

APLICAÇÃO DO CRISPR NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PULMÃO

Davi Vinicius Cerqueira Coelho¹

Gabrielle Nunes Oliveira Santos²

Tiago Barbosa Guimarães³

Walber Rodrigo Freire Quintino⁴

Jaim Simões de Oliveira⁵

Medicina



ISSN IMPRESSO 1980-1769

ISSN ELETRÔNICO 2316-3151

RESUMO

Atualmente, o câncer de pulmão ocupa a primeira posição em incidência entre os homens e a terceira posição entre as mulheres. Além disso, sua prevalência no Brasil representa o terceiro lugar dentre os tipos de tumores malignos. Diante da limitação das terapias existentes para o tratamento do câncer de pulmão, o advento da técnica de manipulação genômica de CRISPR tem-se mostrado eficiente para o desenvolvimento de novas terapias para o tratamento dessa patologia. O presente artigo é uma revisão integrativa da literatura que teve por objetivo evidenciar a aplicabilidade da técnica de CRISPR nos tratamentos e melhora nos prognósticos de pacientes com câncer de pulmão. As buscas por estudos foram realizadas nas bases de dados da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos e Biblioteca Virtual em Saúde, utilizando os descritores *Lung Neoplasm, therapeutics e CRISPR*. Um total de nove estudos foram selecionados como evidência científica para a escrita da revisão. Dentre eles, quatro revisões sistemáticas, três revisões integrativas e uma revisão narrativa. As evidências encontradas mostraram que o uso de diferentes abordagens terapêuticas baseadas em CRISPR/Cas9 para a correção de mutações, e principalmente para o nocaute de oncogenes propicia um melhor prognóstico para os pacientes acometidos com câncer de pulmão, mostrando grande potencial para o tratamento dessa doença, devido principalmente, a sua seletividade genômica nas células mutadas. Além de potencialmente levar a cura da doença, essas terapias podem ser utilizadas em conjunto com terapias farmacológicas e para a estabilização do paciente, evitando a evolução do quadro cancerígeno.

DESCRITORES

Neoplasia Pulmonar, Terapêutica, CRISPR

ABSTRACT

Currently, lung cancer occupies the first position in incidence among men and the third position among women. In addition, its prevalence in Brazil ranks third among types of malignant tumors. Given the limitation of existing therapies for the treatment of lung cancer, the advent of the CRISPR genomic manipulation technique has proven to be efficient for the development of new therapies for the treatment of this pathology. This article is an integrative literature review that aimed to demonstrate the applicability of the CRISPR technique in the treatments and improvement in the prognosis of patients with lung cancer. The search for studies was carried out in the databases of the National Library of Medicine of the United States and the Virtual Health Library, using the descriptors Lung Neoplasm, therapeutics and CRISPR. A total of nine studies were selected as scientific evidence for writing the review. Among them, four systematic reviews, three integrative reviews and one narrative review. The evidence found showed that the use of different therapeutic approaches based on CRISPR/Cas9 for the correction of mutations, and mainly for the knockout of oncogenes, provides a better prognosis for patients with lung cancer, showing great potential for the treatment of this disease, mainly due to its genomic selectivity in mutated cells. In addition to potentially leading to a cure for the disease, these therapies can be used in conjunction with pharmacological therapies and to stabilize the patient, preventing the evolution of the cancerous condition.

DESCRIPTORS

Lung Neoplasm, therapeutics e CRISPR

RESUMEN

Actualmente, el cáncer de pulmón ocupa el primer puesto en incidencia entre los hombres y el tercero entre las mujeres. Además, su prevalencia en Brasil ocupa el tercer lugar entre los tipos de tumores malignos. Dada la limitación de las terapias existentes para el tratamiento del cáncer de pulmón, el advenimiento de la técnica de manipulación genómica CRISPR ha demostrado ser eficiente para el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de esta patología. Este artículo es una revisión integrativa de la literatura que tuvo como objetivo demostrar la aplicabilidad de la técnica CRISPR en los tratamientos y mejora en el pronóstico de pacientes con cáncer de pulmón. La búsqueda de estudios se realizó en las bases de datos de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos y la Biblioteca Virtual en Salud, utilizando

