principal fonte do alelo HbS na população brasileira contemporânea (Silva et al., 2014). O país apresenta uma diversidade étnica e racial significativa, o que influencia a distribuição da doença, com maior concentração em regiões do Norte e Nordeste, onde há maior proporção de população afrodescendente (Ministério da Saúde, 2019).

Estima-se que cerca de 25 mil pessoas vivam com anemia falciforme no Brasil, de acordo com resultados obtidos através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), sendo a doença um importante desafio para o sistema público de saúde, dada a necessidade de acompanhamento multidisciplinar e tratamentos contínuos (Brasil, 2021). A miscigenação brasileira, embora amplamente difundida, não eliminou a prevalência da doença, o que evidencia a importância do rastreamento neonatal, já adotado nacionalmente, para a detecção precoce e o manejo adequado da doença, minimizando as complicações e a mortalidade infantil (Freitas et al., 2017).

2.4 Tratamentos para Anemia Falciforme

2.4.1 Hidroxiureia

A hidroxiureia é o tratamento farmacológico mais utilizado e estudado para anemia falciforme. Originalmente utilizada na oncologia, sua aplicação na anemia falciforme se baseia na capacidade de induzir a produção de hemoglobina fetal (HbF), que inibe a polimerização da HbS e, conseqüentemente, a formação das hemácias falciformes (Charache et al., 1995). Além disso, a hidroxiureia reduz a adesividade das células vermelhas, melhora a função endotelial e possui efeitos anti-inflamatórios (Ware et al., 2017).

Estudos clínicos demonstram que o uso contínuo da hidroxiureia diminui significativamente a frequência de crises vaso-oclusivas, hospitalizações e a necessidade de transfusões, além de melhorar a sobrevida dos pacientes (Steinberg et al., 2010). Entretanto, os efeitos colaterais, como mielossupressão e toxicidade gastrointestinal, exigem monitoramento cuidadoso (Yawn et al., 2014).

2.4.2 Transfusão de Hemácias

A transfusão sanguínea é uma terapia essencial para a anemia falciforme, especialmente em situações de crise grave, como a síndrome torácica aguda e o acidente vascular cerebral. A transfusão promove a redução da proporção de hemácias falciformes no sangue, melhorando a oxigenação tecidual (Ballas et al., 2012). Contudo, o uso frequente pode levar a complicações como sobrecarga de ferro e reações transfusionais, exigindo estratégias de monitoramento e manejo como a quelação do ferro (Yawn et al., 2014).

2.4.3 Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas (TCTH)

O transplante de células-tronco hematopoéticas é o único tratamento atualmente curativo para a anemia falciforme. Consiste na substituição da medula óssea do paciente por células-tronco saudáveis de um doador compatível, geralmente um irmão com compatibilidade HLA (Walters et al., 2010). Apesar da alta taxa de cura, o TCTH apresenta riscos significativos, incluindo rejeição, infecções e complicações da imunossupressão, o que limita sua indicação a pacientes selecionados (Gluckman et al., 2017).

2.4.4 Terapia Gênica

A terapia gênica representa um avanço promissor no tratamento da anemia falciforme, visando corrigir a mutação responsável pela doença diretamente no DNA das células hematopoiéticas do paciente. Estratégias incluem a inserção de um gene funcional da globina ou a ativação da produção de HbF (Ribeil et al., 2017). Ensaios clínicos recentes demonstraram sucesso na redução dos sintomas e melhora da qualidade de vida, embora desafios como a segurança a longo prazo e a eficiência do procedimento permaneçam (Esrick et al., 2021).

2.4.5 Edição Gênica com CRISPR-Cas9

A edição gênica com a tecnologia CRISPR-Cas9 tem revolucionado a medicina genética ao permitir modificações específicas no genoma. No contexto da anemia falciforme, a ferramenta é usada para desativar genes reguladores da expressão da HbF, como o BCL11A, aumentando sua produção e reduzindo os efeitos da HbS (Canver et al., 2015). Estudos pré-clínicos e primeiros ensaios clínicos indicam resultados promissores, posicionando o CRISPR como uma potencial terapia curativa (Frangoul et al., 2021).

