



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**USO DOS SISTEMAS CRISPR NO DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

**FÁBIO DE SOUZA ESTEVES COURA FILHO**

**RECIFE - PE**

**2024**

**FÁBIO DE SOUZA ESTEVES COURA FILHO**

**USO DOS SISTEMAS CRISPR NO DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof Dr Paulo Roberto Eleutério de Souza.

RECIFE - PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Bibliotecário(a): Suely Manzi – CRB-4 809

C858u Coura Filho, Fábio de Souza Esteves.  
    Usos dos sistemas CRISPR no diagnóstico do câncer:  
    revisão da literatura / Fábio de Souza Esteves Coura Filho.  
    - Recife, 2024.  
    40 f.

Orientador(a): Paulo Roberto Eleutério de Souza.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura  
em Ciências Biológicas, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Câncer - Diagnóstico. 2. CRISPR (Genética). 3.  
Sequenciamento de nucleotídeo. 4. Sistemas CRISPR-Cas  
5. Sherlock (Programa de computador). I. Souza, Paulo  
Roberto Eleutério de, orient. II. Título

CDD 574

FÁBIO DE SOUZA ESTEVES COURA FILHO

**USO DOS SISTEMAS CRISPR NO DIAGNÓSTICO DO CÂNCER**

Banca Avaliadora

---

Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza – UFRPE  
Orientador

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nara Suzy de Aguiar Freitas – UFRPE  
Membro Titular

---

Prof Dr Fernanda Cristina Bezerra Leite– UFRPE  
Membro Titular

---

Prof Dr Carlos Fernando Rodrigues Guaraná– UFRPE  
Membro Suplente

RECIFE

2024

## RESUMO

Desde sua descoberta, o sistema CRISPR/Cas9 tem sido utilizado para identificar oncogenes e outros mediadores do câncer. Nesse sentido, tal ferramenta tornou-se relevante para pesquisas oncológicas. O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão da literatura para avaliar e mapear a eficiência do sistema CRISPR-Cas (SHERLOCK e DETECTR) no diagnóstico do câncer considerando a precisão diagnóstica, progressão da doença, taxa de sobrevivência, necessidade de tratamentos agressivos e custos de saúde ao longo do tempo. A revisão contou com pesquisas feitas nas bases de dados: National Library of Medicine (PubMed), Science Magazine, Science Direct e Nature. Os descritores utilizados na pesquisa foram: Diagnostic, CRISPR-Cas, Cancer, Neoplasm, Diagnosis, Diagnostic test, SHERLOCK, DETECTR, Crispr, Detection, Reporter, Cas12, Cas13, Cas12a, Cas13a, C2c2 e Cpf1. Utilizou-se como critérios de inclusão artigos publicados nos últimos 8 anos (2017 a 2024) que se apresentem em português ou inglês. Como critérios de exclusão foram eliminados por título, ou resumo, os estudos que não possuíam coerência com o tema, artigos fora do intervalo temporal, ou que estivessem duplicados. A pesquisa inicial identificou 2057 artigos em diversas bases de dados. Após a exclusão manual dos artigos duplicados e triagem de resumos, 90 artigos passaram para a leitura integral, o que resultou em 15 artigos selecionados para extração de dados. O principal objetivo desses estudos selecionados foi explorar a eficácia e precisão das ferramentas CRISPR para detectar mutações genéticas e biomarcadores associados ao câncer, com ênfase em diagnósticos menos invasivos e personalização de tratamentos. As amostras incluíram DNA genômico de pacientes com câncer, focando na detecção de mutações associadas a diferentes tipos de câncer, como câncer de ovário e mama. Os dados coletados indicaram que, além de melhorar a precisão diagnóstica, esses métodos têm o potencial de impactar positivamente a progressão da doença e a taxa de sobrevivência, reduzindo também a necessidade de tratamentos agressivos e, desta forma, poderão transformar a abordagem atual ao diagnóstico e tratamento do câncer.

**Palavras-chave:** *Diagnóstico do câncer, SHERLOCK, DETECTR, CRISPR-Cas12a, CRISPR-Cas13a e CRISPR-Cas.*

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>6</b>  |
| 1.1 Epidemiologia do câncer.....   | 8         |
| 1.2 Etiologia do câncer.....   | 8         |
| 1.3 Métodos de diagnóstico.....  | 9         |
| 1.4 Sistema CRISPR-Cas.....  | 10        |
| 1.5 Ferramentas de diagnóstico baseadas em CRISPR; SHERLOCK E DETECTR..... | 12        |
| <b>2 METODOLOGIA.....</b>  | <b>14</b> |
| 2.1 Critérios de elegibilidade.....  | 14        |
| 2.2 Fontes de informação e estratégia de busca.....                        | 15        |
| 2.3 Coleta dos dados.....  | 15        |
| 2.4 Análise dos dados.....   | 15        |
| 2.5 Aspectos éticos.....   | 16        |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                       | <b>17</b> |
| 3.1 Seleção dos estudos.....   | 17        |
| 3.2 Características dos estudos.....                                       | 18        |
| <b>4 CONCLUSÃO.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>29</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O tumor é uma proliferação anormal de células, podendo ser classificado como benigno ou maligno. O tumor benigno é aquele localizado, que não invade o tecido normal circundante, nem se espalha para locais distantes do corpo, e geralmente podem ser removidos cirurgicamente. Já o tumor maligno é aquele capaz de invadir o tecido normal circundante e se espalhar por todo o corpo através do sistema circulatório ou linfático (metástase), podendo assim ser chamado de câncer propriamente dito (Cooper, 2000; Klaunig, 2020).

Conforme dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), a estimativa para o triênio 2023- 2025 aponta que ocorrerão 704 mil casos novos de câncer, 483 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma. O câncer de pele não melanoma é estimado como o mais incidente, com 220 mil casos novos (31,3%), seguido pelos cânceres de mama, com 74 mil (10,5%); próstata, com 72 mil (10,2%); cólon e reto, com 46 mil (6,5%); pulmão, com 32 mil (4,6%); e estômago, com 21 mil (3,1%) (INCA, 2022).