los descriptores Lung Neoplasm, Therapeutics y CRISPR. Se seleccionó un total de nueve estudios como evidencia científica para escribir la revisión. Entre ellos, cuatro revisiones sistemáticas, tres revisiones integradoras y una revisión narrativa. La evidencia encontrada mostró que el uso de diferentes abordajes terapéuticos basados en CRISPR/Cas9 para la corrección de mutaciones, y principalmente para el knockout de oncogenes, proporciona un mejor pronóstico para los pacientes con cáncer de pulmón, mostrando un gran potencial para el tratamiento de esta enfermedad, principalmente debido a su selectividad genómica en células mutadas. Además de conducir potencialmente a una cura para la enfermedad, estas terapias pueden usarse junto con terapias farmacológicas y para estabilizar al paciente, previniendo la evolución de la condición cancerosa.

DESCRIPTORES

Neoplasia de pulmón, terapéutica, CRISPR

INTRODUÇÃO

No mundo, o câncer de pulmão é um dos principais em incidência dentre as neoplasias malignas, ocupando a primeira posição entre os homens e a terceira posição entre as mulheres. Além disso, em mortalidade é o primeiro entre os homens e o segundo entre as mulheres segundo estimativas mundiais de 2020. Sua prevalência no Brasil representa o terceiro lugar dentre os tipos de tumores malignos e acomete mais o público masculino, apesar de estar ocorrendo um aumento considerável da prevalência em mulheres dos 30.200 novos casos, 17.760 são homens e 12.440 são mulheres. Esse costuma ser diagnosticado tardiamente, com isso a taxa de sobrevivência compreende 16% em 5 anos, dessa forma as pessoas com esse diagnóstico representam um péssimo prognóstico. (INCA, 2020).

A neoplasia de pulmão é dividida em dois grupos: câncer de pulmão de pequenas células e câncer de pulmão de não pequenas células, este é subdividido em adenocarcinoma, carcinoma espinocelular e carcinoma de grandes células, em ordem de incidência. O principal fator de risco relacionado a essa patologia é o tabagismo representando 80% de todos os casos, seguido de outros fatores de risco como o alcoolismo, exposição a partículas ambientais, fumo passivo e hereditariedade. (GOLDMAN, 2018).

A fisiopatologia do câncer de pulmão é ocasionada pela persistência de um agente lesivo sobre as células, que propicia o acúmulo de mutações gênicas. Eventualmente, essas mutações podem levar a ativação de genes inativos que propiciam a atividade cancerígena nas células mutadas (proto-oncogenes). Após a sua ativação esses genes passam a ser chamados de oncogenes, que correspondem a genes supressores e acumuladores de tumor e promovem o acúmulo de danos a célula. Assim, temos uma condição que propiciará lentamente a transformação dessa célula numa condição maligna, que proporciona uma proliferação celular descontrolada pelo fato desses genes serem responsáveis essencialmente pelo controle do processo

de divisão celular. As células alteradas perdem a capacidade de reparar as mutações ou induzir apoptose. Dessa forma os principais genes envolvidos nessa patologia são os oncogênes *K-ras*, *myc*, *ERBB2* e *bcl-2*. Já os supressores de tumor envolvidos compreendem o *TP53*, *rb* e *3p*. (BOGLIOLO, 2018).

Por envolver múltiplos genes e vias de sinalização, o tratamento do câncer de pulmão tem sido foco de intensa pesquisa clínica, principalmente voltada à terapia gênica. A terapia gênica refere-se ao tratamento que envolve alterações ativas de genes. O reparo do genoma do pulmão e de células cancerígenas, assim como silenciar a expressão de proteínas específicas tornaram-se abordagens populares para estudar e tratar o câncer de pulmão. Nos últimos anos, a aplicação de tecnologias de edição de genes como o sistema CRISPR atraiu, cada vez mais, atenção e estes foram investigados para pesquisas e tratamento de câncer, incluindo o câncer de pulmão (ALCANTARA, *et al.*, 2019).

