



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

SISTEMA CRISPR-Cas COMO FERRAMENTA PARA PESQUISAS EM DIABETES: UMA REVISÃO

Gabriel Roldi Geraldo¹; Stefania Caroline Claudino da Silva²

¹Acadêmico do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá – PR.

²Docente do Departamento de Medicina Veterinária, UNICESUMAR

RESUMO

O sistema imune de bactérias apresenta uma particularidade em nível de DNA que lhes confere resistência a elementos genéticos invasores. Este sistema de defesa possibilita a bactéria identificar o material genético de invasores, inativando-o. Com base no conhecimento deste mecanismo, pesquisadores desenvolveram uma nova ferramenta de edição gênica, chamada CRISPR/Cas 9, capaz de reconhecer sequências específicas em um DNA alvo e clivá-lo, editando-o conforme desejado. Diversas pesquisas têm utilizado esta ferramenta como o intuito de evidenciar o potencial desta ferramenta no tratamento de diversas doenças. Deste modo, objetivamos com esta revisão de literatura evidenciar o potencial da técnica CRISPR/Cas9 em pesquisas relacionadas a diabetes.

PALAVRAS-CHAVE: Bacteriófago; Engenharia Genética; Insulina;

1 INTRODUÇÃO

O sistema imune de bactérias apresenta uma particularidade em nível de DNA que lhes confere resistência a elementos genéticos invasores. Esta particularidade se trata de repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente espaçadas, popularmente chamada pela sigla CRISPR, do inglês “Clustered regularly-interspaced short palindromic repeats” (JANSEN et al., 2002). Entre as regiões palindrômicas são observados fragmentos de material genéticos não codificantes para o genoma bacteriano. Estes pequenos fragmentos de DNA estranho são adquiridos nos primeiros contatos de uma bactéria com um organismo invasor e incorporados na região CRISPR, como mecanismo adaptativo (BHAYA et al., 2011; MAKAROVA et al., 2011).

A medida que o loci CRISPR é preenchido com DNA estranho, a bactéria vai desenvolvendo uma biblioteca de reconhecimento de organismos invasores (MAKAROVA et al., 2006). Quando o material genético de um invasor é comparado a esta biblioteca e reconhecido ocorre a síntese de RNA da região CRISPR correspondente, denominado crRNA. Estas sequências de crRNA servem como guias para as enzimas Cas (sistema enzimático associado à CRISPR), que ao encontrarem o material genético invasor corresponde a sequência crRNA, o prende e clivam em local específico de forma altamente eficiente, impedindo a replicação do material genético invasor (BARRANGOU et al., 2007). Até a presente data, diversos sistemas Cas foram descritos, sendo a Cas9 a principal nuclease envolvida no processo de clivagem de DNA invasor (GARNEAU et al., 2010), formando o sistema conhecido como CRISPR-CAS9.

Baseado neste sistema de defesa procariótico, a tecnologia de edição de genes CRISPR-Cas9 foi desenvolvida e tem sido amplamente adotada para a edição de genomas em eucariotas em nível experimental para diversas doenças. Entretanto, não foram encontrados na literatura até a presente data, um trabalho de revisão demonstrando o potencial do uso desta técnica para terapia gênica de diabetes.

O diabetes é uma doença crônica, caracterizado pela hiperglicemia que ocorre devido a incapacidade do pâncreas de sintetizar insulina em quantidades suficientes ou utilizar a que produz (ALBERTI, 1998). Um levantamento realizado em 2015 pela “international Diabetes Federation”, demonstrou que aproximadamente 415 milhões de pessoas apresentavam diabetes em todo o mundo, com uma previsão de 642 milhões de casos em 2040. Estima-se que aproximadamente 5



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

milhões de pessoas morreram em 2015 em decorrência do diabetes, evidenciando a necessidade de pesquisas na área. Com isso estudos sobre diabetes tem extrema importância tendo em vista sua incidência na população e seu risco sobre ela. Objetivamos com esta revisão de literatura, evidenciar o potencial da técnica CRISPR/Cas na pesquisa e desenvolvimento de terapia gênica para tratamento de diabetes, por meio de leitura de artigos científicos publicados nos últimos anos em revistas de grande relevância no meio.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Será realizada revisão de literatura sistemática, com o objetivo de explanar os seguintes temas: A técnica CRISPR/ Cas; terapia gênica, diabetes e potencial da CRISPR no tratamento da diabetes. Para tal será realizada a leitura de artigos científicos encontrados por meio de ferramentas de busca como PubMed e Google acadêmico.

