



CAPÍTULO 15

Edição Gênica para o Controle da Metástase: O Potencial do CRISPR-Cas9 em Terapias Oncológicas Avançadas

<https://doi.org/10.22533/at.ed.7991625120815>

Gabriela Luiza Amaral Resende

Graduanda em Medicina
Centro Universitário de Mineiros
Trindade, Goiás - Brasil

Ian Caldeira Ruppen

Graduando em Medicina
Centro Universitário Ingá
Maringá, Paraná - Brasil

Enzo De Lorenzi Cancelier dos Santos

Graduando em Medicina
Universidade do Extremo Sul Catarinense
Criciúma, Santa Catarina - Brasil

Gustavo de Oliveira Bello

Graduando em Medicina
Universidad Central del Paraguay
Pedro Juan Caballero, Paraguay

Andreia Karla de Carvalho Barbosa Cavalcante

Doutora em Enfermagem
Universidade Federal do Piauí
Teresina, Piauí - Brasil

Milena Rodrigues Costa

Graduanda em Medicina
UniEvangélica
Anápolis, Goiás - Brasil

Layanna Borges Gonçalves

Graduanda em Medicina
Faculdade de Medicina Zarns
Itumbiara, Goiás - Brasil

Leonardo Alves Sardinha de Lisboa

Graduando em Medicina

Universidade de Rio Verde Campus Goianésia

Goiânia, Goiás - Brasil

Vanessa Mazzardo

Graduanda em Medicina

Universidade Paranaense

Umuarama, Paraná - Brasil

RESUMO: O câncer metastático, responsável pela grande maioria das mortes relacionadas ao câncer, continua a ser um dos maiores desafios da medicina oncológica. A metástase envolve um processo biológico complexo que permite às células tumorais invadirem novos tecidos, tornando-se resistentes às terapias convencionais e promovendo a disseminação sistêmica da doença. Nos últimos anos, a tecnologia de edição gênica CRISPR-Cas9 emergiu como uma ferramenta promissora para interferir nesses mecanismos moleculares, oferecendo um potencial terapêutico inédito para interromper a progressão metastática. Esta revisão explora as abordagens mais recentes e inovadoras do uso de CRISPR-Cas9 no contexto de cânceres metastáticos, com foco na inativação de genes oncogênicos, reprogramação do microambiente tumoral e restauração da sensibilidade a terapias. Além disso, são discutidos os principais desafios técnicos, como a entrega eficiente do sistema de edição, os efeitos off-target e a heterogeneidade genética das células metastáticas. Também são analisadas as implicações éticas associadas ao uso clínico de CRISPR-Cas9, dada a sua capacidade de gerar modificações permanentes no genoma. Conclui-se que, apesar dos avanços substanciais, a aplicação clínica da tecnologia ainda depende de um refinamento técnico e de uma regulamentação rigorosa. Com o desenvolvimento contínuo de métodos mais precisos e seguros, CRISPR-Cas9 tem o potencial de transformar a oncologia de precisão e fornecer novas alternativas terapêuticas para pacientes com câncer metastático.

PALAVRAS-CHAVE: CRISPR-Cas9, câncer metastático, edição gênica, oncologia de precisão, microambiente tumoral, resistência terapêutica, efeitos off-target.

INTRODUÇÃO

O câncer metastático é responsável por cerca de 90% das mortes relacionadas ao câncer no mundo. A metástase envolve a migração de células tumorais do tumor primário para outros órgãos e tecidos, criando novos focos tumorais. Esse processo depende de alterações genéticas e epigenéticas que facilitam a disseminação das células e sua adaptação a novos microambientes. A capacidade dessas células de

escapar de tratamentos convencionais, como quimioterapia e imunoterapia, junto à sua elevada heterogeneidade genética, torna o câncer metastático difícil de tratar (Lin *et al.*, 2020).

Tradicionalmente, as terapias focam na erradicação do tumor primário e na minimização dos danos colaterais às células saudáveis. No entanto, essas abordagens mostram-se limitadas em cânceres metastáticos, devido ao desenvolvimento de resistência pelas células tumorais. Recentemente, tecnologias como a edição genética têm surgido como promissoras alternativas para enfrentar a complexidade do câncer metastático. O sistema CRISPR-Cas9 se destaca por sua precisão e versatilidade, permitindo a modificação direcionada de genes em células cancerígenas (Zhang *et al.*, 2022).