Descoberto em 2012 e criado a partir de mecanismos moleculares do sistema imunológico bacteriano, o qual utiliza-se da CRISPR-Cas do tipo II para sua proteção contra vírus e plasmídeos invasores, o CRISPR-Cas9 proporciona a mudança do genoma a partir de clivagem do DNA por uma endonuclease (Cas9). Essa enzima é guiada a partir de uma interação DNA-RNA, no qual forma-se, inicialmente, o RNA transativador (ou RNA guia) para direcionar a enzima Cas9 no DNA. Após isso, ela necessita de um pareamento das bases nitrogenadas para fazer quebras na dupla fita, que ativarão os sistemas de reparo intracelulares que refazem essa estrutura, permitindo as modificações do RNA guia no genoma (AREND, PEREIRA, MARKOSKI, 2017).

Assim, essa técnica pode ser utilizada tanto para reparar mutações (restaurando a função gênica) quanto para introduzir mutações novas (causando o “nocaute” gênico), sendo de fundamental importância para o desenvolvimento de pesquisas de modificação de genoma em vários tipos celulares, principalmente no combate de células cancerígenas. No entanto, a principal dificuldade dessa fenomenal técnica é o modo de introdução do sistema dentro das células, pois utilizam-se de vetores virais, a princípio os lentivírus, adenovírus e vírus adeno-associados, para levar sequências que codifiquem o sistema genômico no local exato (CASTRIGNANO, 2017).

Por apresentar prognósticos e dados lamentáveis, é de suma importância buscar associações que reduzam essas taxas e possibilitem aos pacientes oncológicos a possibilidade de um tratamento menor e menos desgastante. Nesse sentido, pesquisas que envolvem a aplicação da biotecnologia do CRISPR no tratamento das neoplasias de pulmão são um ponto essencial para alcançar esse objetivo. Dessa forma, esse artigo é uma revisão integrativa que objetivou evidenciar a aplicabilidade do uso dessa nova tecnologia, sua eficiência e projeções nos tratamentos de pacientes com câncer de pulmão.

2. MÉTODO

Este estudo foi realizado em formato de revisão integrativa de literatura, que inclui a análise de pesquisas de grande valor científico que auxiliam para pesquisas sobre a mesma temática. A abordagem da revisão é qualitativa e exploratória, tendo

como etapas: questão de pesquisa, busca na literatura, categorização dos estudos, avaliação dos estudos, interpretação dos resultados e síntese do conhecimento, em cujo qual objetiva fazer uma análise dos dados para desenvolver uma explicação mais concreta sobre o assunto abordado (CUNHA, CUNHA, ALVES, 2014).

Para a realização deste artigo foi seguido uma abordagem cronológica que iniciou com a pergunta de pesquisa: Como é feita a utilização do CRISPR-Cas9 no tratamento de câncer de pulmão? A Busca dos artigos foi realizada em duas plataformas virtuais indexadas: Biblioteca Virtual da Saúde (BVS) e a PUBMED, considerando como descritores: *Lung Neoplasm*, *Therapeutics*, CRISPR.

Inicialmente, realizou-se a busca pelos descritores individualmente, em seguida foram utilizados cruzamentos utilizando o operador booleano AND. Posteriormente, os descritores foram cruzados em conjunto, com o principal foi: "Lung Neoplasms" AND CRISPR AND Therapeutics. Após isso, na plataforma do PUBMED foi encontrado 45 artigos, que após colocarmos o filtro de 5 anos abaixou para 44 artigos. Já na plataforma da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) foi utilizado o descritor Neoplasia, Terapia e CRISPR, sendo encontrados 23 artigos, os quais após o filtro de 5 anos e que falasse especificamente sobre Neoplasias Pulmonares, Sistema CRISPR e Edição de Genes abaixaram para 20. Em seguida, foram utilizados os mesmos critérios de exclusão para as duas plataformas, que são: utilização de células-tronco no Tratamento de Câncer de Pulmão, artigos duplicados na mesma plataforma ou em diferentes, Resumos e Títulos que não fazem relação com a utilização do CRISPR no Tratamento de Câncer de Pulmão e artigos que utilizem de fármacos para modificação de Genoma Cancerígeno. Assim, no final de tudo, foram selecionados 6 artigos na PUBMED e 3 artigos na BVS.

