
ANÁLISE DA TÉCNICA DE EDIÇÃO GENÉTICA CRISPR/Cas9 COMO ALTERNATIVA DE TRATAMENTO PARA ANEMIA FALCIFORME

ANALYSIS OF THE CRISPR/Cas9 GENE EDITING TECHNIQUE AS AN ALTERNATIVE TREATMENT FOR SICKLE CELL ANEMIA

Bárbara Naiane Souza Silva Pereira^{1*}; Monique Mota Aguiar²

1 - Bióloga (UNIP) e Biomédica (Faresi), docente da Faculdade da Região Sisaleira.

2 - Biomédica, docente da Faculdade da Região Sisaleira.

RESUMO:

A anemia falciforme (AF) é uma doença de alta prevalência no Brasil em que ocorre uma mutação no gene responsável pela formação da hemoglobina. Os tratamentos existentes apenas reduzem as manifestações clínicas. Logo, o desenvolvimento de pesquisas que busquem uma cura mais acessível e menos dispendiosa é essencial. Portanto o objetivo do presente trabalho é analisar a técnica de edição genética CRISPR/Cas9 como alternativa de tratamento para anemia falciforme, por meio de revisão integrativa da literatura. A utilização do sistema CRISPR/Cas9 como ferramenta de edição genética pode ser utilizado em duas estratégias como alternativa para reverter o quadro de anemia falciforme, sendo elas a reparação do gene HBB e a inativação do gene BCL11A. Logo o CRISPR/Cas9 é uma alternativa viável para o tratamento da anemia falciforme, sendo uma técnica segura e eficaz. Entretanto, é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas voltadas para a diminuição dos efeitos colaterais, assim como investimento em discussões acerca das questões éticas.

PALAVRAS-CHAVE: Anemia falciforme, CRISPR/Cas9, gene HBB.

ABSTRACT:

Sickle cell anemia (SCA) is a highly prevalent disease in Brazil in which a mutation occurs in the gene responsible for the formation of hemoglobin. Existing treatments only reduce clinical manifestations. Therefore, the development of research that seeks a more accessible and less expensive cure is essential. Therefore, the objective of this study is to analyze the CRISPR/Cas9 gene editing technique as an alternative treatment for sickle cell anemia, through an integrative review of the literature. The use of the CRISPR/Cas9 system as a gene-editing tool can be used in two strategies as an alternative to reverse the sickle cell anemia condition, namely the repair of the HBB gene and the inactivation of the BCL11A gene. Therefore, CRISPR/Cas9 is a viable alternative for the treatment of sickle cell anemia, being a safe and effective technique. However, more research aimed at reducing side effects is needed, as well as investment in discussions about ethical issues.

KEYWORDS: Sickle cell anemia, CRISPR/Cas9, HBB gene.

1. INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é uma doença sanguínea, hereditária e crônica, de alta prevalência no Brasil, principalmente entre a população negra (pretos e pardos), em que ocorre uma mutação no gene responsável pela formação da hemoglobina, promovendo

uma alteração na forma das hemácias, denominada eritrofalциformação, em que elas passam de disco bicôncavo para células em forma de foice (drepanócitos) (SOUSA et al., 2021; BATISTA et al., 2023).

Essa alteração morfológica é responsável pela diminuição da oxigenação, obstrução dos capilares sanguíneos e eliminação precoce dessas hemácias da circulação, caracterizando uma anemia hemolítica. Entre os principais sintomas relatados estão fraqueza, crises de dor, principalmente nos ossos e articulações, bem como nas mãos e pés, aumento da incidência de infecções, úlceras de perna e sequestro esplênico (BATISTA et al., 2023).

Por possuir um caráter genético, em que o organismo produz uma forma variada de hemoglobina, chamada Hemoglobina S (HbS), em detrimento à Hemoglobina A (HbA), a única forma de cura da doença é através de transplante de células-tronco hematopoéticas, sendo necessário um doador compatível. Os tratamentos existentes, como medicações analgésicas e transfusões sanguíneas, apenas reduzem as manifestações clínicas, sem que haja a recuperação do paciente (SOUSA et al., 2021; CARDOZO et al., 2024).

Logo, o desenvolvimento de pesquisas que busquem uma cura mais acessível e menos dispendiosa é essencial para a melhora da qualidade e o aumento da expectativa de vida desses indivíduos. Estudos relacionados à edição genética vêm sendo realizados nas últimas décadas, com o objetivo de tratar de maneira definitiva doenças relacionadas a expressão inadequada de genes específicos, como a anemia falciforme (BATISTA et al., 2023).