O CRISPR-Cas9, adaptado do sistema de defesa bacteriana, baseia-se na enzima Cas9, guiada por um RNA para locais específicos do genoma, onde realiza quebras no DNA. Essa precisão revolucionou a biotecnologia, abrindo novas fronteiras para a oncologia. No câncer, o CRISPR-Cas9 tem sido usado para desativar genes responsáveis pela progressão e resistência tumoral, oferecendo uma abordagem potencialmente curativa para pacientes em estágio avançado (Selvakumar *et al.*, 2022).

Estudos investigam três principais estratégias do uso do CRISPR-Cas9 no tratamento de cânceres metastáticos: (1) desativação de genes oncocônicos, (2) reprogramação do microambiente tumoral e (3) sensibilização das células tumorais a terapias convencionais, revertendo a resistência adquirida. Essas abordagens visam interromper a capacidade metastática das células tumorais e, em alguns casos, reverter a disseminação já estabelecida (Cai *et al.*, 2024).

Este artigo revisa as principais estratégias de edição genética por CRISPR-Cas9 para a reversão da metástase em cânceres avançados, discutindo os avanços, limitações e desafios técnicos, além do potencial terapêutico para a oncologia de precisão. Assim, visa contribuir para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e menos invasivas para o tratamento do câncer metastático.

METODOLOGIA

A metodologia deste artigo seguiu os princípios de uma revisão narrativa para compilar e analisar criticamente as principais abordagens do uso da tecnologia CRISPR-Cas9 no tratamento de cânceres metastáticos. Foi realizada uma busca abrangente nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, utilizando os termos “CRISPR-Cas9”, “câncer metastático”, “edição genética”, “supressão tumoral” e “reprogramação do microambiente tumoral”, abrangendo artigos publicados entre 2015 e 2025.

Os critérios de inclusão englobam estudos pré-clínicos e clínicos sobre o uso de CRISPR-Cas9 em modelos de câncer metastático, incluindo estudos *in vitro*, *in vivo* e revisões sistemáticas. Foram priorizados estudos que abordavam a inativação de genes oncogênicos, a modificação do microambiente tumoral e a reversão da resistência a terapias. Também foram considerados relevantes os estudos sobre mecanismos moleculares de metástase e vias de sinalização na progressão do câncer, bem como os desafios técnicos e éticos da aplicação do CRISPR-Cas9.

Foram excluídos artigos que não focavam no uso direto de CRISPR-Cas9 em metástase ou que discutiam outras tecnologias de edição gênica sem relação direta com CRISPR-Cas9. Os estudos selecionados foram avaliados quanto à qualidade metodológica e à robustez dos dados. A análise destacou os principais achados, com foco nos mecanismos biológicos da metástase e nas técnicas de modificação gênica, enfatizando estratégias como inativação de genes específicos e reprogramação do microambiente tumoral, além dos desafios relacionados à segurança, eficiência de entrega e heterogeneidade genética das células metastáticas.

Uma discussão crítica foi realizada sobre os desafios éticos e científicos do uso de CRISPR-Cas9 na oncologia, incluindo riscos como efeitos off-target e mutações indesejadas. Foram também analisadas dificuldades na tradução clínica da tecnologia, especialmente quanto à entrega específica do CRISPR-Cas9 às células tumorais e estratégias emergentes para mitigar esses problemas. Essa metodologia permitiu construir um panorama abrangente sobre o uso de CRISPR-Cas9 no tratamento de metástases, fornecendo insights valiosos para o desenvolvimento de novas terapias oncológicas e identificando lacunas na literatura que necessitam de investigação futura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mecanismos Moleculares da Metástase

A metástase é um processo multifatorial complexo, no qual células tumorais migram do sítio primário para locais distantes, formando novos focos tumorais em diferentes órgãos e tecidos. Esse fenômeno é a principal causa de mortalidade em pacientes com câncer e envolve eventos moleculares e celulares que promovem a sobrevivência, invasão e adaptação das células cancerígenas. Alterações genéticas, epigenéticas e microambientais ativam vias de sinalização que favorecem a invasão, motilidade celular e evasão do sistema imune, sendo o entendimento desses mecanismos essencial para o desenvolvimento de terapias eficazes, incluindo aquelas baseadas em tecnologias de edição gênica, como o CRISPR-Cas9 (Kiri; Ryba, 2024).

