

 <https://doi.org/10.56344/2675-4827.v4n3a2023.20>

## **CRISPR/Cas9 como ferramenta para o reconhecimento de novas estratégias terapêuticas para o glioblastoma**

### **CRISPR/Cas9 as a tool for the recognition of new therapeutic strategies for glioblastoma**

Laura Ramos Durigan<sup>1</sup>, Laura de Oliveira Teixeira<sup>1</sup>, Maria Laura de Castro Davi<sup>1</sup>, Paula Altieri Pin<sup>1</sup>, Thálita Cristina de Sousa Beine<sup>1</sup>, Cristiane Tefé-Silva<sup>2</sup>

#### **INTRODUÇÃO**

O glioblastoma (GBM) é um tumor neuroepitelial astrocítico de grau IV, sendo considerado maligno e o mais frequente do sistema nervoso central, tendo uma incidência de 3,21 casos a cada 100.000 habitantes e apresenta como característica diferencial a presença de necrose. Esse astrocitoma apresenta um prognóstico desanimador com sobrevida de 1 ano e 6 meses (THAKKAR *et al.*, 2022) devido, além da complexidade do próprio tumor, a limitação das estratégias terapêuticas existentes (FILHO *et al.*, 2021). A quimioterapia não apresenta resultados efetivos sobre a progressão da doença e a maioria dos pacientes submetidos aos outros tratamentos preconizados, radioterapia e cirurgia, apresenta recidiva na forma de um novo tumor ou de implantes em espaço subaracnóide e ventrículos (FILHO *et al.*, 2021). Uma possibilidade em estudo para o tratamento é a tecnologia de edição genética por Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Inter-Espaçadas (CRISPR), que estão presentes no DNA de bacteriófagos, atuando na correção de erros no genoma por meio da ativação ou desativação de genes nas células, podendo

---

<sup>1</sup> Acadêmicas do curso de Medicina do Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, São Paulo. Contato: laladurigan@gmail.com

<sup>2</sup> Docente do curso de Medicina do Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, São Paulo. Contato: cristiane.silva@baraodemaua.br

ser este um meio ágil e economicamente viável (HAEUSSLER *et al.*, 2016) ( DEVEAU *et al.*, 2010).

## OBJETIVO

O estudo objetivou avaliar a tecnologia de edição genética CRISPR/Cas9 como um método para manipular genes que estão associados à progressão e regressão tumoral.

## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de revisão de literatura, realizado nas bases de dados PUBMED - NCBI (National Library of Medicine), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Bireme Library (Biblioteca Virtual em Saúde, LILACS) através das quais foram incluídos para análise qualitativa 17 artigos.

## DISCUSSÃO

A CRISPR/Cas9 é uma tecnologia de edição gênica que apresenta dois componentes principais: RNA de guia único (RNAgu) e nuclease Cas9. Ocorre a quebra da fita dupla pela nuclease Cas9 de uma sequência específica, a qual é guiada pelo RNAgu, e essa quebra vai ser amparada pelo mecanismo de reparo de junção de extremidades não homólogas propenso a erros, o que pode ocasionar em inserções ou deleções, responsáveis por romper os genes (ROSENBLUM *et al.*, 2020).

Em relação ao tratamento de neoplasias, o CRISPR-Cas9 pode ser utilizada *in vitro* e *in vivo* para identificar mecanismos de resistência à quimioterapia, oncogenes e novos biomarcadores, além de modificar genes para que tenham uma maior responsividade à terapia (AL-SAMMARRAIE *et al.*, 2021).

Nesse contexto, tal ferramenta já foi utilizada para elucidar diversos mecanismos envolvidos no desenvolvimento do GBM e assim identificar novas terapias. Dentre os estudos que avaliaram genes que atuam no processo de

transcrição, notou-se que o gene PAX-6, ao ser inibido, beneficiou a progressão do tumor e esse pode ser entendido como um supressor do tumor, assim como o gene que codifica o Receptor de Hidrocarboneto Aril (AhR), que ao ser inibido propiciou a proliferação e invasão de células tumorais em outros tecidos (HEGGE *et al.*, 2018). Em contrapartida, quando o gene Dazl foi inativado, as células se proliferaram em menor quantidade (ZHANG *et al.*, 2020). Paralelamente, a mutação no microRNA-10b (MiR-10b), que o levou a perder sua função, foi capaz de diminuir a vitalidade de células tumorais (EL FATIMY *et al.*, 2017). Outra modificação produzida por edição gênica que resultou em perda de função foi a do gene PKMYT1, a qual provocou o aumento da morte celular durante a mitose e pode estar relacionado com a menor proliferação de células tumorais (TOLEDO *et al.*, 2015). Ademais, o bloqueio do fator de transcrição TWIST1 (TW) diminuiu a invasão da neoplasia em outros tecidos e estava diretamente relacionado com aumento de sobrevivência no grupo de animais que recebeu tal mutação em comparação ao controle (MIKHEEV *et al.*, 2018). Em um estudo, identificou-se que o fator 3 SR funciona como um contribuinte para a tumorigênese do GBM, uma vez que ao ser silenciado pela técnica CRISPR/Casp9 houve inibição da viabilidade e autorrenovação das células tumorais, o que limitou o crescimento da massa tumoral (SONG *et al.*, 2019). Assim, essa técnica permite avaliar quais genes, ao serem inibidos ou superexpressos, promovem efeitos positivos ou negativos no desenvolvimento da doença.

