

CRISPR-CAS9 NA TRISSOMIA 21: POTENCIAL TERAPÊUTICO E EMBATES ÉTICOS

***CRISPR-CAS9 IN TRISOMY 21: THERAPEUTIC POTENTIAL AND ETHICAL
 DEBATES***

Isabela Machado dos Reis

Curso de Medicina – Faculdade Brasileira de Cachoeiro – Multivix
 Cachoeiro de Itapemirim-ES – Brasil
isabela.machado.reis@gmail.com

Rafael de Oliveira Gonçalves

Curso de Medicina – Faculdade Brasileira de Cachoeiro – Multivix
 Cachoeiro de Itapemirim-ES – Brasil
goliveira.rafa@gmail.com

Nelson Coimbra Ribeiro Neto

Docente e Coord. de Pesquisa e Extensão – Faculdade Brasileira de Cachoeiro – Multivix
 Cachoeiro de Itapemirim-ES – Brasil
nelson.coimbra@multivix.edu.br

Data de submissão: 08/12/2025

Data de aprovação: 23/01/2026

RESUMO

Objetivo: Analisar o potencial da técnica CRISPR-Cas9 na modulação genética da trissomia 21. **Métodos:** Realizou-se uma revisão integrativa, com abordagem qualitativa, de caráter exploratório, com delineamento bibliográfico e documental. A coleta de dados foi realizada por meio da seleção criteriosa de artigos científicos e outras publicações técnico-científicas disponíveis em bases como PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO e Google Acadêmico. Foram priorizadas publicações em inglês e português, no período de 2012 a 2025. **Resultados:** A estratégia de edição genética alelo-específica demonstrou maior especificidade na remoção do cromossomo 21 extra, sem afetar os demais cromossomos, representando um avanço em direção a terapias mais seguras e direcionadas. Contudo, desafios importantes persistem, incluindo a heterogeneidade celular, a eficácia clínica em organismos vivos e a necessidade de avaliação de efeitos a longo prazo. No campo ético, o uso do CRISPR-Cas9 para modificação genética da trissomia 21 levanta discussões complexas sobre eugenia, consentimento, equidade no acesso à tecnologia e impactos sociais. **Conclusão:** A estratégia CRISPR-Cas9 alelo-específica mostra-se promissora para a modulação genética da trissomia 21, oferecendo avanços relevantes em precisão e segurança. No entanto, desafios técnicos e dilemas éticos persistem, exigindo cautela e reflexão quanto à aplicação clínica dessa tecnologia.

Palavras-Chave: bioética. edição de genes. proteína 9 associada à CRISPR. Síndrome de Down.

ABSTRACT

Objective: To analyze the potential of the CRISPR-Cas9 technique in the genetic modulation of trisomy 21. **Methods:** An integrative review was conducted with a qualitative, exploratory approach, based on bibliographic and documentary research. Data collection involved the careful selection of scientific articles and other technical-scientific publications available in databases such as PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO, and Google Scholar. Publications in English and Portuguese from 2012 to 2025 were prioritized. **Results:** The allele-specific gene-editing strategy demonstrated greater specificity in removing the extra chromosome 21 without affecting other chromosomes, representing progress toward safer and more targeted therapies. However, major challenges remain, including cellular heterogeneity, clinical efficacy in living organisms, and the need to evaluate long-term effects. In the ethical domain, the use of CRISPR-Cas9 for genetic modification in trisomy 21 raises complex debates regarding eugenics, consent, equity in access to technology, and broader social impacts. **Conclusion:** The allele-specific CRISPR-Cas9 strategy appears promising for the genetic modulation of trisomy 21, offering meaningful advances in precision and safety. Nonetheless, technical challenges and ethical dilemmas persist, calling for caution and reflection concerning the clinical application of this technology.

Keywords: bioethics. gene editing. CRISPR-associated protein 9. Down Syndrome.

1 Introdução

A Síndrome de Down (SD) ou trissomia do cromossomo 21 é o principal distúrbio genético associado à deficiência cognitiva. Trata-se da anomalia cromossômica viável mais comum do mundo, com uma prevalência de aproximadamente 1 em cada 600 nascidos vivos (Hashizume et al., 2025). Sabe-se que os casos hereditários constituem a menor parte dos casos, enquanto a maioria ocorre por mutação espontânea durante a gametogênese. A alteração mais frequente na SD é a trissomia livre do cromossomo 21, correspondendo a cerca de 90% dos casos. Outros casos podem ser atribuídos ao mosaïcismo, que possui células normais e trissômicas, as translocações robertsonianas e os rearranjos cromossômicos (Moreira et al., 2019).

A clínica da trissomia 21 apresenta variáveis níveis de atraso neuropsicomotor, fácies típica, malformações cardíacas congênitas e sistêmicas, que ocasionam graves consequências ao bem-estar do indivíduo (Moreira et al., 2019).