O sistema CRISPR-Cas, conhecido por sua capacidade de edição de genes, é baseado no sistema de defesa natural de bactérias, ele utiliza proteínas como a Cas9 para cortar o DNA em locais designados, guiado por uma molécula de RNA. Essa tecnologia tem sido amplamente aplicada na pesquisa genética, tratamento de doenças e, mais recentemente, em diagnósticos médicos, devido à sua alta precisão e eficiência (Pepei et al., 2021). O sistema permite a detecção em tempo real de alterações genéticas associadas ao câncer, utilizando a clivagem dirigida de ácidos nucleicos para gerar sinais que indicam a presença de mutações específicas. Isso torna o CRISPR uma alternativa promissora para diagnósticos não invasivos, como a biópsia líquida, e para o monitoramento da resposta ao tratamento (Nayak et al., 2023).

Recentemente, as tecnologias de edição genética baseadas em CRISPR-Cas, como os sistemas SHERLOCK e DETECTR, surgiram como ferramentas promissoras, oferecendo maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico de mutações associadas ao câncer (Hillary e Ceasar, 2023; Wang et al., 2022).

O intuito do presente estudo foi realizar uma revisão da literatura para avaliar e mapear a eficiência do sistema CRISPR-Cas (SHERLOCK e DETECTR) no diagnóstico do câncer considerando a precisão diagnóstica, progressão da doença, taxa de sobrevivência, necessidade de tratamentos agressivos e custos de saúde ao longo do tempo. Desta forma, utilizamos como pergunta central deste trabalho: “Em pacientes com câncer ou suspeita de câncer, o sistema CRISPR-Cas é uma ferramenta eficiente para o diagnóstico do câncer?”. Com isso, espera-se que o presente estudo contribua para a identificação de novas perspectivas no uso clínico do CRISPR-Cas, ampliando o conhecimento sobre sua aplicabilidade na oncologia moderna.



## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **1.1 Epidemiologia do câncer**

De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, 2022) ocorreram 20 milhões de novos casos de câncer no mundo em 2022 (incluindo cânceres de pele não melanoma (NMSCs), e 9,7 milhões das mortes foram atribuídas ao câncer. Estimativas sugerem que aproximadamente 1 em 5 indivíduos irão desenvolver algum tipo de câncer ao longo da sua vida. E que cerca de 1 em cada 9 homens e 01 em cada 12 mulheres morrem por causa dele. Existem previsões baseadas em demografia indicando que o número de novos casos de câncer chegará a 35 milhões até 2050 (Bray et al., 2024).

No Brasil, na última década, houve um aumento de 20% na incidência de câncer e espera-se que, para 2030, ocorram mais de 25 milhões de casos novos. A estimativa para o triênio de 2023 a 2025 aponta que ocorrerão 704 mil casos novos de câncer, 483 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma. Este é estimado como o mais incidente, com 220 mil casos novos (31,3%), seguido pelos cânceres de mama, com 74 mil (10,5%); próstata, com 72 mil (10,2%); cólon e reto, com 46 mil (6,5%); pulmão, com 32 mil (4,6%); e estômago, com 21 mil (3,1%) casos novos (INCA, 2022). O perfil desta incidência reflete a diversidade das Regiões geográficas, coexistindo padrões semelhantes ao de países desenvolvidos e em desenvolvimento. A vigilância do câncer é um elemento crucial para planejamento, monitoramento e avaliação das ações de controle do câncer (Santos et al., 2023).

### **1.2 Etiologia do câncer**

Embora não exista uma causa claramente definida para todos os tipos de cânceres, está bem documentado que os agentes carcinogênicos contribuem para muitos tipos de câncer em humanos. Estes agentes se enquadram em vários grupos, que podem ser categorizados como infecciosos, químicos, radiação eletromagnética e imunossupressores (HIV e medicamentos imunossupressores).

Além disso, várias centenas de produtos químicos foram demonstrados como carcinogênicos em humanos. (Hill, 2019).

A epigenética, a qual envolve modificações no DNA que afetam a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA, também desempenha um papel importante na carcinogênese, influenciando a maneira como os genes são ativados ou desativados, desta forma, alguns cânceres podem ser evitáveis (Sengupta et al, 2021). O desenvolvimento do câncer raramente pode ser atribuído a uma única causa, a predisposição genética confere riscos significativos para o desenvolvimento de câncer, e este pode ser aumentado pela exposição a carcinógenos, imunossupressores ou causas ambientais/iatrogênicas. (Liu et al., 2021).

### **1.3 Métodos de diagnóstico**

Apesar da relevância mundial do câncer e dos avanços tecnológicos, a taxa de sobrevivência nos pacientes acometidos por essa enfermidade ainda é baixa e, um dos motivos que levam a isso, é o diagnóstico tardio da doença. O método mais comum para diagnóstico do câncer é a biópsia, que se baseia em uma tecnologia de mais de 100 anos, e consiste na análise histológica e citológica de materiais retirados da massa tumoral. Além disso, os exames de imagem comumente utilizados para triagem e diagnóstico (como ultrassom e ressonância magnética) se mostram ineficientes para identificação do câncer em estágios iniciais (Jayanthi et al., 2017).

As células malignas produzem substâncias biológicas e essas podem ser detectadas tanto nas células tumorais como no sangue, na urina ou em outros fluidos corporais, essas substâncias se encontram super expressas devido ao aparecimento e crescimento do câncer. Essas ao serem dosadas podem ser utilizadas para a detecção do câncer e são assim chamadas de biomarcadores (Nazareth et al., 2021). Até o momento, inúmeros biomarcadores já foram identificados para diferentes tipos de câncer, podendo eles serem intracelulares ou extracelulares. Os biomarcadores são considerados confiáveis para o diagnóstico e prognóstico da doença e estão listados em vários bancos de dados de referência de

câncer, como por exemplo o NCBI (National Center for Biotechnology Information). Entre os biomarcadores podemos citar DNA, RNA, hormônios, enzimas, glicoproteínas, glicolípídeos, moléculas do sistema imune, antígenos e oncogenes (Jayanthi et al., 2017).

Um diagnóstico de câncer é propenso a diagnósticos errados e diagnósticos tardios até atingir um estágio avançado. Um diagnóstico tardio pode limitar as opções de terapia disponíveis em comparação a quando o câncer é detectado em seus estágios iniciais. A semelhança nas características físicas entre cânceres comuns e raros muitas vezes resulta no diagnóstico inadequado e impreciso deste último. Notavelmente, as análises moleculares e químicas emergem como mais eficazes para facilitar a detecção precoce da progressão de tumores raros (Christyani et al., 2024).