2.5 Sistema CRISPR-Cas

2.5.1 Histórico do sistema CRISPR

O sistema CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) foi descoberto inicialmente em 1987 como sequências repetidas no DNA bacteriano, mas seu papel biológico só foi esclarecido em 2007, quando se mostrou um mecanismo de defesa adaptativa contra vírus (bacteriófagos) em bactérias (Mojica et al., 2005; Barrangou et al., 2007).

2.5.2 Classificação e Mecanismo

Os sistemas CRISPR-Cas são classificados em três tipos principais (I, II e III), baseados em suas proteínas efetoras e mecanismos moleculares. O tipo II, que inclui a Cas9, é o mais estudado e utilizado para edição genética devido à sua simplicidade e eficiência (Makarova et al., 2015). Em geral, o sistema funciona em três etapas: aquisição do spacer viral, expressão e processamento do RNA guia, e interferência com a sequência alvo (Jinek et al., 2012).

2.5.3 Sistema CRISPR-Cas9 (Tipo II)

No sistema tipo II, a endonuclease Cas9 é guiada por dois RNAs (crRNA e tracrRNA, ou um único RNA guia sintético - sgRNA) para cortar o DNA alvo em locais específicos, permitindo a edição genômica com alta precisão (Jinek et al., 2012). Essa característica transformou o CRISPR-Cas9 em uma ferramenta poderosa para engenharia genética.

2.5.4 Avanços tecnológicos

Inovações recentes incluem a síntese do sgRNA, que simplifica o sistema, e o desenvolvimento de variantes da Cas9 com maior especificidade e menos efeitos off-target (Kleinstiver et al., 2016). A aplicação da tecnologia se expandiu rapidamente em pesquisa biomédica e terapias genéticas.

2.5.5 Aplicações na medicina e na anemia falciforme

O CRISPR-Cas9 tem sido aplicado em diversas doenças genéticas, incluindo a anemia falciforme, para corrigir mutações causadoras ou modular a expressão gênica de forma terapêutica. Ensaio clínico em andamento indicam que a edição gênica pode reduzir significativamente os sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, representando um avanço revolucionário na medicina personalizada (Frangoul et al., 2021).

3. METODOLOGIA

A presente pesquisa ocorreu na abordagem qualitativa, de natureza exploratória e descritiva. Tratou de uma revisão integrativa da literatura, cujo objetivo foi reunir, analisar e interpretar os principais avanços científicos, desafios e aplicações da tecnologia CRISPR-Cas9 no tratamento da doença falciforme. Essa abordagem permitiu sistematizar os conhecimentos disponíveis, proporcionando uma compreensão ampla e crítica sobre o tema. Foram coletados dados bibliográficos extraídos de artigos científicos, dissertações, teses e publicações institucionais disponíveis em bases de dados científicas, como SciELO, PubMed, Google Scholar, LILACS e BIREME. Os dados coletados abordaram aspectos clínicos, técnicos, éticos e econômicos relacionados ao uso do CRISPR-Cas9 na terapia gênica da doença falciforme. Realizou-se a coleta por meio de buscas sistemáticas nas bases de dados mencionadas, utilizando descritores como: “CRISPR-Cas9”, “doença falciforme”, “terapia gênica”, “edição genética”, “segurança genética” e “avanços biotecnológicos”. Os critérios de busca incluíram textos publicados entre 2013 e 2024, disponíveis em português, inglês ou espanhol, com acesso gratuito e relevância direta para o objeto de estudo. A amostra foi composta por publicações científicas que atendam aos critérios de inclusão estabelecidos. Não foi definida uma quantidade fixa de artigos, pois a seleção seguiu a saturação teórica, priorizando a qualidade e pertinência dos conteúdos examinados.