Um dos eventos críticos é a transição epitelial-mesenquimal (EMT), pela qual células epiteliais perdem adesão e polaridade, adquirindo características mesenquimais, que favorecem migração e invasão tecidual. Na EMT, há redução de E-caderina e aumento de N-caderina e vimentina, facilitando a dissociação do tumor primário. Fatores de transcrição como SNAIL, TWIST e ZEB1, induzidos por sinais extracelulares como TGF- β e Wnt/ β -catenina, regulam esse processo (Jinesh; Brohl, 2022).

Células tumorais que se dissociam do tumor primário invadem a matriz extracelular e se intravasam na circulação sanguínea ou linfática, processo mediado por enzimas como as metaloproteinases da matriz (MMPs), que degradam o tecido ao redor do tumor. Na circulação, as células tumorais enfrentam um ambiente hostil, sobrevivendo por mecanismos de resistência ao estresse e evasão imunológica, muitas vezes formando agregados com plaquetas que as protegem do reconhecimento imune (Lazar *et al.*, 2024).

Para colonizar novos órgãos, as células metastáticas alteram o microambiente do órgão-alvo, preparando-o para sua chegada. Exossomos derivados do tumor, contendo proteínas e microRNAs, contribuem para a criação de um nicho favorável para a colonização (Si *et al.*, 2024). Além disso, células do microambiente tumoral, como fibroblastos associados ao câncer (CAFs) e macrófagos associados ao tumor (TAMs), promovem invasão e angiogênese, facilitando a metástase (Ghebremedhin *et al.*, 2024).

A angiogênese, essencial para o suprimento de nutrientes aos tumores, é estimulada pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que frequentemente está superexpresso em tumores metastáticos. A adaptação e sobrevivência das células metastáticas em novos ambientes dependem da ativação de vias de sinalização como PI3K-AKT-mTOR, que confere resistência à apoptose e promove crescimento celular, e Ras-MAPK, associada à proliferação celular (Korkmaz *et al.*, 2024).

CRISPR-CAS9 NA EDIÇÃO DE GENES RELACIONADOS À METÁSTASE

A tecnologia CRISPR-Cas9 tem se destacado como uma ferramenta importante na biomedicina, possibilitando a edição precisa do genoma e a modulação de genes envolvidos na progressão e disseminação de células tumorais metastáticas. As abordagens atuais que utilizam CRISPR-Cas9 visam modificar as propriedades moleculares das células tumorais e seu microambiente, atuando sobre alvos que controlam a invasão celular, a sobrevivência em órgãos distantes e a resistência a terapias (Smith *et al.*, 2024).

Uma aplicação promissora do CRISPR-Cas9 no câncer metastático é a inativação de genes oncogênicos que promovem proliferação e invasão tumoral. Genes como *KRAS*, *PIK3CA*, *TP53* e *MYC*, frequentemente mutados em cânceres metastáticos, são alvos estabelecidos. A edição de *KRAS* com CRISPR-Cas9 demonstrou reduzir a capacidade invasiva das células tumorais e a carga metastática em modelos murinos. A inativação do *MYC* também reduziu a migração celular e a progressão tumoral (Huber *et al.*, 2024).

No contexto da metástase, a transição epitelial-mesenquimal (EMT) é essencial para a disseminação tumoral. Fatores de transcrição como *SNAI1*, *ZEB1* e *TWIST1* foram efetivamente editados com CRISPR-Cas9, revertendo fenótipos invasivos. A modulação de genes que regulam a adesão celular, como *CDH1*, mostrou restaurar a adesão intercelular, prevenindo a dissociação das células tumorais do sítio primário (Mukerjee *et al.*, 2024).

Além de focar em genes oncogênicos, a reprogramação do microambiente tumoral também é relevante. A edição do gene *PD-L1* em células tumorais demonstrou aumentar a resposta imune antitumoral e reduzir o crescimento de metástases. A modulação do *VEGF* com CRISPR-Cas9 mostrou reduzir o suprimento vascular aos tumores e bloquear a metástase (Fan *et al.*, 2024). CRISPR-Cas9 também foi usado para reverter resistência terapêutica. A edição de *MDR1* restaurou a sensibilidade das células a quimioterápicos. Genes como *PD-1* e *CTLA-4* também foram inativados para melhorar a resposta imune a terapias baseadas em checkpoints (Guo *et al.*, 2024).