#### **1.4 Sistema CRISPR-Cas**

O sistema CRISPR (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespçadas, do termo em inglês, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) se tornou ao longo dos anos uma ferramenta promissora para a edição genética (Santos, 2016; Caetano et al., 2019). O locus CRISPR foi descrito pela primeira vez em *Escherichia coli* em 1987, e proteínas associadas ao CRISPR foram identificadas em 2002 (Peipei et al., 2021).

A aplicação da edição do genoma e da engenharia genética promoveu rapidamente o desenvolvimento do sistema CRISPR-Cas. Zhang, em 2013, conseguiu fazer com que CRISPR fosse utilizada em células humanas, e com isso recebeu a primeira patente norte-americana sobre a técnica. Isto demonstrou que o CRISPR é uma técnica que tem um potencial muito grande a ser explorado, devido a ser um método muito preciso, eficiente e possui um custo relativamente menor em comparação às outras técnicas (Santos, 2016; Caetano et al., 2019).

Esta técnica vem sendo explorada por vários laboratórios para editar os genomas e o RNA de diferentes espécies, incluindo *Caenorhabditis elegans*, fungos filamentosos, bactérias, arroz, peixe-zebra, ratos e humanos (Peipei et al., 2021). Além disso, o ensaio baseado em CRISPR/Cas9 foi utilizado para detectar o Zika

vírus em 2016 e, em 2017, foi identificado o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. A nuclease desativada (dCas9) perde a atividade de clivagem do DNA da nuclease Cas9 e retém a capacidade de ligação ao DNA alvo, que facilita o rastreamento de loci específicos de ácido nucleico e a manipulação para detecção de ácido nucleico por uma fusão de domínio de leitura de sinal dCas9/sgRNA (Katti et al., 2022).

Uma de suas aplicações mais relevantes atualmente é no diagnóstico de doenças infecciosas e não infecciosas. Desde sua descoberta inicial, 6 tipos e 22 subtipos de sistemas CRISPR foram descobertos e explorados. Os sistemas CRISPR de diagnóstico são mais frequentemente derivados dos tipos II, V e VI. Diferentes tipos de sistemas CRISPR-Cas que foram identificados em diferentes microrganismos podem ter como alvo o DNA (por exemplo, enzimas Cas9 e Cas12) ou RNA (por exemplo, enzima Cas13). Doenças virais, bacterianas e não infecciosas, como câncer, podem ser diagnosticadas usando a atividade de clivagem das enzimas CRISPR dos tipos acima mencionados (Hillary et al., 2023). Testes de diagnóstico usando enzimas Cas12 e Cas13 já foram desenvolvidos para detecção do vírus SARS-CoV-2 emergente. Além disso, os testes de diagnóstico CRISPR podem ser realizados usando reagentes simples e ensaios de fluxo lateral baseados em papel, o que pode reduzir significativamente os custos laboratoriais e do paciente (Vangah et al, 2020).

O sistema CRISPR/Cas9 também pode ser utilizado para bloquear a resistência a medicamentos, pois pode identificar com sucesso interações genéticas sinérgicas. Alterações na expressão genética pós-tratamento, bem como genes identificados associados à resistência a medicamentos direcionados, podem ser revelados por abordagens de triagem de genoma funcional usando o sistema CRISPR. Isso oferece o potencial de oferecer novos insights sobre o desenvolvimento do câncer com a identificação de novos biomarcadores de terapia de precisão (Tian et al., 2019). Sendo assim, determinar genes sensíveis por meio do uso de diagnósticos genéticos é crucial para a prevenção do câncer. O sistema de diagnóstico baseado em CRISPR SHERLOCK, foi estabelecido e usado com sucesso para tais necessidades (Khambhati et al. 2019).

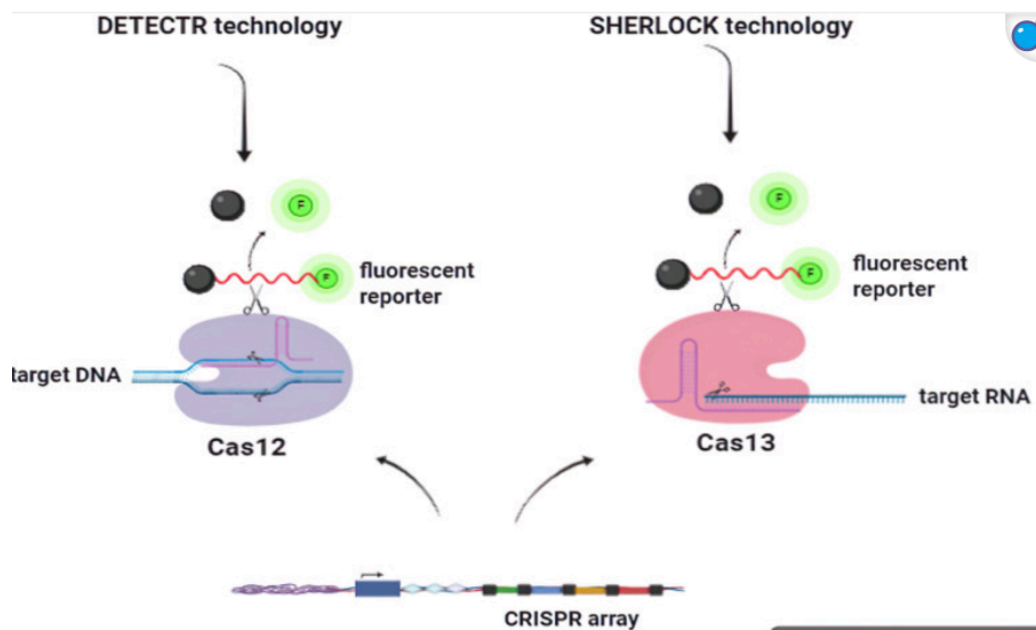
### 1.5 Ferramentas de diagnóstico baseadas em CRISPR; SHERLOCK E DETECTR

As desvantagens associadas às estratégias de diagnóstico atuais, como testes sorológicos e testes baseados em ácido nucleico, levaram os pesquisadores a desenvolver técnicas baseadas em CRISPR, ensaios DETECTR e SHERLOCK, que se distinguem por serem dirigidas ao DNA e RNA, respectivamente (Chen et al., 2019).