3. RESULTADOS

Os nove artigos selecionados para a escrita da revisão, bem como uma descrição sucinta de suas metodologias e principais informações estão apresentados no Quadro 1. Dentre eles, estão 4 revisões sistemáticas, que discorrem sobre a experimentos que aplicaram a técnica CRISPR no tratamento do câncer de pulmão, principalmente para correção de mutações no gene *EGFR*, que codifica a proteína receptor do fator de crescimento epidérmico. (CASTILLO, 2016; CHEUNG *et al.*, 2018; GUAN *et al.*, 2016. SACHDEVA *et al.*, 2015; TANG, SHRAGER, 2016). Três estudos são revisões integrativas da literatura, que discutem a aplicação da técnica CRISPR / Cas9 no desenvolvimento de terapias genéticas para o tratamento de doenças, incluindo o câncer de pulmão. (GUAN *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2019; SUGITA *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2019). Por fim, foi selecionado um estudo de revisão narrativa que relata a aplicação da CRISPR no diagnóstico de câncer de pulmão. (GUERNET *et al.*, 2016).

Quadro 1 - Artigos selecionados para a escrita da revisão.

| Artigo | Metodologia | Principais Informações |
|--------------------------------|----------------------------------|---|
| CASTILLO, 2016. | Revisão sistemática | A tecnologia CRISPR representa o avanço mais importante da ciência no combate ao câncer, sendo possível através dessa técnica de edição, corrigir e modificar as informações genéticas. |
| CHEUNG <i>et al</i> , 2018. | Revisão sistemática | Os estudos revisados apresentam uma terapêutica baseada em nucleotídeos com a finalidade de direcionamento terapêutico específico aos genes mutados no câncer. Os estudos apresentam experimentos realizados com o gene <i>EGFR</i> , contendo a mutação L858R. |
| GUAN <i>et al.</i> , 2016. | Revisão Sistemática Integrativa. | Resumo da descoberta, da classificação e mecanismo do sistema CRISPR-Cas e discute a aplicação de CRISPR-Cas9 em terapia genética. |
| GUERNET <i>et al.</i> , 2016. | Revisão Narrativa. | Relato de experiência do uso da tecnologia CRISPR/ Cas 9 e de códigos de barra específicos para rastrear o surgimento de possíveis subpopulações de células cancerígenas, voltado para testes em neoplasias de pulmão. |
| LEE <i>et al.</i> , 2019. | Revisão sistemática integrativa. | Revisão que atualiza as recentes técnicas sobre estratégias de entrega de genes em aerossol usando vários tipos de vetores e tecnologias de modificação de genes contra o Câncer de Pulmão. |
| SUGITA <i>et al.</i> , 2015. | Revisão integrativa | O gefitinibe induz autofagia em células NSCLC de maneira independente da proteína EGFR. A claritromicina tem o efeito de inibir o fluxo de autofagia nas células NSCLC. O tratamento combinado com gefitinibe e claritromicina aumenta o efeito citotóxico juntamente com a carga de estresse do ER. |
| SACHDEVA <i>et al.</i> , 2015. | Revisão sistemática | Uso de CRISPR / Cas9 como um mecanismo de edição do genoma humano de maneira a ser utilizado no tratamento do câncer de pulmão, com o objetivo de se estabelecer uma terapia eficaz no combate dessa patologia. |
| TANG, SHRAGER, 2016. | Revisão sistemática | Uso da tecnologia CRISPR permitindo uma edição molecular personalizada corrigindo ou destruindo as mutações em <i>EGFR</i> , identificados em pacientes com câncer. |
| ZHANG <i>et al.</i> , 2019. | Revisão integrativa | Estudo que busca a integração das técnicas de sequenciamento genômico, o sistema CRISPR / Cas9 e os modelos PDX para identificar e validar os possíveis alvos do gene do driver. Além disso, nos concentramos em um novo candidato, GRM8, para investigar suas funções de promoção de tumores e suas mutações ativadoras identificadas em amostras de tumores LUSC. |

Fonte: Próprios autores

4. DISCUSSÃO

4.1. Introdução, descoberta e utilização do CRISPR/Cas9

Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR) consistem em pequenas porções do DNA bacteriano compostas por repetições de nucleotídeos, que juntamente com as proteínas associadas CAS, são componentes essenciais do sistema de defesa nas bactérias, equivalente a um sistema imunológico adaptativo. Naturalmente, o sistema CRISPR-Cas é responsável por proteger as células de infecções por bacteriófagos e plasmídeos conjugados, ou seja, é um mecanismo defensivo antiviral eficiente. O processo de intervenção nas células através do CRISPR é realizado em três fases que são semelhantes a interferência do RNA eucariótico (GUAN *et al.*, 2016).