Em uma outra perspectiva, utilizou-se a técnica para aumentar a sensibilidade do tumor em terapias já utilizadas, sobretudo com a quimioterapia com Temozolomida (TMZ). A proteína O6-Metilguanina-DNA Metiltransferase (MGMT) limita a eficácia terapêutica da TMZ uma vez que atua na Barreira Hematoencefálica (BHE) e se contrapõe ao efeito produzido pela droga, sendo responsável por gerar uma quimiorresistência. Assim, ao inibir a MGMT, houve aumento da sensibilidade do tumor ao tratamento com TMZ (YANG *et al.*, 2021).

O gene CARHPS1 atua na resistência à radiação por meio da ativação do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que por sua vez é um mediador inflamatório associado à progressão do tumor. Desta forma, em um estudo no qual o gene foi inibido, houve melhora da resposta à radioterapia, uma vez que não ocorreu ativação do TNF- $\alpha$  (ZHU *et al.*, 2022).

## CONCLUSÃO

Diante do exposto, a tecnologia do CRISPR/Cas9 é uma ferramenta que pode modular genes envolvidos na tumorigênese do glioblastoma e, a partir disso, identificar possíveis alvos terapêuticos. Porém, ressalta-se a necessidade de estudos clínicos que avaliem se a modulação gênica é realmente capaz de controlar a evolução desse tumor agressivo, uma vez que foram avaliados estudos experimentais, *in vitro* e *in vivo*.

**Palavras-chave:** Proteína 9 Associada à CRISPR; Edição de Genes; Terapia Genética; Glioblastoma.

**Conflitos de interesse:** Os autores não têm conflito de interesse a divulgar.

## REFERÊNCIAS

THAKKAR, J.P.; PERUZZ, P.P.; PRABHU, V. C. **Glioblastoma Multiforme – Symptoms, Diagnosis and Treatment Options**. [s. l.], 2022. Disponível em: <<https://www.aans.org/en/Patients/Neurosurgical-Conditions-and-Treatments/Glioblastoma-Multiforme>>. Acesso em: 8 mar. 2022.

FILHO, G. B. Bogliolo - **Patologia**. 10. ed. [S. l.]: Guanabara Koogan, 2021.

HAEUSSLER, M.; CONCORDET, J. P. Genome Editing with CRISPR-Cas9: Can It Get Any Better? [s.l.] **Elsevier Ltd**, 2016. v. 43. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1673852716300443?via%3DIHUB>>. Acesso em 11 de fev. 2022.

DEVEAU, H.; GARNEAU, J. E.; MOINEAU, S. CRISPR/Cas system and its role in phage-bacteria interactions. **Annual Review of Microbiology**, v. 64, p. 475–493, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20528693/>>. Acesso em: 16 fev. 2022.

ROSENBLUM, D. et al. CRISPR-Cas9 genome editing using targeted lipid nanoparticles for cancer therapy. **Science Advances**, v. 6, n. 47, 2020. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.abc9450>>. Acesso em: 17 fev. 2022.

AL-SAMMARRAIE, Nadia; RAY, Swapan K.. Applications of CRISPR-Cas9 Technology to Genome Editing in Glioblastoma Multiforme. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 2342, 7 set. 2021. MDPI AG. <<http://dx.doi.org/10.3390/cells10092342>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

HEGGE, B.; SJØTTEM, E.; MIKKOLA, I. Generation of a PAX6 knockout glioblastoma cell line with changes in cell cycle distribution and sensitivity to oxidative stress. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1–19, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29716531/>>. Acesso em: 16 fev. 2022.

ZHANG, F. et al. Suppressing Dazl modulates tumorigenicity and stemness in human glioblastoma cells. **BMC Cancer**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 2020. Disponível em: <<https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-020-07155-y>>. Acesso em: 8 mar. 2022.

EL FATIMY, R. et al. Genome Editing Reveals Glioblastoma Addiction to MicroRNA-10b. **Molecular Therapy**, v. 25, n. 2, p. 368–378, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5368404/>>. Acesso em: 16 fev. 2022.

TOLEDO, C. M. et al. Genome-wide CRISPR-Cas9 Screens Reveal Loss of Redundancy between PKMYT1 and WEE1 in Glioblastoma Stem-like Cells. **Cell Reports**, v. 13, n. 11, p. 2425–2439, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124715013212>>. Acesso em: 7 mar. 2022.

MIKHEEV, A. M. et al. Targeting TWIST1 through loss of function inhibits tumorigenicity of human glioblastoma. **Molecular Oncology**, v. 12, n. 7, p. 1188–1202, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29754406/>>. Acesso em: 16 fev. 2022

SONG, X. et al. SRSF3-regulated RNA alternative splicing promotes glioblastoma tumorigenicity by affecting multiple cellular processes. **Cancer Research**, v. 79, n. 20, p. 5288–5301, 2019. Disponível em: <<https://aacrjournals.org/cancerres/article/79/20/5288/638849/SRSF3-Regulated-RNA-Alternative-Splicing-Promotes>>. Acesso em: 8 mar. 2022.

YANG, Q. et al. Gene therapy for drug-resistant glioblastoma via lipid-polymer hybrid nanoparticles combined with focused ultrasound. **International Journal of Nanomedicine**, v. 16, p. 185–199, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33447034/>>. Acesso em: 17 fev. 2022.

ZHU, G. DONG et al. Genome-wide CRISPR/Cas9 screening identifies CARHSP1 responsible for radiation resistance in glioblastoma. **Cell Death and Disease**, v. 12, n. 8, p. 1–9, 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41419-021-04000-3>>. Acesso em: 8 mar. 2022.