Dentro desse cenário, a descoberta do sistema CRISPR/Cas9 foi de grande importância como alternativa de cura para essas doenças monogênicas. Esse método consiste na edição exata de fragmentos específicos do genoma de qualquer organismo, através de três moléculas, uma enzima nuclease (Cas9), a qual cliva a dupla fita de DNA, um RNA guia, que orienta os componentes até a região de interesse (gene causador da patologia), e o DNA alvo (foco do complexo) (LI et al., 2023).

Portanto o objetivo do presente trabalho é analisar a técnica de edição genética CRISPR/Cas9 como alternativa de tratamento para anemia falciforme, elucidando o contexto da doença no Brasil, sua etiologia, manifestações clínicas, formas de diagnóstico e tratamentos usuais, bem como o surgimento da CRISPR/Cas9, seu histórico, funcionamento, aplicabilidade e eficácia no combate à doença, a fim de demonstrar como a edição genética por esse meio pode representar uma esperança de cura para a doença falciforme.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho foi construído sob a forma de revisão integrativa da literatura, que é definida como um instrumento para sintetizar conhecimentos, a qual leva em consideração a abrangência e diversidade de ideias, integrando estudos diferentes. A pesquisa foi realizada entre os meses de março e outubro de 2024, por meio da averiguação em repositórios digitais de artigos científicos e trabalhos acadêmicos, como Scielo, Lilacs, PubMed e Science Direct.

A busca pelo referencial teórico ocorreu mediante a utilização das palavras-chave anemia falciforme, CRISPR/Cas9, edição genética e hemoglobina S, bem como de seus respectivos termos em inglês, apontando 72 artigos. Os critérios de exclusão foram baseados no ano de publicação, sendo eliminados os trabalhos fora do período entre 2014 e 2024, na análise dos títulos, estando descartados aqueles cujo tema era incompatível com o estudo, além de levar em consideração a relevância das publicações no ambiente científico.

Após essa etapa, restaram 47 trabalhos, que foram submetidos à leitura dos resumos, quando presentes, selecionando-se 25 pesquisas, as quais se adequavam aos objetivos propostos, estando 14 em idioma português, nove em inglês e dois em espanhol, sendo 19 artigos científicos, três trabalhos de conclusão de curso e dois livros, além de informações do site do Ministério da Saúde.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Anemia Falciforme

De acordo com o Ministério da Saúde, atualmente existem cerca de 60 a 100 mil pessoas portadoras de anemia falciforme no Brasil, com uma incidência de 3,78 a cada 10 mil nascidos vivos. Além disso, dados revelaram que a maior parte desses pacientes vem a óbito na faixa etária de 20 a 29 anos, apresentando uma média de mais de uma morte ao dia (BRASIL, 2024).

O grupo mais afetado pela anemia falciforme é a população negra, uma vez que esse distúrbio genético é mais prevalente em indivíduos afrodescendentes (MATAVEIA, 2021). A Bahia é o estado com maior número de pessoas negras no país, logo, é também o local onde a incidência da doença é mais elevada (MARTINS e TEIXEIRA, 2017).

Estima-se que um a cada 650 nascidos vivos na Bahia sejam portadores de anemia falciforme, enquanto que em Santa Catarina e no Paraná, por exemplo, essa taxa cai para um a cada 13.500, demonstrando essa relação direta da patologia com a raça, sendo muito prevalente na população preta e pouco prevalente em indivíduos brancos (LADEIA, SALLES e DIAS, 2020).

A anemia falciforme é uma doença genética e hereditária, provocada pela alteração no gene da beta globina (HBB), o qual é responsável pela produção da hemoglobina A, que é uma proteína (globina) considerada normal, presente em grandes quantidades nas hemácias de adultos. Quando mutado, esse gene produz uma hemoglobina diferente, denominada hemoglobina S, que é responsável pela falcização eritrocitária, caracterizando a patologia (LADEIA, SALLES e DIAS, 2020; ARAÚJO, 2024).

Essa mutação se dá pela troca de nucleotídeos, em que há uma substituição da adenina (A) pela timina (T), levando à mudança do ácido glutâmico (GAG), originalmente localizado na posição seis do gene HBB, pela valina (GTG) (MATAVEIA, 2021; CARDOZO et al., 2024), conferindo uma alteração estrutural da molécula.