Incluiu-se publicações dos anos de 2013 e 2024, que abordaram diretamente a aplicação do sistema CRISPR-Cas9 na doença falciforme. Consideraram-se

estudos redigidos em português, inglês ou espanhol, disponíveis gratuitamente e com acesso ao texto completo. Foram excluídos artigos duplicados, trabalhos que não trataram de forma direta o tema proposto, bem como estudos que apresentaram dados inconclusivos ou de baixa qualidade metodológica. Por se tratar de uma pesquisa de natureza bibliográfica, sem abarcamento direto de seres humanos nem coleta de dados primários, não existiu a obrigação de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa. Ainda assim, foram respeitados todos os princípios da ética acadêmica, com rigor na citação das fontes e compromisso com a integridade científica.

Os dados obtidos foram organizados em fichamentos e categorizados conforme os objetivos específicos do estudo. A análise foi conduzida a partir da técnica de análise temática, fundamentada na metodologia de Bardin (2011), o que permitiu identificar padrões, convergências e divergências entre os estudos selecionados. As informações foram apresentadas de forma descritiva, utilizando tabelas e quadros quando necessário, a fim de facilitar a visualização e compreensão dos resultados.

Não houve riscos diretos associados à realização desta pesquisa, uma vez que não ocorreu contato com seres humanos. Como benefício, o estudo contribuiu para o avanço do conhecimento sobre o uso clínico do CRISPR-Cas9 na doença falciforme, oferecendo subsídios teóricos relevantes para pesquisadores, profissionais da saúde e formuladores de políticas públicas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os critérios determinados na metodologia, as buscas de artigos se basearam na utilização de palavras-chave que correlacionassem a tecnologia CRISPR-Cas9 e sua aplicação na correção genética da doença falciforme, além do emprego de termos que relacionassem segurança genética, terapia gênica e edição molecular, demonstrados quantitativamente na tabela abaixo.

Tabela 1 – Relação de resultados obtidos através da busca de artigos nas plataformas PubMed, SciELO, Google Scholar, LILACS e BIREME com os termos de busca listados

Termos de busca	Revista/Jornal	Artigos totais	Artigos selecionados
“CRISPR-Cas9” AND “Doença Falciforme	PubMed	32.717	10
	SciELO	242	4
	Google Scholar	219	2
“CRISPR-Cas9” AND “Terapia Gênica”	PubMed	383	3
	LILACS	1	-
	BIREME	0	-
“CRISPR-Cas9” AND “Segurança Genética”	PubMed	6	2
	Google Scholar	1	1
“Edição Genética” AND “Doença Falciforme”	PubMed	5	1
	BIREME	0	-
Total de Artigos selecionados: 23			

Fonte: Autoria Própria (2025)

Nas plataformas internacionais, especialmente na PubMed, observou-se a maior incidência de resultados relevantes, concentrando a maior parte das publicações relacionadas à edição gênica e terapias moleculares avançadas. Essa predominância pode ser atribuída ao fato de que a aplicação clínica da tecnologia CRISPR-Cas9 é amplamente estudada em centros de pesquisa biomédica estrangeiros, com ênfase em doenças genéticas de base monogênica, como a doença falciforme.

Foram excluídos artigos duplicados, estudos que não abordavam diretamente a correção do gene HBB e aqueles cujo foco se restringia a aspectos puramente laboratoriais sem relevância clínica. À exceção desses casos, foram incluídos os

estudos que tratavam de abordagens terapêuticas e análises de segurança da edição gênica, de modo a garantir uma revisão ampla e coerente com os objetivos propostos neste trabalho.