O sistema CRISPR/Cas9 frequentemente envolve o empacotamento viral para realizar alterações nas células alvos e proporcionar eficiência terapêutica, no caso do câncer pulmonar. Sua posologia é definida conforme a gravidade do câncer pulmonar, para tumores ao nível local, utilizando a via intratraqueal, quando em estado metastático. A via parenteral é a definida para que através da circulação sistêmica o seu alvo seja atingido. Essa capacidade de empacotamento viral facilita a administração do terapêutico e rapidez para gerar efeito, bem como evita medida mais invasivas para que ocorra uma ação terapêutica (TANG *et al.*, 2016).

A descoberta das primeiras repetições palindrômicas, curtas, agrupadas e regularmente interespaçadas foi em 1987, a partir da análise do gene da fosfatase alcalina conversora de isozima (IAP) de *Escherichia coli*. (ISHINO apud TANG *et al.*, 2016). Atualmente, a CRISPR é uma nova tecnologia de edição de DNA baseada no nuclease Cas9 de *S. pyogenes* e um RNA de guia único (sgRNA) que, como complexo, pode reconhecer e cortar especificamente uma sequência de genômica de interesse (DOUDNA apud GUERNET *et al.*, 2016). Nesse sentido, em pesquisas mais recentes, o mecanismo de atuação do CRISPR-Cas passou a ser utilizado como ferramenta de edição genômica em muitas espécies, como bactérias, leveduras, camundongos e humanos, nas diferentes circunstâncias, inclusive no tratamento de doenças (GUAN *et al.*, 2016).

É possível, através da utilização da tecnologia do CRISPR, rastrear e recapitular o surgimento de subpopulações cancerígenas úteis ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas e paliativas para o tratamento de neoplasias. (GUERNET *et al.*, 2016). Essa utilização proporcionou avanços surpreendentes nas tecnologias de sequenciamento e manipulação gênica, proporcionando, dessa forma, uma visão ampla das múltiplas alterações e mutações genéticas presentes nas neoplasias (GERLINGER apud GUERNET *et al.*, 2016). No entanto, mesmo que essas ferramentas sejam úteis para captar a complexidade genética e a variedade de um tumor ou mutação, ela não é capaz de recapitular experimentalmente a evolução do câncer através do surgimento de novas mutações. (GUERNET *et al.*, 2016).

4.2. A aplicação do CRISPR/Cas9 em associação com EGFR no câncer de pulmão

Segundo a American Cancer Society, em 2015, o câncer de pulmão (LCA) é o tipo mais comum entre os homens em todo o mundo, e é o líder relacionado à morte por câncer entre homens e mulheres (TANG *et al*, 2016). Além disso, de acordo com Sugita *et al* (2015), ele é responsável por aproximadamente 23% de todas as mortes relacionadas ao câncer no mundo, em particular, sendo o câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC) o responsável por cerca de nove em cada dez casos de todos os casos de câncer de pulmão.

Diante desse perfil epidemiológico das neoplasias de pulmão, a possibilidade de desenvolvimento de terapias gênicas seria ideal para prognósticos e tratamentos menos dolorosos e mais eficientes, assim como para reverter essa realidade. A partir disso, as terapias baseadas em CRISPR seriam utilizadas como uma alternativa às terapias com moléculas pequenas para inibir a atividade de tirosina cinase (TKI) do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), como gefitinibe (GEF) e erlotinibe. Terapias que tornaram-se uma terapia eficaz de escolha para pacientes com câncer de pulmão, proveniente de células CPNPC com mutação no EGFR (SUGITA *et al*, 2015).