A partir dessa conversão, há uma mudança na solubilidade da hemoglobina, levando-a a formar polímeros na falta de oxigênio, acarretando na perda da conformação normal de disco bicôncavo do eritrócito, para uma forma de “foice”, denominada drepanócito (LADEIA, SALLES e DIAS, 2020; DÍAZ-MATALLANA et al., 2021; ARAÚJO 2024).

Devido a essa alteração morfológica, as hemácias se tornam mais rígidas e com maior adesão entre elas mesmas, bem como ao endotélio dos capilares sanguíneos, promovendo a obstrução vascular ou vaso-oclusão. Essa situação acarreta na redução do fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, na diminuição do aporte de oxigênio para as células e tecidos. Além disso, essa conformação alterada dos eritrócitos diminui sua vida-média para 16 dias, sendo o normal para uma hemácia saudável o período de 120 dias, explicando a característica hemolítica da anemia falciforme (MATAVEIA, 2021; NODA, MUÑOZ e LEVYA, 2021; ARAÚJO, 2024).

Portanto, as manifestações clínicas estão relacionadas principalmente a vaso-oclusão, como: lesões isquêmicas teciduais, as quais podem causar crise vaso-oclusiva, definida pela dor intensa; alterações vasculares dos grandes vasos, sendo capaz de provocar o aumento da pressão arterial na circulação pulmonar, doenças cerebrovasculares e lesões vasculares da retina; bem como isquemia esplênica, renal, óssea e hepática (NODA, MUÑOZ e LEVYA, 2021; ARAÚJO, 2024).

Devido a essas características, a análise da sintomatologia do paciente está

incluída nos parâmetros para o diagnóstico, todavia a anemia falciforme só pode ser confirmada por meio de um conjunto de exames, sendo eles o hemograma, a microscopia sanguínea, o teste de falcização e, mais especificamente, a eletroforese da hemoglobina S, a qual avalia a presença da proteína alterada (SOUSA et al., 2021; SANTOS et al., 2024).

Por ser provocada por uma alteração genética, a anemia falciforme é considerada incurável, sendo a maior parte dos tratamentos relacionada à redução das manifestações clínicas. As terapêuticas mais utilizadas são as transfusões sanguíneas, com o objetivo de melhorar a oxigenação tecidual, o emprego de medicamentos, como a hidroxiureia (redução da polimerização da hemoglobina S) e L-glutamina (diminuição da oxidação eritrocitária) (DÍAZ-MATALLANA et al., 2021; MATAVEIA, 2021).

Outro tratamento muito aplicado é o transplante de células tronco hematopoéticas, o qual é uma alternativa com grande potencial, uma vez que possui um alto índice de eficácia (85 a 90%). Entretanto, esse procedimento requer compatibilidade entre doador e receptor, sendo esta considerada rara, fato que dificulta uma maior abrangência do método, tornando-o inviável para a maioria dos pacientes (MATAVEIA, 2021).

Atualmente, estudos relacionados à edição genética vêm sendo realizados com o objetivo de fornecer uma nova possibilidade de tratamento para a anemia falciforme, sendo a técnica mais promissora a CRISPR/Cas 9, a qual possui a capacidade de identificar e fragmentar um gene específico, incentivando a correção natural do DNA modificado (FRANGOUL et al., 2020; AHMAD, AYUB e HAQ, 2024; SANTOS et al., 2024).

3.2 CRISPR/Cas 9

Repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente inter-espaçadas ou CRISPR (do inglês *Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats*) são pequenas sequências de nucleotídeos que se repetem sob a forma de palíndromo em regiões específicas do DNA, as quais se encontram em intervalos determinados (FERRAZ et al., 2023). Esses fragmentos fazem parte, originalmente, do sistema imunológico adaptativo de bactérias e arqueas, funcionando como um marcador de moléculas estranhas (WANG, LA RUSSA e QI, 2016).

Quando uma bactéria que possui este sistema é infectada com material genético de vírus ou plasmídeos, ela insere esse DNA invasor em uma região CRISPR, a qual funciona como um sinalizador. A partir desse momento, cria-se uma memória genética, em que esse microrganismo consegue detectar a presença desse DNA estranho em qualquer

interação futura, caracterizando a imunização bacteriana (JIANG e DOUDNA, 2017; FERRAZ et al., 2023).