No âmbito da edição genética como potencial terapêutico para síndromes cromossômicas, dadas as relevâncias clínicas, emergiu a técnica CRISPR-Cas9, que torna possível a deleção, inserção ou mutação de sequências curtas de DNA em *loci* genômicos específicos. Assim, pesquisas recentes demonstram a capacidade de induzir a remoção direcionada em múltiplos locais de cromossomos homólogos, possibilitando intervenções em aneuploidias, como a trissomia 21 (Hashizume et al., 2025).

A técnica CRISPR é um acrônimo para a expressão *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, ou seja, consiste em trechos curtos, que se repetem em intervalos regulares em palíndromos. Tal ferramenta funciona associada à proteína Cas-9, uma endonuclease capaz de identificar a região palindrômica e clivar a dupla hélice do DNA, sendo possível, assim, a deleção ou inserção de um novo trecho (Sganzerla; Pessini, 2020). A aplicação dessa tecnologia em células-tronco pluripotentes induzidas e fibroblastos de pacientes com trissomia 21, por exemplo, mostra resultados promissores, indicando que o CRISPR-Cas9 pode ser uma abordagem potencial para eliminar o cromossomo extra e, assim, corrigir a anomalia genética na base da Síndrome de Down (Wong et al., 2021)

A utilização da técnica CRISPR-Cas9 em aneuploidias representa a transição de uma tecnologia originalmente usada para edições genéticas pontuais para uma plataforma capaz de modular eventos cromossômicos em escala maior, de maneira a explorar as particularidades alélicas e respostas celulares ao dano de DNA para induzir perda seletiva de cópias homólogas. A convergência científica atual aponta que o maior desafio não é mais demonstrar a capacidade de clivagem da endonuclease, mas sim direcionar a consequência biológica desse corte para um desfecho celular desejado, como a fragmentação controlada ou o silenciamento cromossômico, com mínima interferência no restante do genoma. Essa mudança de paradigma reforça o CRISPR-Cas9 como ferramenta de estudo da resiliência celular, recomposição cariotípica e reequilíbrio transcriptômico, consolidando sua importância investigativa para a trissomia 21, ainda que distante de aplicação clínica (Hashizume et al., 2025).

Entretanto, a aplicação da técnica CRISPR-Cas9 em humanos envolve diversas questões éticas e sociais que exigem análise cuidadosa. A segurança do procedimento é um dos principais desafios, pois a edição genética pode causar efeitos *off-target*, ou seja, modificações indesejadas em regiões não pretendidas do genoma, com possíveis consequências imprevisíveis. Além disso, há preocupações quanto ao impacto dessas intervenções na diversidade genética da população humana, que é essencial para a adaptação e equilíbrio evolutivo das espécies. A proposta de "correção" genética também levanta debates sobre a percepção social das deficiências, questionando se tais tecnologias podem reforçar estigmas ou reduzir a valorização da diversidade humana (Sganzerla; Pessini, 2020).

A escolha do tema fundamenta-se nos avanços da técnica CRISPR-Cas9, reconhecida pelo Prêmio Nobel de Química em 2020 e com potencial demonstrado na correção da trissomia 21 em células humanas. A relevância da temática decorre tanto da busca por terapias eficazes e seguras quanto da necessidade de reflexão ética sobre eugenia, consentimento e diversidade humana. A pesquisa propõe-se a examinar os

avanços, desafios e implicações éticas relacionados à aplicação da técnica CRISPR-Cas9 na modulação genética da trissomia 21.

2 Desenvolvimento

O presente estudo caracteriza-se como uma revisão integrativa de literatura, com abordagem qualitativa e natureza exploratória, fundamentada em um delineamento bibliográfico. A busca foi realizada nas bases de dados PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO e Google Acadêmico, no 1º semestre de 2025. Foram utilizados os unitermos "Down syndrome", "Trisomy 21", "CRISPR-associated protein 9" e "bioethics", indexados pelo DeCS – descritores em Saúde – para a pesquisa. Foram incluídos artigos científicos originais e revisões sistemáticas, além de publicações técnico-científicas, diretrizes bioéticas e documentos institucionais relevantes ao tema da edição genética aplicada à Síndrome de Down. Incluíram-se textos completos publicados em inglês, português e espanhol no período de 2012 a 2025. Esse recorte temporal foi adotado devido à escassez de publicações recentes sobre a aplicação da CRISPR-Cas9 na Trissomia 21, permitindo, assim, abarcar estudos que oferecessem contribuições conceituais relevantes ao tema.

Os critérios de exclusão abrangeram artigos sem revisão por pares, estudos de caso isolados ou sem amostragem definida, publicações duplicadas e estudos fora do recorte temporal definido. A seleção ocorreu em etapas sucessivas: leitura de título, resumo e análise integral do texto das produções elegíveis.