Ferramentas de diagnóstico disponíveis comercialmente baseadas em CRISPR

| Sistema/Instrumento de Diagnóstico        | Tipo CRISPR | Empresa de fabricação |
|---|-------------|-----------------------|
| Testes de diagnóstico DETECTR             | V           | Biociências de mamute |
| Testes de diagnóstico SHERLOCK            | VI          | SHERLOCK              |
| Produtos CRISPR/Cas9 para edição genética | II          | Sigma-Aldrich         |

O SHERLOCK é amplamente utilizado em muitas áreas. No campo médico, pode ser usado para detectar doenças como infecção pelo ZIKA vírus. Também pode medir a carga viral, distinguir entre diferentes cepas e até diferenciar as cepas do Zika de Honduras, da República Dominicana e dos Estados Unidos. Além disso, é usado para genotipagem do DNA humano e identificação de mutações de câncer de baixa frequência no DNA livre de células. Na agricultura, é aplicado na detecção de patógenos em genomas de animais e plantas, como os genes de resistência ao glifosato na soja. Em termos de proteção ambiental, o SHERLOCK pode detectar metais pesados e outras substâncias prejudiciais. A tecnologia também começou a ser usada para COVID-19 (Cheng, 2024).



Atividade de clivagem de Cas12 e Cas13. Na tecnologia DETECTR, após ligar o complexo Cas12-crRNA ao seu alvo (dsDNA), a atividade de nuclease colateral do Cas12 leva à clivagem da molécula repórter de forma não específica, após a qual o sinal fluorescente é detectável. Na tecnologia SHERLOCK, Cas13a guiado pelo único RNA CRISPR (crRNA) para clivar ssRNA ou mRNA e o mesmo processo ocorre (Vangah et al, 2020).

No entanto, a abordagem baseada em CRISPR tem mais algumas vantagens sobre qRT-PCR, incluindo tempo de resposta rápido, amplificação de sinal isotérmica que evita a necessidade de termociclagem, especificidade de alvo de nucleotídeo único, incluindo tiras de fluxo lateral (Huang, 2018). O DETECTR é vendido pela Mammoth Biosciences, e seus kits de diagnóstico são programáveis para uma ampla gama de infecções virais e bacterianas, bem como diagnóstico de câncer (Mammoth Biosciences, 2020).

## 2 METODOLOGIA

O estudo foi conduzido de acordo com a metodologia proposta pelo Joanna Briggs Institute (JBI) para revisões de escopo e seu relato seguiu as recomendações propostas pelas diretrizes estabelecidas pelo Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR). O PRISMA constitui um conjunto padronizado de itens baseado em evidências, projetado para auxiliar pesquisadores na elaboração de relatórios claros e abrangentes em revisões sistemáticas, de escopo e meta-análises. Essas diretrizes são amplamente reconhecidas por sua utilidade na avaliação dos benefícios e potenciais danos de intervenções na área da saúde (<https://www.prisma-statement.org/>)

### 2.1 Critérios de elegibilidade

Foram considerados elegíveis para o estudo: 1) estudos que utilizaram as ferramentas CRISPR SHERLOCK e DETECTR para o diagnóstico de câncer; 2) estudos que abordavam a detecção de ácido nucleico para testes de diagnóstico e prognóstico baseados em CRISPR com possível aplicação na detecção de câncer.

Os critérios de exclusão aplicados consistiram em filtros adicionais para eliminar estudos que não tratavam do diagnóstico de câncer, como aqueles focados em tratamento, bem como estudos que não envolviam as tecnologias SHERLOCK, DETECTR, CRISPR-Cas12a e CRISPR-Cas13a.

Não foram aplicadas restrições de idioma e o período de publicação foi definido entre 2017 a 2024. Os estudos selecionados foram agrupados com base na metodologia empregada, tipos de amostras testadas, especificidade e sensibilidade dos testes diagnósticos, permitindo uma visão abrangente e comparativa dos resultados encontrados na literatura.

## **2.2 Fontes de informação e estratégia de busca**

Foi realizada uma busca de forma independente seguindo os critérios de seleção estabelecidos pelo guia de orientação PRISMA-2020. As buscas de estudos foram realizadas em seis bases de dados principais: PubMed, Sciencedirect, Nature, Science e Scielo.

As estratégias de busca foram elaboradas inicialmente utilizando os descritores "Cancer", "Diagnostic test" e "CRISPR cas". Posteriormente, durante a triagem e seleção dos estudos, foram incluídos filtros adicionais, como "SHERLOCK", "DETECTR", "CRISPR-Cas12a" e "CRISPR-Cas13a", assim como sinônimos relacionados: "cancer", "diagnosis", "teste de diagnóstico", "SHERLOCK", "DETECTR", "diagnóstico", "CRISPR" e "detecção". Estes descritores e seus sinônimos garantiram uma abrangência nas buscas, permitindo identificar estudos relevantes para o diagnóstico de câncer utilizando as tecnologias CRISPR mencionadas.

## **2.3 Coleta dos dados**

O processo de seleção para a pesquisa incluiu hierarquicamente um procedimento de coleta de dados em três etapas para identificar os estudos relevantes: (1) análise e seleção utilizando descritores; (2) análise e seleção da leitura dos resumos; e (3) análise e seleção pela leitura completa dos textos elegíveis.

## **2.4 Análise dos dados**

A seleção dos estudos incluídos passou por três etapas: leitura dos títulos e resumos dos estudos incluídos após a exclusão das duplicatas; leitura na íntegra de todos os estudos que atenderam aos critérios de elegibilidade (Uso dos Sistemas CRISPR no diagnóstico do Câncer); e busca em todas as referências dos artigos incluídos na etapa anterior para identificar artigos que pudessem atender aos critérios de inclusão por meio de descritores.



Os descritores utilizados no processo de triagem e leitura dos artigos foram relacionados ao diagnóstico de câncer e à tecnologia CRISPR adaptada ao idioma inglês, já que todos os artigos estavam nesse idioma; Diagnostic, CRISPR-Cas, Cancer, Neoplasm, Diagnosis, Diagnostic test, SHERLOCK, DETECTR, Crispr, Detection, Reporter, Cas12, Cas13, Cas12a, Cas13a, C2c2 e Cpf1.