Em um segundo momento de infecção pelo mesmo agente, a bactéria reconhece essa situação e produz um RNA guia ou CRISPR RNA, o qual irá se ligar ao DNA alóctone, promovendo a sua degradação por meio de enzimas Cas (do inglês *CRISPR associated protein*), as quais funcionam como “tesouras genéticas”, que clivam o material genético exógeno e neutralizam a ameaça celular (ISHINO, KRUPOVIC, e FORTERREA, 2018; LI et al., 2023).

Todo esse processo de descoberta do CRISPR/Cas teve início em 1987, quando o biólogo molecular e pesquisador japonês Yoshizumi Ishino, em parceria com colaboradores, observou uma sequência de DNA que se repetia no genoma de bactérias *E. coli*. Naquele momento, por falta de tecnologias mais avançadas, a função desses fragmentos genéticos regulares não pôde ser descrita com clareza, ficando apenas registrada sua existência (MORAES-ALMEIDA et al., 2022).

Nos anos seguintes, outros estudos foram realizados por diversos pesquisadores, demonstrando a presença do locus CRISPR em arqueas, bem como em diferentes espécies de bactérias. Além dessas descobertas, observou-se que as sequências de DNA encontradas em bactérias eram homólogas àquelas encontradas em vírus bacteriófagos e plasmídeos, sugerindo um complexo defensivo, em que os CRISPRs auxiliariam na detecção do DNA invasor e na constituição de um sistema de memória, protegendo o microrganismo (ISHINO, KRUPOVIC, e FORTERREA, 2018; FERRAZ et al., 2023; ALMEIDA, 2024).

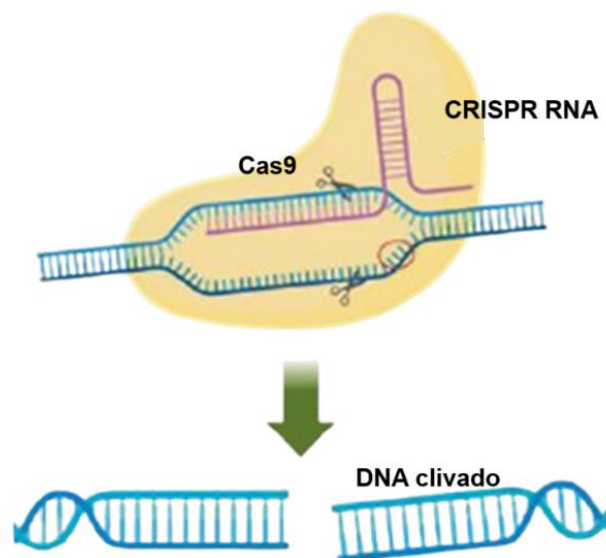
Durante este mesmo período, outra observação pôde ser realizada, a de que existiam genes anexos às regiões CRISPR, os quais eram responsáveis pela síntese de proteínas, denominadas Cas, sendo sua função enzimática principal a de nuclease (clivam a ligação fosfodiéster entre nucleotídeos, fragmentando o DNA) (Redman *et al.*, 2016; Ishino, Krupovic, e Forterrea, 2018). Com isso, após 20 anos da primeira descrição dos CRISPRs, a função do complexo CRISPR/Cas foi comprovada em 2007, por meio de experimentos práticos, que atestaram a finalidade do sistema como um processo imunológico procariótico (DOUDNA e CHARPENTIER, 2014; MORAES-ALMEIDA et al., 2022).

O complexo CRISPR/Cas foi classificado em três tipos (I, II e III), os quais se diferem pelas alterações na cadeia e na forma das proteínas Cas, sendo os tipos I e III mais complicados em relação à aplicabilidade genética, por necessitarem de várias enzimas para

sua ação. Já o tipo II se caracteriza pela facilidade de utilização, uma vez que com apenas uma enzima, a Cas9, a interação com o DNA invasor é alcançada (MORAES-ALMEIDA et al., 2022; ARAÚJO, 2024).

Após todos esses avanços, as pesquisadoras Emmanuelle Charpentier (Max Planck Institute for Infection Biology, Berlin, Alemanha) e Jennifer Doudna (Universidade da Califórnia, Berkeley, EUA) desenvolveram um estudo sem precedentes, o qual constatou que o sistema CRISPR/Cas9, além de ter a capacidade de fragmentar material genético invasor em bactérias, também era eficaz em clivar qualquer trecho de DNA previamente identificado, ficando conhecido pelo termo “tesoura genética” (Figura 1) (MORAES-ALMEIDA et al., 2022).

FIGURA 1: Mecanismo de edição genética CRISPR/Cas9.



Fonte: Modificado de Li *et al.*, 2023.