No processo de seleção dos estudos, foram identificados 80 artigos nas bases de dados consultadas. Após a remoção de 30 publicações duplicadas, restaram 50 estudos para triagem por meio da leitura de títulos e resumos, etapa em que 30 artigos foram excluídos por não atenderem aos critérios estabelecidos. Dessa forma, 20 estudos foram considerados potencialmente relevantes e submetidos à análise completa do texto. Após leitura integral, 6 trabalhos foram excluídos por apresentarem inconsistências metodológicas, ausência de relação direta com o tema ou dados insuficientes, resultando na inclusão final de 14 estudos na síntese qualitativa que compõe esta revisão integrativa.

A análise crítica dos estudos selecionados foi realizada por leitura interpretativa e comparativa, buscando identificar lacunas, avanços e limitações metodológicas. Foram examinados achados convergentes e divergentes entre os autores, consistência dos dados, e evidências inconclusivas. No eixo ético, foram avaliadas discussões referentes à segurança, riscos potenciais, implicações morais, impacto social e controvérsias relacionadas ao uso da engenharia genética na trissomia do 21, com base na autonomia, beneficência, não maleficência e justiça, princípios da bioética.

A Síndrome de Down é a aneuploidia autossômica viável mais frequente no mundo. Decorre, na maior parte dos casos, da não disjunção meiótica, definida por uma separação cromossômica errônea durante a formação dos gametas. Com isso, há uma cópia extra do

cromossomo 21 nas células do corpo, que pode ocorrer de forma total ou parcial (Antonarakis et al., 2020).

Sabe-se, então, que a trissomia 21 é uma condição complexa, que ocasiona uma expressão genética desregulada, capaz de afetar diversos sistemas e tecidos e, assim, apresentar um amplo espectro fenotípico. Essa alteração resulta em uma série de manifestações clínicas e neurológicas, variando entre atraso cognitivo, hipotonia, malformações cardíacas e predisposição a doenças autoimunes e neurodegenerativas (Antonarakis et al., 2020).

Nos últimos anos, a tecnologia CRISPR-Cas9 emergiu como uma poderosa ferramenta de edição genética, com potencial terapêutico para corrigir mutações genéticas hereditárias. Desenvolvida a partir de um sistema imunológico adaptativo de bactérias, a técnica permite cortes precisos no DNA por meio da endonuclease Cas9 guiada por RNA, possibilitando inserções, deleções ou substituições em regiões específicas do genoma, por meio da técnica de inativação cromossômica com a inserção do gene XIST ou pela ferramenta alelo-específica (*X-inactive specific transcript*) (Wong et al., 2021).

Em condições fisiológicas, o XIST é responsável pela inativação de um dos cromossomos X em células femininas. Quando aplicado experimentalmente em aneuploidias, esse gene é capaz de promover o silenciamento epigenético do cromossomo extra, reduzindo a expressão gênica exacerbada e restabelecendo o equilíbrio molecular (De Araújo et al., 2014). Apesar de ser uma alternativa inovadora, o uso terapêutico do XIST apresenta limitações consideráveis. O silenciamento global do cromossomo 21 pode afetar genes essenciais à sobrevivência celular, além de provocar efeitos epigenéticos imprevisíveis, como a propagação indevida de marcas de repressão a outros cromossomos. Esses riscos reforçam a necessidade de compreender melhor os mecanismos de regulação do XIST e de desenvolver estratégias mais precisas e seguras antes de sua aplicação clínica em humanos (Hashizume et al., 2025).

Outra abordagem promissora é a técnica alelo-específica, que permite direcionar a edição genética de forma seletiva para o cromossomo 21 excedente, distinguindo-o dos demais por pequenas variações na sequência de nucleotídeos. Essa estratégia busca reduzir os riscos de mutações fora do alvo e minimizar impactos sobre genes essenciais, tornando-se uma alternativa mais controlada em comparação ao silenciamento cromossômico global. No entanto, sua aplicação terapêutica ainda enfrenta desafios técnicos, como a baixa eficiência dos mecanismos de reparo do DNA e a necessidade de aprimorar os sistemas de entrega da ferramenta às células humanas, garantindo maior segurança e estabilidade genômica (Hashizume et al., 2025).

Assim, apesar do potencial terapêutico de tais intervenções há desafios éticos e técnicos relevantes a serem considerados. A edição genética em células germinativas ou embriões humanos suscita preocupações sobre sua segurança, previsibilidade e

implicações para as futuras gerações, já que alterações hereditárias podem ser transmitidas de forma irreversível. Assim, embora o potencial terapêutico da técnica seja promissor, torna-se essencial que sua aplicação seja guiada por princípios de responsabilidade, segurança e respeito à dignidade humana, conforme estabelecido por diretrizes internacionais e bioéticas (Sganzerla; Pessini, 2020)

Mecanismo da Técnica CRISPR-Cas9 Alelo-Específica e Gene XIST

A tecnologia de edição genômica CRISPR-Cas9 foi originalmente descrita como um componente do sistema imune adaptativo de bactérias e arqueas, responsável pela defesa contra elementos genéticos invasores, como vírus e plasmídeos (Jasin; Rothstein, 2013). O funcionamento é baseado na endonuclease Cas9, que, guiada por um RNA de fita simples (sgRNA), reconhece sequências específicas de DNA e promove clivagens precisas em loci genômicos definidos, viabilizando deleções, inserções ou substituições de bases (Wong et al., 2021). A atividade catalítica da Cas9 depende estritamente da presença do PAM (Protospacer Adjacent Motif), uma curta sequência de nucleotídeos adjacente ao sítio de ligação do RNA guia, indispensável para o reconhecimento e a ancoragem da enzima ao DNA-alvo. A clivagem ocorre de maneira sítio-específica, geralmente três pares de bases acima da sequência PAM, resultando em uma quebra dupla da fita de DNA (Jinek et al., 2012).