3 RESULTADOS ESPERADOS E DISCUSSÃO

Na diabetes tipo 1 a manutenção dos níveis glicêmicos em pacientes diabéticos se faz pela administração da insulina, sendo porem apenas uma forma de controle (Atkinson et al., 2001). Segundo Meloche (2007), o transplante de fígado, rim, ou ilhotas pancreáticas tem se mostrado uma alternativa para tais pacientes atingirem níveis normais de glicemia, porem oferecem riscos tanto no processo operatório quanto no pós-operatório como fistula pancreática, hemorragia, sepse, trombose. A imunossupressão pode levar a desenvolvimento de hipertensão, aumento do perfil lipídico, nefrotoxicidade, tremores, problemas gastrointestinais (Yang 2006).

Gerace et al. (2017) destacam o papel das células tronco mesenquimais pluripotentes no tratamento da diabetes devido ao seu papel no reparo e sobrevivência de células β pancreáticas e ativação de genes como Pdx-1. O mesmo grupo ainda sugere a utilização da CRISPR para mediar a diferenciação das células tronco aumentando a eficácia do tratamento junto com a ativação de genes promotores da produção da insulina. O controle da hiperglicemia em pacientes com diabetes tipo 2, se faz primariamente com medicamentos, iniciando na maioria dos casos com a metformina, e caso os níveis de hemoglobina glicada não diminuam, adiciona-se outro medicamento, aumentando a eficácia do tratamento e os riscos adversos (INZUCCHI et al., 2012). Em 2016 foi demonstrada a capacidade da CRISPR por meio da ativação bem-sucedida do gene da insulina em cultura de células humanas embrionárias humanas renais HEK293t (Gimenez et al., 2016).

Com base nestas evidencias, esperamos com esta pesquisa demonstrar o progresso, a efetividade e o sucesso da técnica de edição genica CRISPR/Cas-9 em relação à diabetes, para que ela se torne uma ferramenta amplamente utilizada no meio científico.

4 CONSIDERACOES FINAIS

O advento da técnica CRISPR possibilitou uma nova forma de estudar os mecanismos genéticos responsáveis pelo desenvolvimento da diabetes, assim como formas de tratamento, sejam novas ou aliadas a técnicas existentes. Por ser algo novo a utilização da técnica ainda encontra limitações mas caminha em rumo ao sucesso.



Encontro Internacional
de Produção Científica
24 a 26 de outubro de 2017

REFERÊNCIAS

ALBERTI, Kurt George Matthew Mayer; ZIMMET, PZ ft. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. **Diabetic medicine**, v. 15, n. 7, p. 539-553, 1998.

ATKINSON, Mark A.; EISENBARTH, George S. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. **The Lancet**, v. 358, n. 9277, p. 221-229, 2001.

BARRANGOU, Rodolphe et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. **Science**, v. 315, n. 5819, p. 1709-1712, 2007.

BHAYA, Devaki; DAVISON, Michelle; BARRANGOU, Rodolphe. CRISPR-Cas systems in bacteria and archaea: versatile small RNAs for adaptive defense and regulation. **Annual review of genetics**, v. 45, p. 273-297, 2011.

GARNEAU, Josiane E. et al. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. **Nature**, v. 468, n. 7320, p. 67-71, 2010.

GERACE, Dario et al. CRISPR-targeted genome editing of mesenchymal stem cell-derived therapies for type 1 diabetes: a path to clinical success. **Stem cell research & therapy**, v. 8, n. 1, p. 62, 2017.

GIMENEZ, C. A. et al. CRISPR-on system for the activation of the endogenous human INS gene. **Gene therapy**, v. 23, n. 6, p. 543-548, 2016.

INZUCCHI, Silvio E. et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). **Diabetologia**, v. 55, n. 6, p. 1577-1596, 2012.

JANSEN, Ruud et al. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. **Molecular microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1565-1575, 2002.

MAKAROVA, Kira S. et al. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. **Biology direct**, v. 1, n. 1, p. 7, 2006.

MAKAROVA, Kira S. et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 467-477, 2011.

MELOCHE, R. Mark. Transplantation for the treatment of type 1 diabetes. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 13, n. 47, p. 6347, 2007.

YANG, Harold. Maintenance immunosuppression regimens: conversion, minimization, withdrawal, and avoidance. **American journal of kidney diseases**, v. 47, n. 4, p. S37-S51, 2006.