## **2.5 Aspectos éticos**

Por se tratar de um estudo com fonte de dados secundárias e que analisa evidências de estudos primários, não foi necessário submeter ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Seleção dos estudos

A varredura inicial nos bancos de dados de publicações sobre câncer e CRISPR retornou 2057 artigos potencialmente elegíveis nas bases de pesquisa, sendo distribuídos da seguinte forma: PubMed Central: 19; Science direct: 1628; Nature: 230; Science: 180; e Scielo: 0. O diagrama dos dados da seleção dos estudos é mostrado na Figura 1. Posteriormente, houve a exclusão de 185 artigos duplicados de forma manual, restando 1872. Assim, 90 artigos foram potencialmente elegíveis para inclusão na triagem de resumos. Após a triagem de resumos, 69 artigos foram excluídos, restando 21 artigos para serem lidos integralmente. Destes, 6 foram excluídos por não abordarem conceitos relevantes para o alcance dos objetivos da revisão, restando 15 artigos para extração de dados.

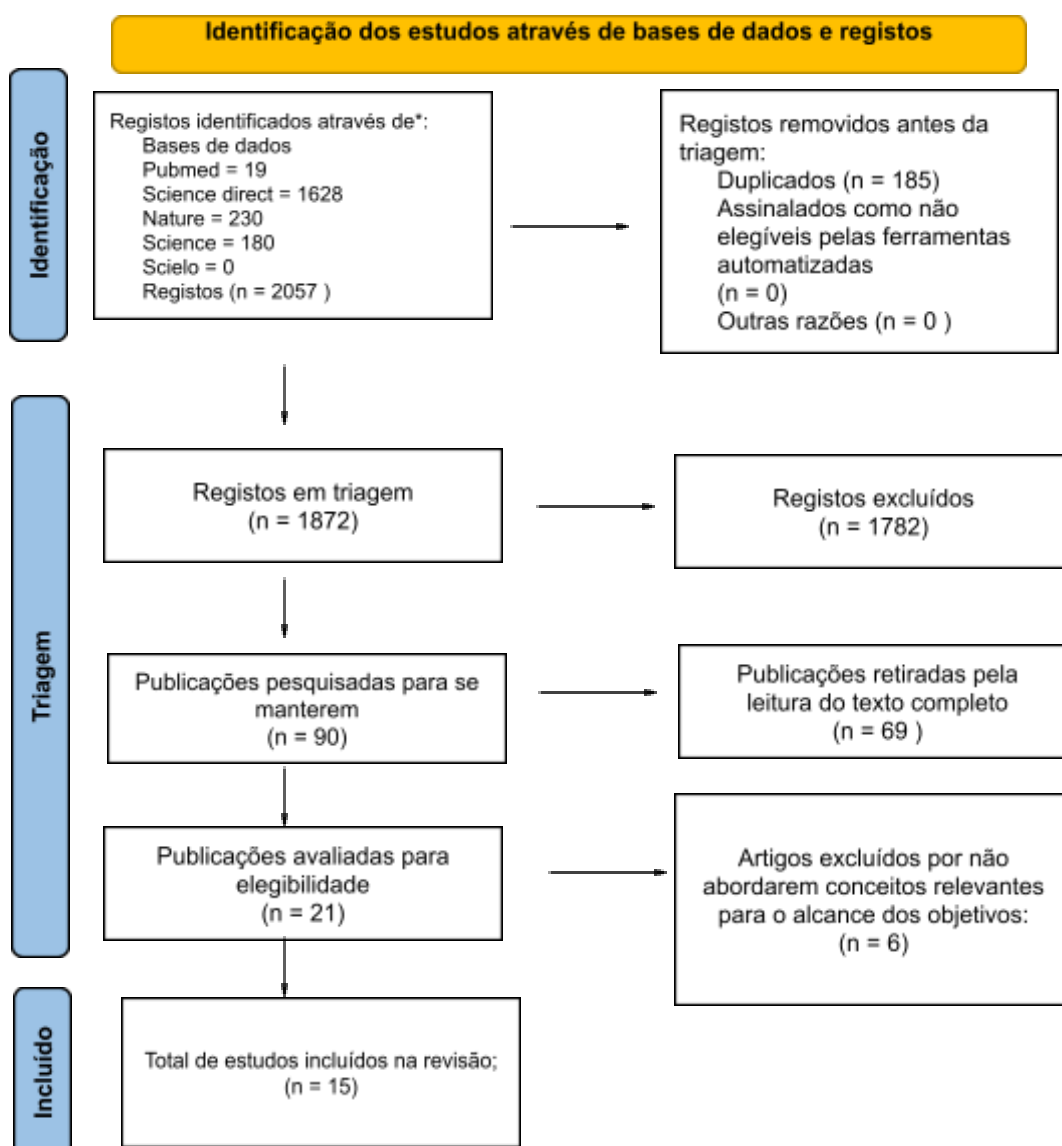


Figura 1. Fluxograma do processo de seleção dos estudos adaptado do PRISMA.  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

### 3.2 Características dos estudos

Os artigos incluídos neste estudo foram conduzidos em diferentes países: 05 nos Estados Unidos, 04 na Índia, 02 no Irã, 02 na China, 01 em Singapura e 01 na Holanda, sendo publicados entre 2017 e 2024 (Gráfico 1). A maioria utilizou métodos avançados de detecção genética e explorou as potencialidades diagnósticas de sistemas CRISPR para monitoramento em tempo real e medicina personalizada, destacando as inovações em precisão diagnóstica. As amostras incluídas eram tanto de DNA genômico de pacientes com câncer, como de células de linhas específicas, todas com foco na detecção de mutações associadas a diferentes tipos de câncer, como câncer de ovário e mama.

Dos 15 artigos analisados, 07 foram de estudos experimentais focados no diagnóstico e terapia do câncer, e utilizaram tecnologias de edição genética como SHERLOCK e DETECTR; 08 eram artigos de revisões sistemáticas, sobre o uso dessas ferramentas no estudo da biologia do câncer; e em 01 estudo foi proposto a metodologia para o uso de sistemas CRISPR em detecção ultra sensível de mutações.