O câncer de pulmão na maioria dos casos, é diagnosticado de maneira tardia, não sendo efetiva a utilização das principais terapias atuais. Como reforço disso, Sugita *et al* (2015), citam que apesar da resposta inicial aos EGFR-TKIs, a maioria dos pacientes desenvolve resistência, geralmente devido ao surgimento de uma mutação secundária, como a T790M, e eventualmente ocorrem recaídas. Em consequência desse fato, a sobrevivência mediana dos pacientes recidivados é de cinco a oito meses atualmente. E como fator agravante, existe uma grande limitação das terapias já existentes direcionadas ao câncer, já que é quase inevitável o desenvolvimento da resistência adquirida, pois tem-se como resultado o surgimento de uma subpopulação de células cancerígenas que se tornam insensíveis aos tratamentos utilizados (GUERNET *et al*, 2016).

Esses tumores se apresentam numa alta taxa proliferativa e com uma taxa menor de mutações, sendo assim, a terapia CRISPR / Cas9 se mostra efetiva como terapêutica. Sendo possível direcionar o alvo, de maneira a proporcionar seletividade tecidual, propiciando através do CRISPR uma condição de inibição, repressão, ativação, translocação, inversão ou duplicação gênica, através de alterações na atividade do tumor. No entanto, para os casos mais avançados essa tecnologia atua sobre o fator de crescimento epidérmico super expressado, reduzindo assim a taxa de proliferação, melhorando o prognóstico (SACHDEVA *et al.*, 2015).

Há registros da aplicação do CRISPR/Cas9 para confecção de códigos de barras de DNA específicos, na tentativa de recapitular e rastrear subpopulações de células cancerígenas, com o objetivo de se detectar os diferentes mecanismos de resistência celular do câncer de pulmão aos inibidores EGFR, assim como, para analisar os efeitos da ferramenta associada a fármacos e outras terapias. Além disso, a elucidação do código genético possibilita investigação de grande parte das modificações genéticas

e reparar as mutações oncogênicas. Sendo assim, corresponde a um método altamente flexível capaz de facilitar a investigação funcional de mutações e o seu posterior reparo. Este fato é extremamente importante na compreensão dos mecanismos patogênicos e no desenvolvimento de processos terapêuticos para as neoplasias de pulmão (GUERNET et al., 2016).

Pode-se citar também como uma das novas terapias que envolvem a utilização do CRISPR um experimento realizado por cientistas chineses, no qual o sangue do paciente foi analisado e foram selecionadas células do tipo linfócitos, as quais foram extraídas e geneticamente alterados através da tecnologia CRISPR, pois as mesmas são classificadas como células anti-tumorais. A partir desse manejo genético, foram removidos genes capazes de induzir a morte programada desta célula, sendo então desativados, consequentemente estendeu-se a sobrevivência. Essas células geneticamente modificadas foram implantadas novamente no paciente com o câncer de pulmão com o intuito de estabelecer uma super atividade do sistema imunológico no combate as células tumorais (CASTILLO A., 2016).

O direcionamento específico terapêutico utilizando a tecnologia CRISPR pode acontecer através de duas formas distintas. A terapia de nocaute de um oncogene é a mais eficiente até o momento, seu mecanismo é responsável por identificar nucleotídeos mutados de uma determinada oncogene e propiciar a sua destruição das células mutadas. Essa terapêutica é a forma mais importante e direcionada para o tratamento do câncer de pulmão, já que no dado estudo foram avaliadas respostas a diferentes mutações ocorridas. A resposta de morte celular direcionada por esta técnica nas células que possuíam essa mutação mostrou-se efetiva, tendo o potencial de se tornar uma eficaz de tratamento (CHEUNG *et al.*, 2018).

Já os usos da CRISPR como uma tecnologia para o reparo direcionado por homologia, é proposto que ocorra alteração no DNA dessa célula mutada para que ela perca a condição oncogênica. Porém, essa técnica só é viável durante a fase da divisão nuclear, que faz parte do processo mais longo de divisão celular. Assim, para o câncer de pulmão foi sugerido por Cheung e colaboradores (2018), que o uso da CRISPR para o nocaute de um oncogene se mostra mais eficiente (CHEUNG *et al.*, 2018).