Sabe-se que a reparação do DNA após ser clivado pode ocorrer por dois mecanismos distintos: junção final não homóloga (NHEJ) ou recombinação homóloga dirigida (HDR) (Miguel et al., 2024). A escolha entre as estratégias de reparo é altamente dependente do estágio do ciclo celular em que a célula se encontra. O NHEJ é um mecanismo predominante e rápido que atua ao longo de todo o ciclo celular, sendo especialmente ativo em fases fora da síntese de DNA (fase S) e mitose. Esse processo consiste na conexão direta das extremidades de DNA rompidas sem a necessidade de um molde, o que pode resultar em inserções, deleções, ou mutações adicionais, de maneira a conferir certa imprecisão ao reparo (Giono, 2017).

Por outro lado, o HDR é um mecanismo de reparo que requer um molde de DNA homólogo, geralmente a cromátide irmã, para guiar a correção precisa da lesão. Esse mecanismo é restrito às fases S e G2 do ciclo celular, quando o DNA está replicado e disponível como molde para o reparo. Dessa maneira, a recombinação homóloga dirigida é o mecanismo de escolha imprescindível em aplicações clínicas, devido sua maior precisão. No entanto, a escolha da via de reparo HDR é um desafio a ser considerado, já que possui baixa eficiência em relação à junção final não homóloga (Giono, 2017).

Complementarmente, a abordagem alelo-específica (AS) da técnica CRISPR-Cas9 representa um avanço significativo na aplicação terapêutica da edição genômica de aneuploidias, ao possibilitar a eliminação seletiva do cromossomo 21 excedente com base

em diferenças de sequência entre os alelos. Essa abordagem difere da CRISPR-Cas9 tradicional, que não distingue alelos de um mesmo gene. Sendo assim, a estratégia alelo-específica utiliza guias de RNA moldados para reconhecer pequenas variações de nucleotídeos em regiões únicas do cromossomo alvo, direcionando a endonuclease Cas9 à indução de quebras duplas de DNA em *loci* ainda mais específicos. Apesar disso, a tradução terapêutica dessa abordagem ainda requer otimização das vias de reparo HDR e NHEJ, controle rigoroso de efeitos *off-target* e aprimoramento dos sistemas de entrega *in vivo*, a fim de garantir segurança genômica e estabilidade epigenética a longo prazo (Hashizume et al., 2025). Ademais, há outro mecanismo para a terapêutica de aneuploidias, que difere da técnica alelo-específica, capaz de silenciar cromossomos extras em pacientes com aneuploidia, por meio da inclusão do gene XIST por meio da técnica CRISPR-Cas9. Na fisiologia normal da mulher, o gene XIST codifica um RNA longo não traduzível responsável pela inativação fisiológica de um dos cromossomos X em células femininas, por meio do recrutamento de complexos modificadores de histonas e da metilação do DNA (Tafazoli et al., 2019). Quando inserido experimentalmente no cromossomo 21 excedente, esse gene desencadeia um processo semelhante de silenciamento epigenético, impedindo a transcrição gênica e restabelecendo parcialmente o equilíbrio da expressão genética (De Araújo et al., 2014).

Embora o uso do gene XIST na inativação do cromossomo 21 extra represente uma abordagem promissora para restaurar o equilíbrio da expressão gênica na trissomia 21, essa estratégia apresenta baixa precisão molecular. Por promover o silenciamento epigenético global do cromossomo, o XIST não distingue genes cuja expressão parcial seja necessária à viabilidade celular, podendo levar à supressão inadvertida de regiões genômicas essenciais. Além disso, a inserção e ativação ectópica do XIST podem gerar efeitos epigenéticos imprevisíveis, como a propagação anômala de sinais de repressão genética para outros cromossomos e alterações estáveis no padrão de metilação. Esses riscos refletem a natureza abrangente e pouco controlável da inativação cromossômica induzida, evidenciando a necessidade de aperfeiçoar mecanismos de regulação espacial e temporal da expressão do XIST antes de sua aplicação terapêutica em humanos (Hashizume et al., 2025).

Portanto, a complexidade relacionada a modificações genéticas enfrentam desafios relacionados à eficiência de entrega do complexo CRISPR-Cas9 e ao risco de modificações genômicas não intencionais. Contudo, os avanços na engenharia de nucleases mais específicas e no desenvolvimento de vetores virais e nanopartículas têm aumentado a precisão e a segurança da técnica, consolidando seu potencial para futuras aplicações clínicas em aneuploidias como a trissomia 21 (Wong et al., 2021).