Nesse contexto, ambas as pesquisadoras receberam, em 2020, o Prêmio Nobel de Química, por terem desenvolvido um importante instrumento de edição gênica, o qual representa uma alternativa inovadora para o tratamento de inúmeras doenças que possuem sua etiologia relacionada a alterações genômicas, como a anemia falciforme (JIANG e DOUDNA, 2017; MORAES-ALMEIDA et al., 2022).

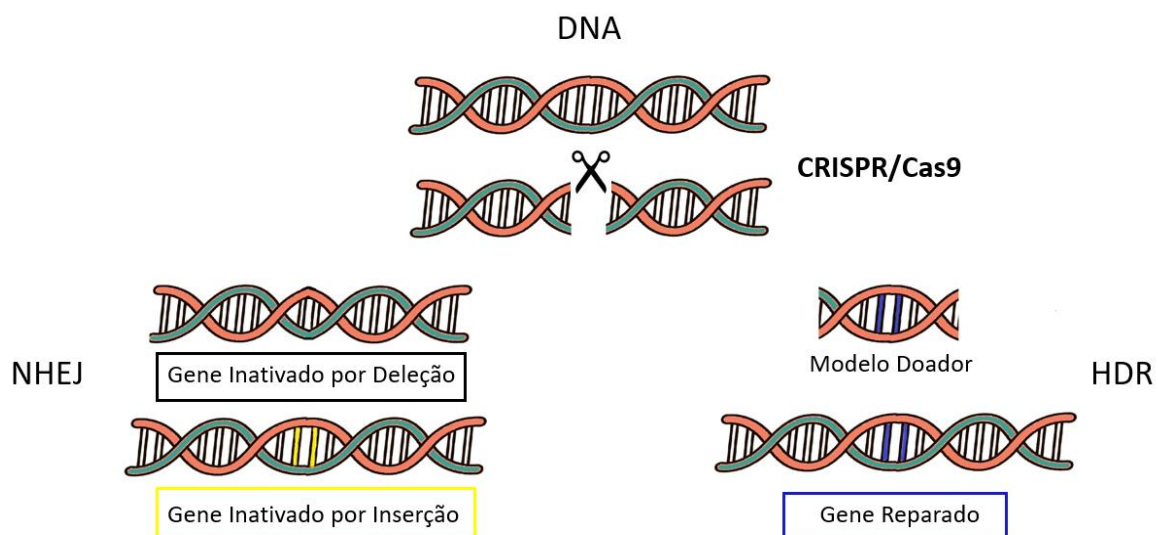
A utilização do sistema CRISPR/Cas9 como ferramenta de edição genética depende de um aparato de restauração natural que as células possuem, pautado na correção genética do DNA fragmentado. Esse sistema de recuperação do DNA é

classificado em dois, sendo eles o reparo por junção não homóloga, do inglês *Non-Homologous End Joining* (NHEJ), e o reparo dirigido por homologia, do inglês *Homology-Directed Repair* (HDR) (LI et al., 2023; CARDOZO et al. 2024).

O NHEJ consiste na ligação das extremidades da molécula de DNA de forma aleatória, sem que haja necessariamente a presença de nucleotídeos semelhantes, tendo como objetivo principal desativar o gene mutado, pois sua quebra inativa a região do DNA, impedindo que sua função genética seja exercida. Essa inativação pode ocorrer por deleção, onde retira-se parte do DNA, sem que haja introdução de nucleotídeos, ou por inserção, em que há a implantação de novas bases, sem que essas produzam um gene ativado (Figura 2) (DOUDNA e CHARPENTIER, 2014; JIANG e DOUDNA, 2017; LI et al., 2023).

Já o HDR corresponde à junção do DNA a partir de sequências similares as que foram retiradas, que podem ser fornecidas por cromátides irmãs ou cromossomos não homólogos, no caso de reparação natural, ou DNA doador, no caso de edição genética artificial. O principal propósito desse mecanismo é a substituição de uma sequência de DNA mutado por uma reparada, por meio da inserção do gene corrigido na região em que houve a clivagem genética (Figura 2) (LI et al., 2023; POLETTO, SCHUH e BALDO, 2023; ARAÚJO, 2024; SANTOS et al., 2024).

FIGURA 2: Vias de Reparação do DNA.



