A Aplicação da técnica CRISPR-Cas9 na Doença de Huntington

Autor(res)

Thalita Frutuoso Lobo
Mariana Nascimento Do Vale

Categoria do Trabalho

TCC

Instituição

CENTRO UNIVERSITÁRIO ANHANGUERA

Introdução

A Doença de Huntington (DH) é uma enfermidade neurodegenerativa hereditária, autossômica dominante, marcada por sintomas motores, cognitivos e psiquiátricos progressivos. Esses sinais decorrem da degeneração dos gânglios da base, estruturas cerebrais profundas responsáveis pelo controle do movimento, funções cognitivas e emocionais, levando à perda funcional progressiva e, eventualmente, à morte (Paiva et al., 2022).

Com prevalência de cerca de 4 a cada 100.000 pessoas no mundo (Medina et al., 2022), a DH é causada por uma mutação no gene HTT, no cromossomo 4, que provoca a expansão anormal do trinucleotídeo CAG. Essa mutação gera a huntingtina mutante, que se acumula nos neurônios e compromete funções celulares essenciais, como o transporte de glutamato.

A doença afeta indivíduos de qualquer gênero, etnia ou origem e costuma se manifestar entre os 35 e 50 anos. O diagnóstico é feito por meio de histórico familiar e testes genéticos (Karlina et al., 2024). Além do impacto no paciente, a DH sobrecarrega emocional e fisicamente os cuidadores — muitas vezes familiares —, agravando-se pela falta de suporte e serviços especializados (Silva et al., 2015). Os altos custos com medicamentos, terapias e adaptações, somados à perda de autonomia e à ausência de cura, favorecem quadros de depressão, ansiedade e apatia (Van der Laan, 2024; Alkani et al., 2022).

Diante disso, a edição gênica com a tecnologia CRISPR-Cas9 surge como uma estratégia promissora. Essa técnica utiliza enzimas guiadas por RNA para realizar cortes específicos no DNA, possibilitando a inativação do alelo mutante ou a correção da repetição CAG no gene HTT (Paul e Montoya, 2020; Qin et al., 2022).

Objetivo

Este artigo tem como objetivo explorar a aplicação da técnica CRISPR-Cas9 como intervenção terapêutica na Doença de Huntington. Serão apresentados os mecanismos fisiopatológicos da DH, a descrição da técnica CRISPR e uma discussão dos avanços, desafios e perspectivas futuras da pesquisa pré-clínica e clínica no desenvolvimento de terapias inovadoras.

Material e Métodos

Este estudo se caracteriza como uma revisão bibliográfica, com abordagem qualitativa e descritiva, na qual as informações utilizadas foram provenientes das seguintes bases de dados: PubMed, Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), LILACS,
3
SciELO e EMBASE. A busca foi realizada através das palavras-chave “Huntington”, “CRISPR”, “CRISPR/Cas9”, “Editing tools” e “Terapia Gênica”, em diferentes combinações para refinar os resultados.
Após a busca inicial, os artigos foram selecionados em duas etapas: primeiramente, realizou-se uma triagem baseada na leitura dos títulos e resumos para identificar estudos potencialmente relevantes que abordassem a Doença de Huntington e/ou a técnica CRISPR-Cas9. Posteriormente, os textos completos dos artigos selecionados foram lidos na íntegra para confirmar sua pertinência e adequação ao objetivo do estudo, que é analisar o potencial terapêutico da técnica CRISPR-Cas9 para a DH.
Foram incluídos artigos científicos originais e de revisão, bem como capítulos de livros, publicados nos últimos 10 anos, nos idiomas português e inglês, que discorressem sobre a fisiopatologia da DH, o mecanismo da CRISPR-Cas9 e, principalmente, suas aplicações ou potencial como terapia para doenças genéticas, com foco ou relevância para a DH. Foram excluídas publicações que tratavam de assuntos tangenciais ou sem foco terapêutico direto na DH ou doenças genéticas relacionadas, bem como artigos dos quais não foi possível obter o texto completo.
As informações relevantes dos materiais selecionados foram extraídas, organizadas por temas (fisiopatologia, mecanismo CRISPR, aplicações terapêuticas, desafios, etc.) e sintetizadas de forma narrativa para compor a base teórica e a discussão deste trabalho.

Resultados e Discussão

A Doença de Huntington (DH) é genética, autossômica dominante, ligada ao gene HTT no cromossomo 4. A mutação decorre da expansão das repetições CAG, produzindo huntingtina anômala que interfere em funções celulares. Indivíduos saudáveis possuem 10–29 repetições; portadores, 36–121 (Karlina et al., 2024). A anamnese pode levantar suspeita, mas o diagnóstico exige teste genético por contagem de repetições CAG em eletroforese (Paiva et al., 2022).

A huntingtina mutada prejudica o transporte de glutamato (GLT-1, GLAST), causando excitotoxicidade. O glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC, regula plasticidade, aprendizado e memória, sendo reciclado no ciclo glutamato/glutamina. Na DH, falha nesse ciclo leva a acúmulo sináptico, hiperativação de receptores NMDA/AMPA, excesso de cálcio, radicais livres e apoptose, especialmente no estriado (Weber; Backes, 2016).