Aplicação da Técnica CRISPR-Cas9 na Trissomia 21

A Síndrome de Down representa a causa genética mais comum de deficiência cognitiva, constituindo um importante foco de diagnóstico pré-natal e de investigações clínicas (Hashizume et al., 2025). Essa limitação intelectual está relacionada a falhas na formação das sinapses e a disfunções na eficiência da transmissão sináptica, fatores considerados determinantes na gênese das alterações cognitivas observadas nessa condição (Russo; Sousa; Bhattacharyya, 2024).

As alterações cognitivas e estruturais observadas desde o nascimento em indivíduos com Síndrome de Down resultam de distúrbios precoces no desenvolvimento cerebral, cuja base celular e molecular ainda não é totalmente compreendida. Com os avanços tecnológicos, como o uso de modelos com células-tronco pluripotentes induzidas, tornou-se possível investigar com maior precisão os mecanismos genéticos envolvidos, abrindo espaço para o estudo de abordagens inovadoras de modulação genômica, como a técnica CRISPR-Cas9 (Russo; Sousa; Bhattacharyya, 2024). Com isso, observa-se o potencial terapêutico da ferramenta de edição genômica CRISPR-Cas9, composta por endonucleases guiadas por RNA derivadas do sistema imunológico adaptativo de microrganismos. Essa tecnologia permite o direcionamento preciso a uma região específica do genoma, por meio de um RNA guia, por meio da técnica alelo-específica ou pela inativação do cromossomo extra pelo gene XIST (Moreira et al., 2019).

O uso da tecnologia CRISPR-Cas9 tem demonstrado potencial para o silenciamento de genes com efeitos deletérios, incluindo aqueles relacionados a manifestações neurológicas precoces, como a demência associada à Síndrome de Down. Essa possibilidade amplia o campo de aplicação terapêutica da edição genômica, permitindo modular a expressão de genes cuja superatividade contribui para o comprometimento cognitivo progressivo observado nesses indivíduos (Moreira et al., 2019).

Pesquisas realizadas em modelos celulares mostram que a remoção específica do cromossomo excedente ou o bloqueio da expressão exagerada de determinados genes pode contribuir para a recuperação parcial das funções celulares normais (Wong et al., 2021). Entre os genes localizados na região do cromossomo 21, destaca-se a proteína precursora amiloide (APP), cuja superexpressão está relacionada à neurotoxicidade, alterações na adesão celular e formação precoce de placas amiloides difusas, típicas da Doença de Alzheimer (DA). Embora a produção de APP esteja aumentada na Síndrome de Down, estudos indicam que mecanismos genéticos distintos podem modular a formação das placas neuríticas tanto na SD quanto na DA, sugerindo que fenótipos semelhantes podem resultar de vias moleculares diferentes (Moreira et al., 2019). No entanto, a aplicação clínica da técnica ainda é limitada pela necessidade de garantir precisão e segurança, uma vez que mutações fora do alvo permanecem um desafio significativo na manipulação do genoma humano (Hashizume et al., 2025).

Abordagem Ética da Terapêutica para Trissomia 21

A edição do genoma humano configura um campo ético e científico de grande complexidade, ao suscitar questionamentos sobre os limites da intervenção biotecnológica na própria natureza humana. Embora a aplicação terapêutica da técnica CRISPR-Cas9 represente uma perspectiva promissora para o tratamento de inúmeras doenças genéticas, sua utilização ainda envolve riscos significativos, decorrentes do conhecimento incompleto acerca das funções e interações do DNA no contexto genômico global (Sganzerla; Pessini, 2020).

Embora os avanços científicos tornem possível a modificação genética em níveis cada vez mais precisos, nem toda intervenção tecnicamente viável pode ser considerada eticamente aceitável, sobretudo quando envolve riscos de biossegurança que podem comprometer o patrimônio genético das futuras gerações. Trata-se, portanto, não de uma postura de resistência ao progresso científico, mas de uma expressão de responsabilidade ética diante de procedimentos cujos efeitos permanecem incertos e potencialmente irreversíveis (Sganzerla; Pessini, 2020).

A aplicação da técnica CRISPR-Cas9 em células germinativas e embriões humanos gera intenso debate ético, pois envolve intervenções que podem alterar permanentemente o patrimônio genético transmitido às gerações futuras. Embora apresente um grande potencial terapêutico, com capacidade de prevenir doenças genéticas graves antes mesmo do nascimento, essa possibilidade suscita dilemas morais quanto aos limites da manipulação da linhagem humana e às consequências imprevisíveis dessas modificações (Winter et al., 2023).

Por outro lado, parte da comunidade científica e bioética adverte que a edição da linha germinal ultrapassa uma fronteira ética delicada, podendo abrir caminho para práticas eugênicas e para a busca de aprimoramentos genéticos incompatíveis com os princípios de igualdade e dignidade humana. Dessa forma, a prudência e a reflexão ética tornam-se indispensáveis diante das promessas e dos riscos associados à aplicação dessa tecnologia (Sganzerla; Pessini, 2020).