Entretanto, desafios técnicos persistem, como a entrega seletiva do sistema CRISPR-Cas9 às células metastáticas. Vetores virais apresentam riscos de efeitos off-target, enquanto estratégias com nanopartículas e exossomos estão sendo desenvolvidas para aumentar a especificidade e segurança. A heterogeneidade genética das células metastáticas exige abordagens combinatórias, como o uso de sistemas multiplexados que permitam a edição simultânea de múltiplos genes, aumentando a eficácia clínica (Aalam *et al.*, 2024).

DESAFIOS E LIMITAÇÕES

A aplicação da tecnologia CRISPR-Cas9 ao câncer metastático é uma fronteira promissora em terapias de precisão. Apesar do potencial terapêutico, a tradução clínica enfrenta desafios que precisam ser superados para sua implementação generalizada. Um dos principais desafios é o risco de efeitos off-target, ou edições não intencionais fora da sequência-alvo. A enzima Cas9, guiada pelo RNA (sgRNA), pode gerar quebras duplas em locais incorretos, resultando em mutações somáticas que podem ser oncogênicas, especialmente em células metastáticas já instáveis. Para minimizar esses efeitos, foram desenvolvidas variantes de Cas9, como Cas9-Nickase e sistemas de edição de base, que aumentam a precisão e segurança (Khoshandam *et al.*, 2024).

Outro desafio crítico é a entrega seletiva do CRISPR-Cas9 às células metastáticas. A administração sistêmica enfrenta barreiras fisiológicas como o sistema imune, degradação enzimática e baixa permeabilidade tumoral. Vetores virais, como adenovírus, são eficientes, mas apresentam riscos de imunogenicidade e mutagênese insercional. Alternativas não virais, como nanopartículas lipídicas, oferecem entrega mais segura, encapsulando o CRISPR-Cas9 e reduzindo a toxicidade sistêmica, embora sua eficácia em metástases ainda esteja em fase inicial (Song *et al.*, 2024).

A heterogeneidade tumoral também é um grande desafio. A diversidade genética e fenotípica das células tumorais dificulta a identificação de um único alvo eficaz, favorecendo a recorrência do câncer. Estratégias combinatórias de CRISPR-Cas9, que permitem a edição de múltiplos alvos simultâneos, têm sido investigadas para aumentar a eficácia terapêutica (Konermann *et al.*, 2015). Contudo, isso aumenta o risco de efeitos off-target e a complexidade da entrega.

Além dos desafios técnicos, há questões éticas e de segurança. O uso de CRISPR-Cas9 em células somáticas requer avaliação rigorosa dos riscos, especialmente devido à possibilidade de mutações não intencionais que possam afetar células germinativas. A regulação é crucial para evitar usos antiéticos, como a manipulação de características não relacionadas a doenças (Behrouzian Fard *et al.*, 2024).

CONCLUSÃO

A aplicação da tecnologia CRISPR-Cas9 no tratamento de cânceres metastáticos representa uma inovação significativa na medicina de precisão, oferecendo uma abordagem específica para a edição de genes fundamentais na progressão tumoral e na disseminação metastática. Nas últimas décadas, o entendimento dos mecanismos moleculares subjacentes à metástase avançou substancialmente, e o CRISPR-Cas9 tem demonstrado um potencial notável na modulação desses processos. A capacidade de inativar genes oncogênicos, reverter a transição epitelial-mesenquimal, modificar o microambiente tumoral e restaurar a sensibilidade a terapias anticâncer posiciona essa tecnologia como uma ferramenta promissora na busca por tratamentos curativos para pacientes em estágios avançados de câncer.

Os estudos revisados demonstram que a edição de genes como KRAS, MYC, SNAIL e ZEB1 reduz significativamente a capacidade invasiva e proliferativa das células tumorais. A reprogramação do microambiente tumoral por meio da modulação de genes como PD-L1, VEGF e CXCL12 também surge como estratégia promissora, aumentando a eficácia de imunoterapias e bloqueando a angiogênese. No entanto, a tradução clínica do CRISPR-Cas9 enfrenta desafios técnicos e éticos que precisam ser superados antes de sua adoção ampla na prática médica.