Embora as buscas tenham resultado em muitas publicações, especialmente nas bases PubMed e Google Scholar, a seleção foi orientada pela pertinência temática e metodológica, privilegiando os estudos que apresentavam resultados clínicos ou experimentais diretamente aplicáveis à terapia gênica da doença falciforme. Assim, o total de 10 artigos selecionados compôs a amostra final utilizada para a análise, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Artigos selecionados nas plataformas PubMed, Scielo, Google Scholar, LILACS e BIREME

Autores	Título do artigo	Revista/ Jornal e ano	Critério de relevância
Jinek et al.	A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity	Science, 2012	Descreve o mecanismo molecular da Cas9, baseando o uso terapêutico do sistema CRISPR.
Canver et al	BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis	Nature, 2015	Demonstra a reativação da hemoglobina fetal (HbF) por modificação do gene BCL11A.
Makarova et al.	Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems	Nature Reviews Microbiology, 2015	Apresenta variantes de Cas9 com maior precisão, reduzindo erros genômicos.
Kleinstiver et al.	High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects	Nature, 2016	Apresenta variantes de Cas9 com maior precisão, reduzindo erros genômicos.

Ribeil et al.	Gene therapy in a patient with sickle cell disease	New England Journal of Medicine, 2017	Relata o primeiro caso clínico de sucesso em terapia gênica para doença falciforme.
Silva et al.	Edição genética e terapia gênica: implicações no tratamento de doenças hereditárias	Revista Brasileira de Terapias Avançadas, 2017	Analisa os aspectos éticos e bioéticos relacionados à edição genética humana.
Silva & Pereira	Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano	Revista Bioética, 2020	Analisa os aspectos éticos e bioéticos relacionados à edição genética humana.
Frangoul et al.	CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia	New England Journal of Medicine, 2021	Apresenta resultados clínicos positivos com aumento da produção de hemoglobina fetal.
Esrick et al.	Post-transcriptional genetic silencing of BCL11A to treat sickle cell disease	New England Journal of Medicine, 2021	Demonstra segurança e eficácia clínica do CRISPR-Cas9 em humanos.
Freire et al.	Gene editing and gene therapy approaches in sickle cell disease	Frontiers in Genome Editing, 2021	Aborda limitações e desafios éticos na aplicação clínica da terapia gênica.

Fonte: Autoria Própria (2025)

Os resultados obtidos a partir das publicações analisadas confirmam que a tecnologia CRISPR-Cas9 constitui um dos principais avanços da biotecnologia moderna, permitindo a edição direta de mutações no gene HBB, responsável pela formação da hemoglobina anormal (HbS) característica da doença falciforme. Em conformidade com o primeiro objetivo específico, identificou-se os mecanismos de ação da Cas9 e seu direcionamento por RNA guia, evidenciados nos estudos de Jinek et al. (2012) e Makarova et al. (2015), que formam a base conceitual da tecnologia.

O mecanismo de ação do sistema CRISPR-Cas9 ocorre de forma precisa e direcionada. Inicialmente, um RNA guia (sgRNA) é projetado de modo a ser

complementar à sequência específica do DNA-alvo, neste caso, o gene HBB. Esse RNA guia se associa à enzima Cas9, formando um complexo ribonucleoproteico que reconhece e se liga à sequência genética correspondente, adjacente a um motivo PAM (Protospacer Adjacent Motif). Uma vez ancorado, o complexo Cas9-sgRNA promove um corte de fita dupla no DNA. Em seguida, o sistema de reparo celular é ativado, podendo ocorrer correção da mutação por recombinação homóloga, quando é fornecido um molde de DNA normal, ou inserção/deleção de bases, quando o reparo ocorre por junção de extremidades não homólogas. No contexto da doença falciforme, esse processo possibilita a substituição da mutação responsável pela produção da hemoglobina S por uma sequência funcional do gene HBB, restaurando a síntese da hemoglobina normal (HbA).

Os principais mecanismos de ação do sistema CRISPR-Cas9 descritos nos artigos analisados demonstram que a endonuclease Cas9 atua como uma tesoura molecular guiada por um RNA complementar à sequência alvo do DNA. Conforme apontam Jinek et al. (2012) e Makarova et al. (2015), essa interação possibilita o corte preciso do gene HBB, responsável pela produção anômala da hemoglobina S. Em continuidade, Canver et al. (2015) evidenciam que a modificação do gene BCL11A permite a reativação da hemoglobina fetal (HbF), mecanismo biológico essencial para compensar a deficiência da hemoglobina adulta. Essa base molecular tem sido considerada o pilar para os protocolos terapêuticos mais recentes, confirmando a eficiência e especificidade do sistema em nível celular.