Nesse contexto, reforça-se a necessidade de uma ética de proteção, conforme orienta a "Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos" da Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO), que estabelece a obrigatoriedade de considerar as implicações éticas e sociais em toda pesquisa genômica. Dessa forma, enquanto os riscos associados à edição genética em embriões humanos excederem os possíveis benefícios terapêuticos, deve prevalecer uma postura de cautela científica pautada pela responsabilidade ética, visando garantir a preservação da integridade biológica, social e moral da humanidade (Sganzerla; Pessini, 2020).

A edição genética aplicada a condições como trissomia 21 também exige vigilância ética quanto à justiça no uso dos recursos biotecnológicos e à proporcionalidade dos riscos.

Intervenções genômicas de alta complexidade podem ampliar desigualdades quando tecnologias experimentais, de elevado custo e domínio restrito a poucos centros de pesquisa, avançam mais rapidamente do que mecanismos de democratização do acesso e debate social amplo. Esse cenário impõe um dever moral de distribuição justa do conhecimento e de proteção contra usos que estruturam a medicina genética sob um modelo excludente, no qual apenas parte da população poderia se beneficiar de futuras terapias (Sganzerla; Pessini, 2020).

Diante dessas questões, torna-se imprescindível que a aplicação clínica da edição genética seja precedida por uma regulamentação internacional rigorosa e por um consenso ético consolidado entre cientistas, profissionais da saúde e juristas. A transparência nos estudos, a supervisão multidisciplinar e a observância do princípio da precaução são fundamentais para assegurar que o avanço científico ocorra de forma segura e responsável. Nesse sentido, embora a tecnologia CRISPR-Cas9 se apresente como uma ferramenta promissora para a modulação genética da trissomia 21, sua utilização terapêutica deve sempre estar alinhada aos valores de segurança, responsabilidade e respeito à dignidade humana (Wong et al., 2021).

Aplicação Clínica CRISPR-Cas9: Experimentos In vitro e In vivo

A elucidação dos mecanismos básicos do sistema CRISPR-Cas9 consolidou-se, em grande parte, a partir de experimentos in vitro que demonstraram como a Cas9 reconhece e cliva o DNA alvo. Os experimentos conduzidos por Jinek et al. (2012), evidenciaram a necessidade do PAM (*Protospacer Adjacent Motif*) para que a nuclease se associe corretamente ao DNA. Essa evidência foi obtida por meio da análise de plasmídeos artificiais contendo *protospacers* com mutações pontuais e avaliadas quanto à susceptibilidade à clivagem. A comparação desses achados com dados de investigações anteriores sobre a estabilidade de plasmídeos análogos em *Streptococcus pyogenes* permitiu estabelecer uma correlação direta entre o comportamento observado nos ensaios in vitro e o funcionamento natural do sistema CRISPR na bactéria, consolidando o entendimento de um mecanismo fundamental para a aplicação biotecnológica (Jinek et al., 2012).

Outro resultado central do ensaio in vitro proposto por Jinek et al. (2012) foi a demonstração de que a especificidade da Cas9 depende da atuação conjunta do crRNA (CRISPR RNA) e o tracrRNA (*trans-activating* CRISPR RNA), já que nenhum deles isoladamente é capaz de direcionar a clivagem. Dessa forma, o estudo promoveu a unificação funcional desses dois componentes em um único RNA sintético, denominado single-guide RNA, que simplificou o sistema sem perda de eficiência. Esse avanço estabeleceu o formato utilizado nos protocolos modernos de edição genética, possibilitando

o desenvolvimento das abordagens atualmente investigadas para distúrbios cromossômicos, como a Trissomia 21 (Jinek et al., 2012).

O primeiro ensaio clínico com CRISPR-Cas9 em humanos, conduzido por Lu You no West China Hospital, em 2016, avaliou 12 pacientes com câncer de pulmão metastático refratário, nos quais linfócitos T autólogos tiveram o gene PD-1 inativado, por meio da ferramenta CRISPR-Cas9. Segundo o relatório publicado na Nature, apenas dois pacientes apresentaram estabilidade da doença e um deles manteve esse estado por aproximadamente 18 meses, indicando benefício clínico restrito. Entretanto, o estudo demonstrou baixa taxa de efeitos *off-target*, boa tolerância, ausência de toxicidade grau 3 ou superior e nenhum óbito relacionado ao tratamento, estabelecendo a segurança e a viabilidade da aplicação clínica do CRISPR-Cas9, ainda que sua eficácia antitumoral tenha sido limitada, caracterizando a intervenção como prova de conceito (Cyranoski, 2016).