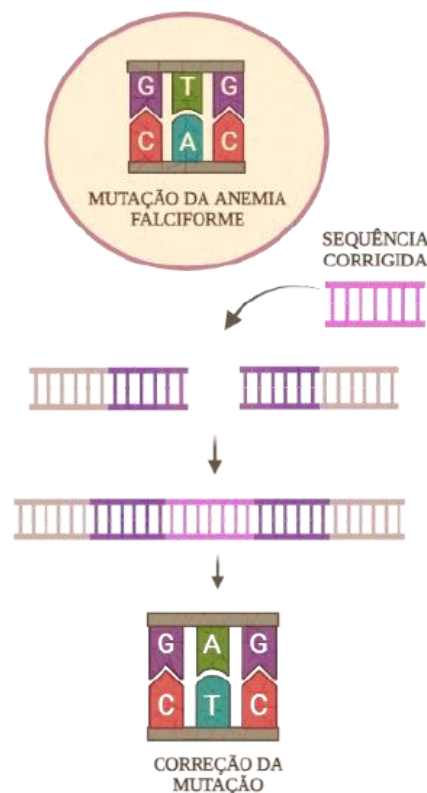
Fonte: Elaboração própria.

3.3 CRISPR/Cas 9 aplicado à anemia falciforme

Aproveitando esse método de reconstituição natural do DNA, o sistema CRISPR/Cas9 encontra o gene alvo, por intervenção do CRISPR RNA (RNA guia) e promove a clivagem no material genético por meio da enzima Cas9 (“tesoura genética”). A partir disso, duas estratégias podem ser aplicadas como alternativa para reverter o quadro de anemia falciforme, sendo elas a reparação do gene HBB e a inativação do gene BCL11A (POLETTTO, SCHUH e BALDO, 2023; SANTOS et al., 2024).

O gene HBB é o responsável pela mutação que promove a anemia falciforme, sendo o procedimento mais apropriado para sua restauração a combinação do sistema CRISPR/Cas9 com o HDR, em que existe o reconhecimento pelo CRISPR RNA do sítio alvo (região 6 do gene HBB), a clivagem dessa região pela nuclease Cas9, e a reestruturação correta do gene com o auxílio de um DNA doador (sequência correta de DNA), permitindo que própria célula então remonte o gene de forma saudável, reparando a sequência original (Figura 3) (SANTOS et al., 2024).

FIGURA 3: Reparo do gene HBB por via homóloga.



Fonte: Modificado de Santos *et al.*, 2024.

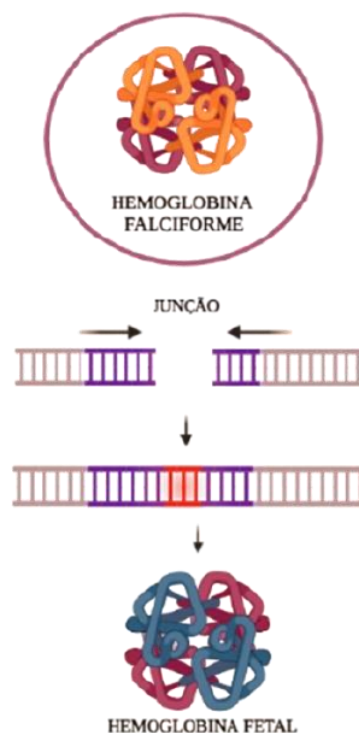
O gene BCL11A tem como função a substituição da hemoglobina fetal (HbF) pela

hemoglobina adulta (HbA). Isso se dá uma vez que durante a gestação e logo ao nascer, a hemoglobina encontrada no bebê é a fetal, a qual é formada por duas cadeias alfa (α) e duas cadeias gama (γ), enquanto que a adulta possui duas cadeias alfa (α) e duas cadeias beta (β). Essa troca de hemoglobina é necessária uma vez que a fetal é mais adaptada para o transporte de oxigênio via placenta à medida que a adulta proporciona mais eficácia no transporte de oxigênio para os tecidos periféricos (LI et al., 2023; ARAÚJO, 2024; CARDOZO et al. 2024).

Pacientes com anemia falciforme possuem a hemoglobina adulta alterada (HbS), a qual promove os sintomas da doença. Para esses indivíduos, a diminuição da expressão do gene BCL11A possibilita que a síntese de hemoglobina fetal não seja pausada, causando um aumento na quantidade de HbF em detrimento da HbS, viabilizando uma redução nas manifestações clínicas (LI et al., 2023; ARAÚJO, 2024).