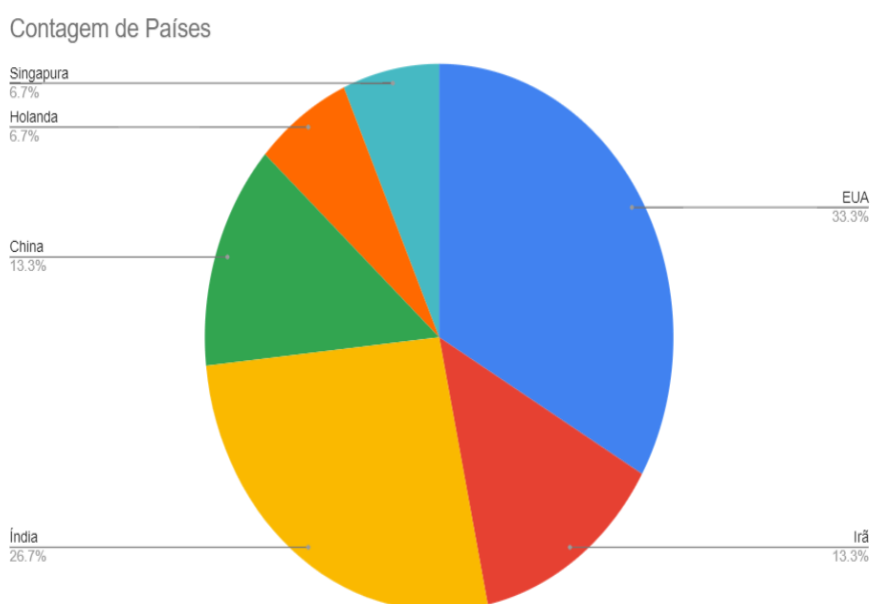


Gráfico 1. Distribuição dos artigos publicados entre 2017 e 2024 relacionados com o uso da tecnologia CRISPR Cas para o diagnóstico de câncer. Fonte: O autor.

A Tabela 2 mostra um compêndio dos 15 artigos selecionados no presente estudo que investigaram o uso de tecnologias CRISPR-Cas, como SHERLOCK e DETECTR, no diagnóstico e tratamento do câncer. As conclusões destacam o potencial dessas tecnologias para melhorar a detecção precoce de doenças e a abordagem clínica.

Tabela 2. Artigos selecionados que exploram a versatilidade dos sistemas CRISPR-Cas na detecção e monitoramento de mutações associadas ao câncer, destacando sua capacidade de aperfeiçoar o diagnóstico molecular e clínico, período de 2017 a 2024.

| Autor/Ano             | País | Tipo de Estudo        | Base de dados | Objetivo   | Conclusão   |
|-----------------------|------|-----------------------|---------------|--|---|
| Kaminski et al., 2021 | EUA  | Pesquisa experimental | Nature        | Investigar a eficiência dos diagnósticos CRISPR para detecção de RNA relevante para doenças, incluindo câncer.                       | Os diagnósticos CRISPR são eficazes na detecção de mRNA e miRNAs associados ao câncer e outras doenças, demonstrando alta sensibilidade e especificidade, com potencial de uso na medicina personalizada. |
| Ahmadi et al., 2023   | Irã  | Pesquisa experimental | Nature        | Explorar o uso de CRISPR-Cas9 para detecção de mudanças na sequência do câncer e detecção de mutações como TP53 em câncer de ovário. | CRISPR-Cas9 detectou mutações com alta precisão e sensibilidade, mostrando-se superior aos métodos tradicionais e apresentando-se como ferramenta promissora para diagnósticos menos invasivos.           |
| Katti et al., 2022    | EUA  | Revisão               | Nature        | Revisar o uso do CRISPR para diagnóstico e tratamento do câncer, incluindo   | CRISPR é uma ferramenta poderosa para estudo da biologia do câncer e desenvolvimento de   |

| Autor/Ano                | País  | Tipo de Estudo        | Base de dados  | Objetivo  | Conclusão   |
|--------------------------|-------|-----------------------|----------------|---|---|
|                          |       |                       |                | knockout de genes e triagem de mutações.  | terapias, possibilitando a identificação de alvos terapêuticos e vulnerabilidades genéticas.  |
| Shi et al., 2021         | EUA   | Pesquisa experimental | Science        | Desenvolver o sistema CONAN, uma rede de amplificação autocatalítica baseada no sistema CRISPR-Cas12a, para diagnósticos ultrasensíveis de DNA. | O sistema CONAN mostrou-se altamente eficaz na detecção de mutações somáticas associadas ao câncer, com sensibilidade até seis ordens de magnitude superiores ao sistema Cas12a convencional, detectando concentrações de DNA tão baixas quanto 5,0 aM. |
| Gootenberg et al., 2017  | EUA   | Pesquisa experimental | Science        | Introduzir o sistema SHERLOCK para detecção de ácidos nucleicos com alta sensibilidade e especificidade.  | O SHERLOCK foi capaz de detectar mutações associadas ao câncer em concentrações muito baixas, demonstrando alta precisão e potencial para diagnósticos moleculares e genotipagem.   |
| Zhang et al., 2021       | EUA   | Revisão               | Science Direct | Explorar a eficiência dos sistemas CRISPR-Cas na detecção de mutações relacionadas ao câncer.   | Os sistemas SHERLOCK e DETECTR demonstraram alta precisão na detecção de mutações em DNA e RNA, indicando seu potencial para diagnósticos clínicos de câncer.   |
| Sornambikai et al., 2023 | Índia | Revisão               | Science Direct | Revisar o potencial dos biossensores CRISPR-Cas para detecção precoce de biomarcadores do   | Biossensores CRISPR-Cas13a detectaram miRNA-21 com alta sensibilidade,  |

| Autor/Ano           | País  | Tipo de Estudo        | Base de dados  | Objetivo   | Conclusão  |
|---------------------|-------|-----------------------|----------------|--|--|
|                     |       |                       |                | câncer de mama.  | superando métodos convencionais, e mostraram potencial para diagnósticos clínicos rápidos e acessíveis.  |
| Anitha et al., 2024 | Índia | Revisão               | Science Direct | Investigar o uso de ferramentas CRISPR-Cas no diagnóstico do câncer bucal.   | A tecnologia CRISPR-Cas tem o potencial de revolucionar o diagnóstico oncológico, permitindo a detecção precoce de lesões malignas e potencialmente malignas, com alta precisão, sensibilidade e especificidade.                   |
| Nayak et al., 2023  | Índia | Pesquisa experimental | Science Direct | Explorar o potencial do sistema CRISPR-Cas e células T CAR projetadas no diagnóstico e tratamento de câncer de mama triplo-negativo. | CRISPR-Cas pode revolucionar o diagnóstico e tratamento de TNBC, com grande potencial para ser uma ferramenta padrão no diagnóstico clínico, apesar dos desafios como efeitos fora do alvo e entrega eficiente de reagentes.       |
| Zhou et al., 2024   | China | Revisão               | Science Direct | Explorar as tendências e desafios das estratégias de detecção de ácido nucleico utilizando CRISPR/Cas.                               | Estratégias de detecção baseadas em CRISPR/Cas, como CPNVQVBC e ECL, são promissoras para o diagnóstico do câncer devido à sua alta precisão e sensibilidade, permitindo a quantificação de mutações de câncer em amostras de DNA. |