De acordo com experimentos realizados, a eficiência da utilização do CRISPR-Cas9 no processo de manipulação genômica está voltada a capacidade dessa ferramenta de ser substrato para cirurgias moleculares personalizadas, as quais podem ser úteis na remoção, destruição ou correção de genes mutados ou com capacidade de mutação. Tendo em vista que, a patogênicidade de algumas neoplasias de pulmão envolve mutações no receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), é possível que a manipulação dessas mutações via CRISPR sejam prevenidas ou corrigidas, impedindo o desenvolvimento do câncer. Utilizada de forma associada com cirurgias tradicionais, terapia com radiação ou quimioterapia, o procedimento pode apresentar prognósticos eficientes no tratamento do câncer de pulmão envolvendo o EGFR (TANG *et al.*, 2016).

O fator de crescimento epidérmico (EGFR) está comumente ativo no câncer de pulmão, tendo em vista que ele é muito expresso nas superfícies celulares, e em

especial em células CPNPC, onde está presente em cerca de 40-80%. Além disso, este fator é indispensável para que se estabeleça o processo de proliferação celular tumoral. Nesse sentido, existe a possibilidade de uma denominada cirurgia no genoma, utilizando a tecnologia do mecanismo CRISPR / Cas9 dessas células mutadas, com o intuito de alterar o DNA de fita dupla através da introdução de um códon de parada, utilizando a técnica de reparo direcionado à homologia (HDR) ou utilização da união final não homóloga (NHEJ) (LEE *et al.*, 2019).

Essas técnicas têm como principal objetivo interromper ou diminuir a atividade desse fator, inativando e assim retardando o crescimento tumoral, bem como sua disseminação, que nessa patologia ocorre de forma rápida. Sendo assim, as técnicas baseadas em CRISPR para diminuir a expressão do EGFR são eficazes no quesito de diminuir a velocidade da progressão patológica, porém não estão associadas ao processo de cura. No entanto, ocorre uma melhora do prognóstico do paciente, consequentemente, a implantação dessa terapêutica mostra-se bastante eficiente (TANG *et al.*, 2016).

5. CONCLUSÃO

A utilização do CRISPR/Cas9 se apresenta como uma técnica terapêutica extremamente com grande potencial para o tratamento de Câncer de Pulmão, devido principalmente, a sua seletividade genômica nas células mutadas. Além disso, terapias baseadas em CRISPR podem ser utilizadas em conjunto com terapias farmacológicas, para gerar uma sobrevida aos pacientes acometidos e uma maior possibilidade de cura dessa patologia. Técnicas baseadas em CRISPR também podem ser utilizadas para o monitoramento das células do hospedeiro para que não evolua o quadro cancerígeno.

O uso de diferentes abordagens terapêuticas baseadas em CRISPR de para a correção de mutações, e principalmente para o nocaute de oncogenes propicia um melhor prognóstico para os pacientes acometidos com câncer de pulmão. A sua eficiência se dá, principalmente pelo fato do mesmo servir como substrato para cirurgias moleculares, alterando a atividade celular que levará um processo de apoptose das células mutadas.

REFERÊNCIAS

AREND, M.C.; PEREIRA, J.O.; MARKOSKI, M. M. O Sistema CRISPR / Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.108, n.1, p. 81-83, n.1, 2017, São Paulo. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2017000100081&lng=en&nrm=iso> . Acesso em: 14 de março de 2020. .

ALCANTARA, R. L. et al. A tecnologia de CRISPR-Cas9 na terapia gênica do câncer de pulmão. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 5, n. 13, p. 27-33, 2019, Disponível em: <https://rbmc.emnuvens.com.br/rbmc/article/view/25> . Acesso em 13 de março de 2020.

BRASILEIRO FILHO, G. Bogliolo patologia. **Guanabara Koogan**, 2018, 9 ed., Rio de Janeiro.

CASTILLO A., Gene editing using CRISPR-Cas9 for treatment of lung cancer. **Colomb Med (Cali)**, v. 47, n.4, p.178–180, 2016. Publicado em 30 de dezembro de 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28293040/>. Acesso em: 20 de abril de 2020.