Para isso, o sistema CRISPR/Ca9 associado ao NHEJ pode ser de extrema utilidade, agindo por meio da identificação do BCL11A pelo CRISPR RNA, sua fragmentação pela enzima Cas9, e posteriormente a junção das extremidades de DNA de forma não homóloga, promovendo a diminuição da expressão desse gene por sua deleção completa ou por uma inserção de bases não funcionais (Figura 4). A partir dessa inutilização da região genética, a HbF começa a ser produzida novamente, reduzindo a quantidade de HbS na corrente sanguínea do paciente (LI et al., 2023; ARAÚJO, 2024).

Figura 4: Desativação do gene BCL11A por via não homóloga.



Fonte: Modificado de Santos *et al.*, 2024.

A utilização do complexo CRISPR/Cas9 aliado aos mecanismos de reparo naturais do DNA vêm se mostrando de grande relevância para o tratamento da anemia falciforme. Vários estudos e ensaios clínicos estão sendo realizados com o intuito de comprovar a ação dessa técnica na atenuação dos sintomas da patologia, sendo considerada hoje uma das mais promissoras alternativas para a cura da doença (MORAES-ALMEIDA et al., 2022).

Dentre as principais pesquisas relacionadas a essa temática, destaca-se a realizada em 2019, a qual foi considerada pioneira, em que equipes americanas e europeias de pesquisadores realizaram a edição genética por CRISPR/Cas9 em uma paciente portadora de anemia falciforme, a qual teve seus sintomas aliviados, como a diminuição da frequência de síndromes vaso-oclusivas e a redução da necessidade de transfusões sanguíneas contínuas, constatando uma melhora na qualidade de vida da mesma (FRANGOUL et al., 2020; AHMAD, AYUB e HAQ, 2024; ARAÚJO, 2024).

Com base nesse primeiro estudo, muitos outros vêm sendo desenvolvidos, com o intuito de demonstrar que a utilização do sistema CRISPR/Cas9 é uma alternativa viável para o tratamento da anemia falciforme, uma vez que tem como princípio a edição de um gene específico, tornando a técnica mais segura e eficaz (PULECIO et al., 2017). De maneira adicional, essa técnica também se destaca ao poder ser aplicada em qualquer indivíduo, sem a necessidade de compatibilidade com outra pessoa, o que a difere do transplante de células-tronco, única forma de cura conhecida até o momento (LI et al., 2023; ARAÚJO, 2024; CARDOZO et al., 2024).

Entretanto, como em qualquer outra inovação científica, o uso do complexo CRISPR/Cas9 também traz desvantagens, como o alto custo da técnica (ARAÚJO, 2024), não sendo viável para a maioria dos portadores da doença, e os efeitos colaterais, como mutações aleatórias fora do alvo determinado e possíveis efeitos tóxicos (AHMAD, AYUB e HAQ, 2024).

Para além disso, também é notável o envolvimento de questões éticas, como a falta de conhecimento sobre efeitos inesperados e consequências a longo prazo, alteração de características físicas não relacionadas à saúde, bem como a deficiência em regulamentações próprias para essas atividades, situações que podem gerar inquietações e reflexões sobre o tema (SGANZERLA e PESSINI, 2020).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de edição genética CRISPR/Cas9 é uma inovação tecnológica na área

da saúde, podendo ser considerada uma esperança de cura para inúmeras doenças genéticas. Sua aplicabilidade e eficácia a torna uma das grandes evoluções científicas das últimas décadas, auxiliando no tratamento de doenças genéticas como a anemia falciforme, a qual ainda é considerada incurável.

A utilização do complexo CRISPR/Cas9 no reparo do gene HBB bem como a diminuição da expressão do gene BCL11A são as principais estratégias utilizadas para tratar a anemia falciforme, sendo de extrema relevância na diminuição das manifestações clínicas e no aumento da qualidade de vida dos pacientes portadores dessa doença.

Portanto, para que esse método se torne mais acessível e completamente seguro, é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas voltadas para a diminuição dos efeitos colaterais, redução dos custos de produção e distribuição, assim como investimento em discussões acerca das questões éticas que envolvem a edição genética na saúde, visando dessa forma uma possibilidade real de cura para a anemia falciforme.

5. REFERÊNCIAS

AHMAD, W.; AYUB, M.; HAQ, I. U. CRISPR-Cas9 gene editing to cure sickle cell anemia and future advances. **Exceed Journal of Biological and Computer Sciences**, v.1, n.1, p.1-12, 2024.

ALMEIDA, W. B. L. **CRISPR/Cas9: atualizações, limitações e expectativas**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2024.