| Autor/Ano           | País    | Tipo de Estudo        | Base de dados | Objetivo   | Conclusão  |
|---------------------|---------|-----------------------|---------------|--|--|
| Yang & Zhang, 2023  | China   | Revisão               | Pubmed        | Explorar a versatilidade do sistema CRISPR/Cas para triagem, diagnóstico e tratamento clínico do câncer.             | CRISPR/Cas oferece novas esperanças para a triagem, diagnóstico precoce e tratamento clínico do câncer, com potencial para revolucionar o diagnóstico oncológico, destacando tecnologias como CRISPR/Cas13 para detecção precoce de biomarcadores. |
| Shariq et al., 2023 | Índia   | Revisão               | Pubmed        | Revisar abordagens diagnósticas baseadas em CRISPR-Cas para detecção de doenças, incluindo câncer.                   | Ferramentas CRISPR-Cas têm potencial para transformar o diagnóstico do câncer, oferecendo soluções rápidas, acessíveis e de fácil implementação, com alta sensibilidade e especificidade.  |
| Riet et al., 2022   | Holanda | Pesquisa experimental | Pubmed        | Investigar a expressão diferencial de CRISPRs no genoma humano entre tecidos malignos e normais adjacentes ao tumor. | hCRISPRs são expressos diferencialmente entre tecidos malignos e normais, sugerindo seu potencial como biomarcadores no diagnóstico do câncer, com oportunidades para desenvolver testes de ponto de atendimento acessíveis e eficazes.            |
| Vangah et al., 2020 | Irã     | Revisão               | Pubmed        | Explorar a aplicação do sistema CRISPR/Cas9 como ferramenta diagnóstica para câncer e outras doenças.                | CRISPR/Cas9 é uma ferramenta promissora para diagnóstico precoce e preciso de câncer, com potencial para revolucionar a abordagem de   |

| Autor/Ano             | País      | Tipo de Estudo        | Base de dados | Objetivo  | Conclusão  |
|-----------------------|-----------|-----------------------|---------------|---|--|
|                       |           |                       |               |   | diagnóstico em diversas condições médicas, incluindo a identificação de biomarcadores de terapia de precisão.  |
| Aggarwal et al., 2023 | Singapura | Pesquisa experimental | Pubmed        | Avaliar a eficiência do método FELICX para detecção de ácidos nucleicos livres de células no soro como biomarcadores de câncer. | O sistema FELICX, utilizando CRISPR-Cas12, é uma ferramenta eficiente para diagnóstico do câncer, oferecendo alta especificidade e sensibilidade, permitindo a detecção rápida e não invasiva de biomarcadores de câncer em fluidos corporais. |

Fonte: Elaboração do autor (2024).

O CRISPR-DS (CRISPR Duplex Sequencing) é uma técnica que combina o sistema CRISPR-Cas9 com o sequenciamento duplex para detectar mutações genéticas com alta precisão e sensibilidade. Quando pareado com sequenciamento duplex que incorpora códigos de barras de DNA de fita dupla para evitar erros no sequenciamento, a fragmentação mediada por Cas9 permite o sequenciamento direcionado de regiões genômicas mesmo com muito pouca entrada de DNA (denominado CdCas9/sgRNA para detecção de mutações p53 em tumores ovarianos). Isso possibilita a identificação precisa de mutações em genes críticos, como o TP53, com alta sensibilidade, facilitando o diagnóstico precoce e a análise de amostras de biópsia líquida (Sung et al., 2021; Katti et al., 2022).

Métodos como DETECTR, HOLMES e SHERLOCK utilizam amplificação isotérmica, como RPA e LAMP, ao invés de PCR convencional, permitindo a detecção de DNA em concentrações extremamente baixas, até  $10^{-18}$  mol/L, sem a necessidade de ciclos térmicos. Essas inovações têm gerado grande interesse na comunidade científica pela sua eficiência e praticidade (Kaminski et al., 2021).



A fragmentação de DNA direcionada por CRISPR–Cas9 pode ser usada como um meio de localizar as mudanças na sequência específica do câncer. Por exemplo, CRISPR/Cas9 pode detectar sequências de microssatélites, chamadas repetições curtas em tandem (STRs), que podem servir como marcadores de câncer. Em comparação, o sequenciamento de STR mediado por CRISPR/Cas9 é capaz de analisar com precisão e sensibilidade mais de 2000 STRs em paralelo (Ahmadi et al., 2023).

Ahmadi et al. e Katti et al. concentraram-se na detecção de mutações específicas do câncer utilizando tecnologias como CRISPR-DS, SHERLOCK e DETECTR. Kaminski et al. exploraram diagnósticos baseados em CRISPR para detecção de miRNAs e mRNAs em doenças como o câncer e rejeição de transplante. Gootenberg et al. (2017) utilizaram o sistema SHERLOCK, baseado em Cas13a, na detecção altamente sensível de mutações como EGFR L858R e BRAF V600E em amostras de cfDNA (DNA livre circulante é o DNA que circula livremente no plasma sanguíneo, fora das células, e pode se originar de várias fontes, incluindo células normais, tumorais, fetais, ou células que morreram por apoptose ou necrose), mesmo em concentrações alélicas tão baixas quanto 0,1% do DNA total. A robustez do SHERLOCK demonstrou o potencial dessa tecnologia para diagnósticos precisos e acessíveis em contextos clínicos e de pesquisa.

Zhang et al. (2021) ampliaram essa discussão ao abordar como os sistemas CRISPR-Cas12 e Cas14, além do Cas13, oferecem plataformas robustas para a detecção de DNA e RNA, respectivamente. Esses métodos, como DETECTR e HOLMES, utilizam atividades colaterais de clivagem de ácidos nucleicos para detecção de mutações com alta precisão. A descoberta do Cas14, com especificidade para DNA de fita simples sem exigência de sequência PAM, amplia ainda mais o espectro de diagnósticos moleculares possíveis com CRISPR. Por outro lado, Sornambikai et al. (2023) focaram na aplicação de biossensores CRISPR para a detecção precoce de biomarcadores de câncer de mama. Usando o sistema CRISPR-Cas13a, os autores demonstram uma detecção ultrasensível de miRNAs, como o miRNA-21, crucial para o prognóstico do câncer de mama. A capacidade de detectar concentrações de até 2,6 fM de miRNA supera significativamente métodos convencionais, sugerindo que esses biossensores podem se tornar ferramentas de diagnóstico de próxima geração.