Clinicamente, a DH afeta os gânglios da base e se manifesta em três esferas: motores (coreia, distonia, bradicinesia, disfagia), cognitivos (perda de memória, envelhecimento mental precoce) e psiquiátricos (ansiedade, depressão, apatia). O início ocorre geralmente entre 30–40 anos, mas pode ser precoce. A evolução leva à incapacidade grave e morte, com sobrevida média de 10–25 anos. O tratamento atual é apenas sintomático,

envolvendo fármacos e terapias de suporte (Alkani et al., 2022).

A busca por terapias causais tem colocado a edição gênica como alternativa promissora. A técnica CRISPR, descoberta a partir de estudos de Ishino em 1987 e consolidada em 2002 como um sistema imune bacteriano baseado em repetições e genes Cas, permite cortes específicos no DNA. O sistema passa por três etapas: adaptação, biogênese de crRNA e ação contra invasores. O tipo II, mediado pela Cas9, tornou-se a principal ferramenta de edição. Em 2012, Doudna e Charpentier demonstraram seu uso como editor genômico, recebendo o Nobel de Química em 2020 (Ayala et al., 2023).

Desde 2013, estudos em eucariotos mostraram que a Cas9 induz quebras de fita dupla (DSBs), reparadas por junção de extremidades não homólogas (NHEJ), que gera mutações por inserção ou deleção de nucleotídeos (Indels) e inativa genes, ou por recombinação homóloga (HDR), que permite correções precisas (Mendes et al., 2024). Aplicações pré-clínicas obtiveram resultados na distrofia muscular de Duchenne e na tirosinemia. Em humanos, células T editadas já foram testadas em câncer hematológico com boa resposta (Stadtmauer et al., 2020).

Na DH, a CRISPR pode corrigir a expansão CAG ou inativar o gene mutado. Dabrowska et al. (2018) mostraram remoção dessas repetições em fibroblastos, reduzindo huntingtina defeituosa. Ekman et al. (2019) usaram knockout em camundongos R6/2, melhorando sobrevida e função motora. Ainda assim, permanecem desafios: entrega ao SNC, risco de off-target, imunogenicidade da Cas9 e efeitos a longo prazo (Salomonsson; Clelland, 2024; Kim et al., 2024).

Além da técnica, existem dilemas éticos. Alterações somáticas são aceitáveis, mas edições germinativas, por serem herdáveis, levantam temores de eugenia e “bebês designer”. Os riscos de edições imprecisas e a complexidade dos neurônios de longa duração reforçam a necessidade de cautela, normas rígidas e debate público (Gyngell et al., 2017; Gostimskaya, 2022).

Assim, a CRISPR-Cas9 representa avanço promissor contra a DH, mas exige validação clínica, soluções seguras de entrega e reflexão ética para aplicação responsável.

Conclusão

A Doença de Huntington é um desafio terapêutico, e o CRISPR-Cas9 surge como alternativa promissora ao corrigir a expansão CAG ou inativar o alelo mutante. Para aplicação clínica, é preciso superar barreiras como entrega segura ao SNC e precisão da edição, evitando efeitos fora do alvo. Além de avanços técnicos, será essencial acompanhamento prolongado e colaboração entre cientistas, médicos e bioeticistas, apoiados por normas claras, para transformar o CRISPR em terapia viável.

Referências

Alkanli SS, 2022. CRISPR/Cas9 Therapeutic Approach in Huntington’s Disease.
Ayala MA, 2023. Editing the Human Genome with CRISPR/Cas.
Balbino TCL, 2016. Introdução à técnica de CRISPR.
Dabrowska M, 2018. Precise Excision of the CAG Tract by Cas9 Nickases.
Ekman FK, 2019. CRISPR-Cas9 Improves Lifespan and Motor Deficits in HD Mouse Model.

Gostimskaya I, 2022. CRISPR-Cas9: Discovery and Ethical Considerations.
Gyngell C, 2017. The Ethics of Germline Gene Editing.
Karlina I, 2024. Overview of Neurodegenerative Diseases: Huntington, Alzheimer, Parkinson.
Khan T, 2024. Avoiding Gene Editing's Unintended Consequences.
Kim M, 2024. Advances in Nanoparticles as Non-Viral Vectors for CRISPR/Cas9.
Medina A, 2022. Prevalence and Incidence of Huntington's Disease.
Mehta A, 2019. Immunogenicity of Cas9 Protein.
Mendes LMC, 2024. Edição de genes CRISPR-Cas9: revisão.
Paiva DPL, 2022. Características Gerais da Doença de Huntington.
Paul B, 2020. CRISPR-Cas12a: Functional overview and applications.
Qin Y, 2022. CRISPR-Based Genome-Editing Tools for Huntington's Disease.
Salomonsson SE, 2024. Building CRISPR Gene Therapies for CNS.
Silva CS, 2015. Comportamento, competência social e qualidade de vida na DH.
Stadtmauer EA, 2020. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer.
Van der Laan AS, 2024. Utilização e custos de saúde associados a DH.
Wang S, 2025. Progress in AAV-Mediated In Vivo Gene Therapy.
Weber AV, 2016. Excitotoxicidade Glutamatérgica na Doença de Huntington.