A comparação entre o estudo in vitro de Jinek et al. (2012) e o ensaio clínico conduzido por Lu You em 2016 evidencia a progressão do CRISPR-Cas9 desde a caracterização de seus mecanismos fundamentais, em ensaios in vitro, até sua aplicação terapêutica inicial. Enquanto o trabalho de 2012 definiu elementos estruturais indispensáveis para a clivagem do DNA, estabelecendo a base molecular da tecnologia, o ensaio clínico avaliou sua performance em ambiente biológico complexo, por meio da edição de linfócitos T em pacientes com câncer metastático. Os resultados clínicos demonstraram segurança, boa tolerabilidade e baixa incidência de efeitos adversos, apesar da eficácia antitumoral limitada. Dessa forma, os estudos se complementam ao mostrar, respectivamente, a construção conceitual da ferramenta e seus primeiros limites e possibilidades quando aplicada ao organismo humano.

Outro estudo original, utilizando-se das bases técnicas supracitadas, foi de Hashizume et al. (2025), que realizou um experimento in vitro para eliminar seletivamente a cópia extra do cromossomo em células com trissomia 21, por meio da edição alelo-específica via CRISPR-Cas9. O estudo empregou células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) derivadas de fibroblastos de um paciente com Síndrome de Down. Inicialmente, mapearam a origem parental dos três cromossomos 21 e selecionaram o alelo materno M2 como alvo seguro, evitando cópias com implicações de *imprinting*. Para atingir o objetivo, foram construídos plasmídeos "all-in-one" para coexpressar Cas9 e gRNAs projetados especificamente para reconhecer apenas sequências presentes no alelo materno M2, previamente identificados como alvo. A triagem funcional dos guias utilizou o sistema repórter EGxxFP, que restaura fluorescência verde após clivagem eficiente, permitindo a escolha de 13 gRNAs com alto potencial de corte, dentre 15.695 sequências potenciais no alelo materno M2 que poderiam servir como alvos exclusivos para Cas9. Os plasmídeos foram introduzidos nas iPS trissômicas por eletroporação, gerando múltiplas quebras

simultâneas de dupla fita no M2, estratégia que induz instabilidade estrutural, fragmentação e, conseqüentemente, a perda daquela cópia cromossômica.

Com isso, a eficiência de correção mostrou relação dose-dependente com o número de clivagens: 1 quebra gerou 1,0% de células corrigidas (DP 1,7%), enquanto 13 cortes elevaram esse valor para 13,1% (DP 0,3%), confirmando que múltiplas clivagens favorecem a eliminação cromossômica completa. A especificidade da perda foi validada por *Short Tandem Repeat* (STR), demonstrando que todos os clones dissômicos perderam exclusivamente o M2. Após a edição, a análise citogenética por *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH) confirmou a conversão de células trissômicas para dissômicas. Por fim, a expressão gênica global foi normalizada para níveis compatíveis com células euploides, incluindo genes críticos do neurodesenvolvimento, evidenciando que a restauração do cariótipo promove impacto funcional direto no fenótipo celular corrigido (Hashizume et al., 2025).

Sendo assim, os estudos convergem ao demonstrar que a edição genômica mediada por CRISPR-Cas9 possui potencial terapêutico, devido a um acúmulo progressivo de soluções que integraram precisão molecular, viabilidade celular e intencionalidade biológica. Os autores Jinek et al. (2012) forneceram a base conceitual que permitiu compreender a lógica de reconhecimento e clivagem do DNA, viabilizando o sistema CRISPR-Cas9 em um formato programável e simplificado, de modo a formar uma premissa técnica que sustentou todos os avanços subsequentes. Esse conhecimento inicial foi essencial para que, em 2016, no estudo conduzido por Lu You, a edição em células humanas imunes autólogas in vivo pudesse ser introduzida de forma clinicamente tolerável, demonstrando que a tecnologia era compatível com a manipulação de células humanas, embora ainda sem foco em correção cromossômica estrutural, que, posteriormente, foi foco do ensaio clínico de Hashizume et al. (2025).

Dessa forma, a principal evolução dos estudos anteriores para o de Hashizume et al. (2025), foi a expansão da aplicação da técnica CRISPR-Cas9 ao adotar uma abordagem alelo-específica, baseada na origem parental dos cromossomos. O ensaio in vitro explorou múltiplas quebras de dupla fita distribuídas de forma sinérgica como mecanismo de indução causal de um desfecho cromossômico seletivo, ou seja, a perda direcionada da cópia extra do cromossomo 21 em células humanas portadoras da trissomia 21, o que demonstra um avanço de propósito funcional celular e de precisão estratégica em larga escala. A convergência entre os trabalhos revela que o campo evoluiu para uma edição geneticamente individualizada e biologicamente intencional, na qual o sucesso não se restringe à nuclease ou ao RNA guia, mas à engenharia do efeito celular e cromossômico desejado, estabelecendo a aneuploidia como um problema editável no nível funcional celular, ainda que, por ora, restrito a modelos in vitro.