CASTRIGNANO, S.B. Enzimas em biologia molecular. II. Sequenciamento genômico pelo método de Sanger: T7 DNA polimerase, Sequenase e Termo Sequenase. **Instituto Adolfo Lutz**, v. 27, n.2, p. 1-3, 2017, São Paulo. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfolutz/publicacoes/bial/bial_27/bial_27u_2017.pdf. Acesso em: 14 de março de 2020.

CHEUNG, A.H., Chow, C., Zhang, J., *et al.* Specific direction of point mutations in lung cancer EGFR L858R positive by CRISPR / Cas9. **Lab Invest**, v.98, n.7, p.968–976, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41374-018-0056-1>. Acesso em: 20 de abril de 2020.

CUNHA, P. L. P.; CUNHA, C. S., ALVES, P. F. **Manual de revisão bibliográfica integrativa: a pesquisa baseada em evidências**. Grupo Ânima Educação, Belo Horizonte, 2014.

GOLDMAN, L.; SHAFER, A. I **Goldman-Cecil Medicina**. Elsevier, 25 ed., 2018, Rio de Janeiro.

GUERNET *et al.*, CRISPR-Barcoding for Intratumor Genetic Heterogeneity Modeling and Functional Analysis of Oncogenic Driver Mutations. **Molecular Cell**, v.63, n.3, p. 526-538, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2016.06.017>. Acesso em: 22 de março de 2020.

GUAN, L.; HAN, Y.; ZHU, S., LIN, J. Application of CRISPR-Cas system in gene therapy: pre-clinical progress in animal model. **DNA Repair**, v.46, p. 1-8, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dnarep.2016.07.004>. Acesso em: 22 de abril de 2020.

Instituto Nacional de Câncer – INCA. **CÂNCER DE PULMÃO.**, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pulmao>. Acesso em: 14 março de 2020.

LEE, A. Y.; CHO, M. H.; KIM, S., Recent advances in aerosol gene delivery systems using non-viral vectors for lung cancer therapy. **Expert opinion on drug delivery**, v.16, n.7 p.757–772, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1641083>. Acesso em: 22 de abril de 2020.

SACHDEVA, M.; SACHDEVA, N.; PAL, M. *et al.* CRISPR / Cas9: molecular tool for gene therapy directed to the genome and epigenome in the treatment of lung

cancer. **Cancer Gene Ther**, v.22, n.11, p.509-517, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/cgt.2015.54> . Acesso em: 22 de abril de 2020.

SUGITA *et al.*, EGFR-independent autophagy induction with gefitinib and enhancement of its cytotoxic effect by targeting autophagy with clarithromycin in non-small cell lung cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.461, n.1, p.28-34, 2015. Disponível em : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X15006300?via%3Dihub#cebib0010>. Acesso em: 22 de abril de 2020.

TANG, H.; SHRAGER, J.B. CRISPR / Cas-mediated genome editing to treat EGFR mutant lung cancer: personalized molecular surgical therapy. **EMBO Mol Med** .;v.8, n. 2 p.83–85, 2016. Disponível em: doi: 10.15252 / emmm.201506006 Acesso em : 20 de abril de 2020.

ZHANG, P. *et al.* Genomic sequencing and editing revealed the grm8 signaling pathway as potential therapeutic targets of squamous cell lung cancer. **Cancer Letters**, v.442, p. 53-67, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383518306505?via%3Dihub> . Acesso em : 20 de abril de 2020.

Data do recebimento: 16 de Novembro de 2022

Data da avaliação: 22 de Janeiro 2023

Data de aceite: 9 de Março de 2023

1 Acadêmico do Curso de Medicina / Centro Universitário Tiradentes / AL. Acadêmico de Medicina do Centro Universitário Tiradentes UNIT-AL. Maceió-AL, Brasil.

2 Acadêmico do Curso de Medicina / Centro Universitário Tiradentes / AL. Maceió-AL, Brasil.

3 Acadêmico de medicina do centro universitário tiradentes, UNIT-AL. Maceió-AL, Brasil.

4 Acadêmico de medicina do centro universitário tiradentes, UNIT-AL. Maceió-AL, Brasil.

5 Docente Titular I do Curso de Medicina / Centro Universitário Tiradentes / AL. Maceió- Brasil.