ARAÚJO, A. B. S. **CRISPR-CAS9 como ferramenta terapêutica na anemia falciforme: abordagens modulatórias do BCL11A para elevação da hemoglobina fetal**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

BATISTA, L. V. O. *et al.* Rompendo Barreiras na Saúde: O CRISPR como tratamento para hemoglobinopatias com ênfase da anemia falciforme. **Revista de Estudos Multidisciplinares**, v.3, n.3, p.1-12, 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Doença Falciforme**. Brasília, 2024. Disponível em

<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-falciforme>. Acesso em: 16 de abril de 2024.

CARDOZO, T. G. *et al.* Edição genômica: uma nova esperança no tratamento da doença falciforme? **Revista Científica Multidisciplinar – RECIMA**, v.5, n.6, p.1-7, 2024.

DÍAZ-MATALLANA, M. *et al.* Anemia falciforme: una revisión sobre el genotipo de la enfermedad, haplotipos, diagnóstico y estudios asociados. **Rev. méd. Chile**, v.149, n.9, p. 1322-1329, 2021.

DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v.346, n.6213, p.1077-1087, 2014.

FERRAZ, R. *et al.* CRISPR/Cas: Definição, aplicações e desafios na biotecnologia vegetal. **Rev. Ciência Elem.**, v.11, n.1, p. 1-6, 2023.

FRANGOUL, H. *et al.* CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. **N Engl J Med**, v.384, n.3, p.252-260, 2020.

ISHINO, Y.; KRUPOVIC, M.; FORTERREA, P. History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. **J. Bacteriol.**, v.200, n.7, p.2-17, 2018.

JIANG, F.; DOUDNA, J. A. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. **Annu Rev Biophys**, n.22, v.46, p.505-529, 2017.

LADEIA, A. M.; SALLES, C.; DIAS, C. **Anemia falciforme e comorbidades associadas na infância e na adolescência**. Curitiba: Appris, 2020.

LI, T. *et al.* CRISPR/Cas9 therapeutics: progress and prospects. **Signal Transduct Target Ther**, v.8, n.36, p.1-23, 2023.

MARTINS, M. M. F.; TEIXEIRA, M. C. P. Análise dos gastos das internações hospitalares por anemia falciforme no estado da Bahia. **Cadernos Saúde Coletiva**, v.25, p.24-30, 2017.

MATAVEIA, E. R. F. **Aplicabilidade clínica da técnica CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) no tratamento da anemia falciforme: uma revisão integrativa.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2021.

MORAES-ALMEIDA, M.S. *et al.* **Edição gênica por CRISPR/CAS9: Da teoria à prática.** São Paulo: Blücher, 2022.

NODA, G. S.; MUÑOZ, L. Z. E.; LEVYA, K. P. Nuevos aspectos moleculares y fisiopatológicos de la anemia drepanocítica. **Rev cubana med**, v.60, n.1, p. 1-10, 2021.

POLETTO, E.; SCHUH, R. S.; BALDO, G. Implementando CRISPR/Cas9 no laboratório: um guia de como editar células para criar modelos celulares. **Clin Biomed Res**, v.43, n.4, p.423-438, 2023.

PULECIO, J. *et al.* CRISPR/Cas9-based engineering of the epigenome. **Cell Stem Cell**, v.21, n.4, p.431- 447, 2017.

REDMAN, M. *et al.* What is CRISPR/Cas9? **Arch Dis Child Educ Pract Ed**, n.101, v. 4, p.213-215, 2016.

SANTOS, G. P. *et al.* A síntese de hemoglobina fetal via CRISPR/Cas9 para o tratamento da anemia falciforme. **Revista Multidisciplinar da Saúde (RMS)**, v.6, n.1, p.01-15, 2024.

SGANZERLA, A.; PESSINI, L. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. **Saúde Debate**, v.44, n.125, p.527-540, 2020.

SOUSA, G. H. M.; Anemia falciforme. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação-REASE**, v.7, n.11, p.195-209, 2021.

WANG, H.; LA RUSSA, M.; QI, L.S. CRISPR/Cas9 in Genome Editing and Beyond. **Annu Rev Biochem**, v.85, n.2, p. 227-264, 2016.

Autor(a) para correspondência:
Bárbara Naiane Souza Silva Pereira
Email: docente.bárbaranaiane.silva@faresi.edu.br
Faculdade da Região Sisaleira
RECEBIDO: 12/05/2025 ACEITE:20/05/2025