3 Conclusão

A análise do potencial terapêutico da técnica CRISPR-Cas9, ao possibilitar intervenções específicas sobre o cromossomo 21 excedente, seja por meio da abordagem alelo-específica ou pela utilização do gene XIST, oferece novas perspectivas para a compreensão e, futuramente, o tratamento das manifestações clínicas da Síndrome de Down. Embora ainda em estágios experimentais, tais estratégias demonstram a capacidade de restabelecer o equilíbrio gênico, o que pode representar um marco na busca por terapias moleculares direcionadas.

Entretanto, a aplicação clínica da técnica enfrenta desafios técnicos expressivos, como o controle rigoroso de efeitos *off-target*, a baixa eficiência das vias de reparo do DNA e a necessidade de sistemas de entrega mais seguros e específicos. Esses entraves reforçam que, apesar do avanço conceitual, a transposição dos resultados laboratoriais para o contexto humano requer pesquisas adicionais, validação em modelos biológicos complexos e protocolos padronizados que assegurem a estabilidade genômica e a previsibilidade terapêutica.

Além das barreiras científicas, a CRISPR-Cas9 desperta reflexões éticas e bioéticas profundas. A possibilidade de modificar o genoma humano levanta questionamentos sobre os limites da intervenção biotecnológica, o risco de práticas eugênicas e as implicações sociais da manipulação genética. Nesse sentido, é imprescindível que a evolução dessa ferramenta seja acompanhada por regulamentações internacionais rigorosas e por uma ética de precaução, conforme preconizado pela UNESCO, garantindo que o progresso científico se mantenha em consonância com os princípios de dignidade, equidade e respeito à vida humana. Logo, a técnica CRISPR-Cas9 representa um grande potencial para o futuro da medicina aplicada à Síndrome de Down, contudo, sua consolidação como terapêutica dependerá de um equilíbrio entre inovação e responsabilidade. Somente com a integração entre rigor científico, reflexão ética e compromisso social será possível transformar o potencial dessa tecnologia em benefício real e seguro para a humanidade.

Portanto, o progresso científico ocorrido na última década adicionou novas camadas de intencionalidade biológica, escala de edição e refinamento do alvo, permitindo que aneuploidias, antes classificadas como intratáveis geneticamente, fossem passíveis de modelagem e correção funcional em laboratório. Assim, reafirma-se que o principal patamar evolutivo do CRISPR-Cas9 está na capacidade de projetar intervenções genômicas funcionais que produzam consequências celulares previsíveis, estáveis e seguras, para que, dessa forma, no futuro, o reequilíbrio cromossômico observado *in vitro* possa orientar terapias moleculares responsáveis para a Síndrome de Down.

Referências

1. Antonarakis SE, et al. Down Syndrome. Nat Rev Dis Primers. 2020;6(1). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32029743/>.

2. Cyranoski D. CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *Nature*. 2016;539(7630):479. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature.2016.20988>.
3. De Araújo ESS, et al. Stability of XIST repression in relation to genomic imprinting following global genome demethylation in a human cell line. *Braz J Med Biol Res*. 2014;47(12):1029–35. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X20144058>.
4. Giono LE. CRISPR/Cas9 y la terapia génica. *Medicina (B Aires)*. 2017;77(5):405–9. Disponível em: https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802017000500009.
5. Hashizume R, et al. Trisomic rescue via allele-specific multiple chromosome cleavage using CRISPR-Cas9 in trisomy 21 cells. *PNAS Nexus*. 2025;4(2). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgaf022>.
6. Jasin M, Rothstein R. Repair of strand breaks by homologous recombination. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(11):a012740. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012740>.
7. Jinek M, et al. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science*. 2012;337(6096):816–21. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.
8. Miguel L, et al. Edição de genes CRISPR-Cas9 e suas aplicações terapêuticas: Uma revisão de literatura. *Res Soc Dev*. 2024;13(8):e11513846681. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v13i8.46681>.
9. Moreira LMA, et al. Premature aging in adults with Down syndrome: genetic, cognitive and functional aspects. *Rev Bras Geriatr Gerontol*. 2019;22(4). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-22562019022.190024>.
10. Russo ML, Sousa AMM, Bhattacharyya A. Consequences of trisomy 21 for brain development in Down syndrome. *Nat Rev Neurosci*. 2024;25(11):740–55. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39379691/>.
11. Sganzerla A, Pessini L. Edição de humanos por meio da técnica do CRISPR-Cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. *Saúde Debate*. 2020;44(125):527–40. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012519>.
12. Tafazoli A, et al. Combination of genetics and nanotechnology for Down syndrome modification: a potential hypothesis and review of the literature. *Iran J Public Health*. 2019;48(3):371–8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31223563/>.
13. Winter BCA. CRISPR-Cas9 e a edição genética em embriões humanos: uma análise normativa de seus riscos e benefícios [dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2023. Disponível em: <https://arca.fiocruz.br/items/5c5a48a3-342c-420a-b70d-fd817017aa93>.
14. Wong PK, et al. CRISPR gene-editing models geared toward therapy for hereditary and developmental neurological disorders. *Front Pediatr*. 2021;9. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.592571>.