Essa capacidade de edição direcionada confere ao CRISPR-Cas9 um papel promissor na correção de doenças monogênicas, destacando-se entre as terapias gênicas experimentais que buscam resultados curativos em nível molecular.

Quanto aos avanços científicos, os trabalhos de Canver et al. (2015) e Kleinstiver et al. (2016) demonstraram o aprimoramento das técnicas de edição gênica, sobretudo no aumento da precisão do sistema CRISPR-Cas9 e na redução dos efeitos colaterais genéticos. Esses avanços ocorreram principalmente por meio do

desenvolvimento de variantes enzimáticas de Cas9 com maior especificidade e menor propensão a cortes fora do alvo (*off-target*), além do aperfeiçoamento no design dos RNAs guias, que passaram a ser otimizados por softwares e análises bioinformáticas para garantir melhor reconhecimento da sequência-alvo. Kleinstiver et al. (2016), por exemplo, desenvolveram a Cas9 de alta fidelidade (SpCas9-HF1), cuja modificação estrutural reduziu drasticamente erros de edição, tornando o processo mais seguro para aplicações clínicas.

Estudos mais recentes, como os de Frangoul et al. (2021) e Esrick et al. (2021), evidenciaram que a reativação da hemoglobina fetal (HbF) substituiu parcialmente a HbS, levando à redução das crises vaso-oclusivas e à melhora da oxigenação tecidual, resultados que reforçam a eficácia da terapia gênica baseada em CRISPR.

Entretanto, desafios técnicos, éticos e econômicos ainda atêm a plena aplicação clínica da tecnologia. Silva & Pereira (2020) e Freire et al. (2021) destacam o risco das mutações *off-target*, os custos elevados e as implicações éticas relacionadas à manipulação do genoma humano. Apesar dessas limitações, os benefícios relatados nos estudos clínicos são significativos, refletindo diretamente na melhora da qualidade de vida dos pacientes e no avanço da medicina personalizada.

Dessa forma, os resultados e discussões apresentados reafirmam que o CRISPR-Cas9 representa uma ferramenta promissora na busca por uma terapia curativa para a doença falciforme, unindo precisão científica, potencial clínico e perspectivas de impacto social relevante, desde que acompanhada de regulamentação ética e investimento em pesquisa translacional.

No que tange aos avanços científicos, observa-se um salto qualitativo nos últimos anos, com a criação de variantes de nucleases de alta fidelidade (HiFi Cas9) que reduziram significativamente os efeitos *off-target* — cortes indesejados em regiões não planejadas do genoma. Kleinstiver et al. (2016) e Makarova et al. (2015)

destacam que essas versões aperfeiçoadas do CRISPR não apenas ampliam a segurança do procedimento, mas também permitem sua aplicação em células humanas sem risco expressivo de mutações colaterais. Além disso, Frangoul et al. (2021) e Esrick et al. (2021) relatam resultados clínicos bem-sucedidos em pacientes com doença falciforme, demonstrando aumento da hemoglobina fetal e melhora clínica duradoura. Esses avanços consolidam o CRISPR-Cas9 como uma das tecnologias mais promissoras da medicina regenerativa e genética moderna.

Todavia, os autores também ressaltam desafios e concepções éticas associadas à terapia gênica. Silva & Pereira (2020) enfatizam que o poder de editar o genoma humano traz consigo dilemas morais que ultrapassam os limites técnicos, especialmente no que se refere à distinção entre terapias curativas e manipulações genéticas de aprimoramento. Já Freire et al. (2021) abordam a necessidade de regulamentações internacionais que garantam o uso responsável da tecnologia, prevenindo a utilização para fins não terapêuticos. A discussão ética se estende ainda à questão do acesso, uma vez que o alto custo da terapia pode restringir seus benefícios a uma parcela reduzida da população, o que suscita preocupações quanto à equidade no acesso às inovações médicas.