Os principais obstáculos incluem os efeitos off-target, que podem causar mutações indesejadas com potencial oncogênico. O desenvolvimento de variantes mais precisas da Cas9 e de sistemas de edição de base está em progresso para mitigar esse risco, mas os dados sobre sua segurança ainda são limitados. Além disso, a entrega eficiente e seletiva do sistema CRISPR-Cas9, especialmente em tecidos metastáticos de difícil acesso, como o cérebro, permanece um desafio. Nanopartículas e vetores virais modificados são possíveis soluções, mas sua toxicidade e imunogenicidade ainda requerem avaliação rigorosa. A heterogeneidade dos cânceres metastáticos também exige abordagens combinatórias para edição de múltiplos alvos genéticos, aumentando a eficácia terapêutica. As implicações éticas da edição gênica também precisam ser avaliadas cuidadosamente. O potencial de efeitos adversos de longo prazo e a possibilidade de usos não terapêuticos exigem regulamentação rigorosa e uma abordagem responsável pela comunidade científica e médica.

REFERÊNCIAS

- AALAM, Syed Mohammed Musheer et al. Clonal tracking in cancer and metastasis. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 43, n. 2, p. 639-656, 2024.
- BEHROUZIAN FARD, Ghazaleh et al. CRISPR-Cas9 technology: As an efficient genome modification tool in the cancer diagnosis and treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 121, n. 2, p. 472-488, 2024.
- CAI, Huiqiang et al. CRISPR/Cas9 model of prostate cancer identifies Kmt2c deficiency as a metastatic driver by Odam/Cabs1 gene cluster expression. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 2088, 2024.
- GHEBREMEDHIN, Anghesom et al. Tumor-Associated Macrophages as Major Immunosuppressive Cells in the Tumor Microenvironment. **Cancers**, v. 16, n. 19, p. 3410, 2024.
- GUO, Cuicui et al. Preclinical development of a novel CCR8/CTLA-4 bispecific antibody for cancer treatment by disrupting CTLA-4 signaling on CD8 T cells and specifically depleting tumor-resident Tregs. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 73, n. 10, p. 210, 2024.
- HUBER, Anne et al. Mutant TP53 switches therapeutic vulnerability during gastric cancer progression within interleukin-6 family cytokines. **Cell Reports**, v. 43, n. 8, 2024.
- JINESH, Goodwin G.; BROHL, Andrew S. Classical epithelial-mesenchymal transition (EMT) and alternative cell death process-driven blebbishield metastatic-witch (BMW) pathways to cancer metastasis. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 7, n. 1, p. 296, 2022.

KHOSHANDAM, Mohadeseh et al. Clinical applications of the CRISPR/Cas9 genome-editing system: Delivery options and challenges in precision medicine. **Genes & Diseases**, v. 11, n. 1, p. 268-282, 2024.

KIRI, Saurav; RYBA, Tyrone. Cancer, metastasis, and the epigenome. **Molecular Cancer**, v. 23, n. 1, p. 154, 2024.

KORKMAZ, Mustafa et al. The effect of concomitant beta-blocker use on survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with a vascular endothelial growth factor receptor inhibitors in the first line. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 80, n. 6, p. 941-947, 2024.

LAZAR, Angela Madalina et al. Skin Malignant Melanoma and Matrix Metalloproteinases: Promising Links to Efficient Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 14, p. 7804, 2024.

LIN, Longfei et al. The burden and trends of primary liver cancer caused by specific etiologies from 1990 to 2017 at the global, regional, national, age, and sex level results from the global burden of disease study 2017. **Liver Cancer**, v. 9, n. 5, p. 563-582, 2020.

MUKERJEE, Nobendu et al. Clinical impact of epithelial–mesenchymal transition for cancer therapy. **Clinical and Translational Discovery**, v. 4, n. 1, p. e260, 2024.

SELVAKUMAR, Sushmaa Chandrakha et al. CRISPR/Cas9 and next generation sequencing in the personalized treatment of Cancer. **Molecular Cancer**, v. 21, n. 1, p. 83, 2022.

SI, Guifei et al. Exosomes promote pre-metastatic niche formation in colorectal cancer. **Heliyon**, 2024.

SMITH, Danielle J. et al. CRISPR–Cas9 potential for identifying novel therapeutic targets in muscle-invasive bladder cancer. **Nature Reviews Urology**, p. 1-11, 2024.

SONG, Zhidu et al. Advances in delivery systems for CRISPR/Cas-mediated cancer treatment: a focus on viral vectors and extracellular vesicles. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1444437, 2024.