Por fim, os benefícios da terapia gênica baseada em CRISPR-Cas9 são amplamente reconhecidos nos estudos revisados. Ribeil et al. (2017) relataram o primeiro caso clínico de sucesso na correção da mutação responsável pela doença falciforme, observando melhora significativa no quadro hematológico do paciente e redução das crises dolorosas. Esses resultados foram reforçados por Frangoul et al. (2021), que descreveram a eliminação quase total da necessidade de transfusões sanguíneas e uma recuperação funcional sustentada. Assim, a aplicação terapêutica da edição gênica se destaca não apenas pelo controle dos sintomas, mas também pela possibilidade de cura definitiva, representando um avanço sem precedentes no tratamento de doenças hereditárias graves.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa permitiu compreender que a tecnologia CRISPR-Cas9 representa um avanço significativo na biotecnologia moderna, por possibilitar a edição precisa de genes associados a doenças hereditárias, como a doença falciforme. A análise dos estudos selecionados evidenciou que o sistema apresenta alto potencial terapêutico, com resultados promissores na correção do gene HBB e na reativação da hemoglobina fetal, o que contribui para a melhora do quadro clínico dos pacientes.

Constatou-se que, embora a técnica se destaque por sua eficácia e aplicabilidade em modelos experimentais e clínicos, ainda existem desafios que precisam ser superados, especialmente aqueles relacionados à segurança genética, aos aspectos éticos e às limitações econômicas que dificultam o acesso equitativo à terapia gênica.

Dessa forma, pode-se concluir que o CRISPR-Cas9 consolida-se como uma ferramenta inovadora e promissora para o tratamento da doença falciforme, representando um marco na transição entre a pesquisa laboratorial e a medicina personalizada. No entanto, seu uso clínico exige a continuidade de estudos voltados à otimização da técnica, à avaliação dos efeitos a longo prazo e à criação de normas éticas e regulatórias que garantam o desenvolvimento responsável e seguro dessa tecnologia.

REFERÊNCIAS

BALLAS, S. K. et al. Transfusion therapy in sickle cell disease: indications and complications. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 26, n. 2, p. 291-308, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2012.01.003>. Acesso em: 3 jun. 2025.

BARRANGOU, R. et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, v. 315, n. 5819, p. 1709-1712, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1138140>. Acesso em: 3 jun. 2025.

CANVER, M. C. et al. BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis. *Nature*, v. 527, p. 192–197, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature15521>. Acesso em: 3 jun. 2025.

CARVALHO, João Batista. Estudo sobre as implicações da terapia gênica no tratamento da doença falciforme. *Revista de Hematologia*, v. 45, n. 3, p. 301-310, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000300004>. Acesso em: 18 mar. 2025.

CHARACHE, S. et al. Hydroxyurea: a simple and effective treatment for sickle cell anemia. *New England Journal of Medicine*, v. 332, n. 20, p. 1317-1322, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJM199505183322001>. Acesso em: 3 jun. 2025.

ESRICK, E. B. et al. Post-transcriptional genetic silencing of BCL11A to treat sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 384, n. 3, p. 205-215, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2029392>. Acesso em: 3 jun. 2025.

FRANGOUL, H. et al. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *New England Journal of Medicine*, v. 384, n. 3, p. 252-260, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054>. Acesso em: 3 jun. 2025.

FREIRE, D. S. et al. Gene editing and gene therapy approaches in sickle cell disease. 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9377665/>. Acesso em: 1 abr. 2025.

GLUCKMAN, E. et al. Hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease. *Hematology*, v. 22, n. 4, p. 341-346, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/asheducation-2017.1.341>. Acesso em: 3 jun. 2025.

JINEK, M. et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, v. 337, n. 6096, p. 816-821, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1225829>. Acesso em: 3 jun. 2025.

KLEINSTIVER, B. P. et al. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. *Nature*, v. 529, p. 490-495, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature16526>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MAKAROVA, K. S. et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, p. 722-736, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3569>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MARTINS, José da Silva; ALMEIDA, Raquel Costa. Terapia genética: uma abordagem inovadora no tratamento de doenças hereditárias. *Revista de Ciências Biomédicas*, v. 42, n. 5, p. 720-728, 2017. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170872>. Acesso em: 18 mar. 2025.

MOJICA, F. J. M. et al. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*, v.

60, n. 2, p. 174-182, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00239-004-0046-3>. Acesso em: 3 jun. 2025.

OLIVEIRA, Camila Sousa de; PEREIRA, Felipe Meira; REZENDE, Silvia Maria Magalhães de. Efeitos da terapia genética na modulação da expressão de hemoglobina em pacientes com doença falciforme. Einstein (São Paulo), v. 17, n. 2, p. 233-238, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S167945082017RB4024>. Acesso em: 18 mar. 2025.

RIBEIL, J. A. et al. Gene therapy in a patient with sickle cell disease. New England Journal of Medicine, v. 376, n. 9, p. 848-855, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609677>. Acesso em: 3 jun. 2025.

SANTOS, L. F. de S.; et al. Efeitos do uso de hidroxiureia no tratamento da doença falciforme. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 26, n. 4, p. 229-234, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572004000600004>. Acesso em: 1 abr.2025.

SANTOS, Lucas Pereira dos; SOUZA, Carla Alves; GOMES, Ingrid Silva. Avanços no tratamento genético da doença falciforme: perspectivas e desafios. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 31, n. 1, p. 109-120, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/01031104202012519>. Acesso em: 18 mar. 2025.

SILVA, André Luís; COSTA, Pedro Henrique; LIMA, Roberta Gonçalves. Terapias de edição genética e suas aplicações clínicas: desafios e avanços. Revista Brasileira de Terapias Avançadas, v. 27, n. 2, p. 204-214, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/198380422019272304>. Acesso em: 18 mar. 2025.

SILVA, D. G.; SILVA, R. M. Aspectos moleculares da anemia falciforme. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 52, n. 1, p. 1-6, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000100011>. Acesso em: 22 abr. 2025.

SILVA, Flávio Rodrigues. Impactos da edição genética CRISPR-Cas9 na medicina personalizada. Revista Brasileira de Terapias Avançadas, v. 27, n. 2, p. 204-214, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-80422019272304>. Acesso em: 18 mar. 2025.

SILVA, M. A.; PEREIRA, L. C. Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano. Revista Bioética, v. 28, n. 1, p. 9-18, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-80422019272304>. Acesso em: 22 abr. 2025.

SILVA, Thiago Mendes; PEREIRA, Liliane Costa; ROCHA, Bruno Gomes. Edição genética e terapia gênica: implicações no tratamento de doenças hereditárias. Revista Brasileira de Terapias Avançadas, v. 31, n. 6, p. 1203-1210, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1679-45082017RB4024>. Acesso em: 18 mar. 2025.

STEINBERG, M. H. et al. Effects of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *Journal of Clinical Oncology*, v. 28, n. 10, p. 2005-2011, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.8387>. Acesso em: 3 jun. 2025.

UNDB. Título do artigo. *Revista Educação em Medicina*, v. 23, n. 1, 2025. Disponível em: <https://periodicos.undb.edu.br/index.php/rem/article/view/189>. Acesso em: 1 abr. 2025.

WARE, R. E. et al. Hydroxyurea as an effective therapy for sickle cell disease. *Current Opinion in Hematology*, v. 24, n. 3, p. 193-199, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000343>. Acesso em: 3 jun. 2025.

WALTERS, M. C. et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 363, n. 24, p. 2305-2315, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1003641>. Acesso em: 3 jun. 2025.

YAWN, B. P. et al. Management of sickle cell disease: summary of the 2014 evidence- based report by expert panel members. *JAMA*, v. 312, n. 10, p. 1033-1048, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2014.10517>. Acesso em: 3 jun. 2025.