Anitha et al. (2024) exploraram o uso de CRISPR no diagnóstico do câncer bucal, focando na expressão diferencial de biomarcadores bacterianos associados à microbiota oral. O estudo destaca a importância do DNA bacteriano circulante (cbDNA) como biomarcador para a detecção precoce de câncer bucal, sugerindo que a diferença entre o microbioma normal e o tumoral pode ser explorada para desenvolver métodos diagnósticos robustos.

Nayak et al. (2023) discutem avanços no tratamento de câncer de mama triplo-negativo (TNBC), combinando CRISPR-Cas com células T CAR projetadas para detecção e eliminação de células cancerígenas resistentes. Apesar dos desafios, como efeitos fora do alvo e variabilidade genética, a integração de nanotecnologia e biologia molecular oferece uma visão promissora para tratamentos personalizados e detecção precisa de mutações associadas ao TNBC.

Zhou et al.(2024) revisaram as tendências e desafios na detecção de ácidos nucleicos usando CRISPR/Cas, enfatizando o sistema que utiliza CRISPR/Cas12a acoplado a "nanorepórteres" de platina para quantificação visual de múltiplas mutações de câncer em amostras de DNA. A abordagem por eletroquimioluminescência combinada com CRISPR/Cas12a mostrou-se eficaz para a detecção precisa de mutações, sugerindo que essas tecnologias podem facilitar diagnósticos de câncer mais acessíveis e precisos. Yang & Zhang (2023) discutiram a versatilidade do CRISPR/Cas na triagem, diagnóstico e tratamento clínico do câncer. Tecnologias como CRISPR/Cas13 foram destacadas por sua capacidade de detecção precoce de biomarcadores em biópsias líquidas, oferecendo métodos inovadores e não invasivos. A introdução do sistema que utiliza Cas12a para detectar mutações genéticas em amostras de câncer de forma conveniente, específica e rápida, com alta sensibilidade (0,001%) e em menos de uma hora.

Dentre as diversas ferramentas baseadas em CRISPR, os sistemas SHERLOCK e DETECTR se destacam por sua alta sensibilidade e especificidade na detecção de biomarcadores tumorais. Estudos recentes, como os de Kaminski et al. (2021) e Gootenberg et al. (2017), demonstram a eficácia desses sistemas na detecção de RNA e DNA associados ao câncer, respectivamente. Além disso, o sistema CONAN, desenvolvido por Shi et al. (2021) é uma rede de amplificação somente CRISPR-Cas, que atua junto de um circuito de ácido nucleico catalítico alimentado por CRISPR-Cas para diagnósticos de ácido nucleico ultrasensíveis, apresentou sensibilidade até seis ordens de magnitude superior ao sistema Cas12a

convencional, detectando concentrações de DNA tão baixas quanto 5.0 aM (attomolar).

A versatilidade dos sistemas CRISPR-Cas é evidenciada pela sua aplicação em diferentes tipos de câncer e pela possibilidade de detecção multiplexada. Estudos como o de Aggarwal et al. (2023) demonstram a capacidade do sistema FELICX em detectar biomarcadores de câncer em amostras de soro, abrindo caminho para diagnósticos não invasivos. Adicionalmente, a pesquisa de Riet et al. (2022) revelou o potencial dos hCRISPRs como biomarcadores para o diagnóstico de câncer, ampliando ainda mais as aplicações dessa tecnologia.

Em conjunto, esses estudos demonstram que os sistemas SHERLOCK e DETECTR, juntamente com outras ferramentas baseadas em CRISPR-Cas, oferecem uma nova era de diagnósticos moleculares para o câncer. A alta sensibilidade, especificidade e rapidez desses sistemas, aliadas à sua versatilidade, permitem a detecção precoce de doenças, a personalização do tratamento e a melhoria dos resultados para os pacientes

Uma vantagem significativa do SHERLOCK e do DETECTR é que eles podem ser concluídos mais rapidamente do que os testes de RT-PCR (~ 30 min versus > 1 h) devido ao uso de tecnologias de amplificação isotérmica, pois esses métodos não necessitam de desnaturação do DNA. Além disso, ambos os testes podem ser adaptados para detecção por meio do uso de varetas de fluxo lateral, tornando desnecessários os equipamentos volumosos de termociclagem e/ou detecção. A redução do tempo de resposta e os requisitos limitados de equipamento tornam os diagnósticos CRISPR candidatos cada vez mais eficazes para ensaios de diagnóstico rápido (Vangah et al, 2020).

Zhou et al. (2024) discutem as dificuldades na aplicação prática dos sistemas CRISPR, como a variabilidade entre diferentes amostras e a complexidade técnica envolvida. Apesar do grande potencial, há desafios a serem superados, como a eficácia da entrega de produtos CRISPR-Cas às células tumorais e a necessidade de conhecer claramente as características do organismo para prevenir danos genéticos.

Aprovações regulatórias para tratamentos que utilizam esta tecnologia também estão em preparação. No entanto, a investigação e o desenvolvimento contínuos neste campo prometem levar a ferramentas de diagnóstico novas e melhoradas que combinem o CRISPR-Cas com outras tecnologias, como a

nanotecnologia e a inteligência artificial, para revolucionar a oncologia e melhorar o método de se obter o resultado dos pacientes (Vangah et al., 2020).

## 4 CONCLUSÃO

Comparado aos métodos tradicionais de diagnóstico, os sistemas CRISPR-Cas são mais sensíveis e específicos, fornecem resultados mais rápidos e têm o potencial de reduzir os custos dos testes diagnósticos. Além disso, essas plataformas são versáteis, podendo ser adaptadas para detectar uma ampla gama de biomarcadores, incluindo mutações genéticas, expressão de genes e a presença de patógenos.

A eficácia a longo prazo e a aceitação generalizada desses métodos dependem da superação de desafios, como a entrega eficiente dos sistemas nas células tumorais e a realização de mais estudos clínicos. O impacto da tecnologia CRISPR-Cas transcende as fronteiras da saúde individual, trazendo implicações significativas para a saúde pública e a sociedade como um todo.

No entanto, para que os benefícios da tecnologia sejam equitativamente distribuídos, é essencial que políticas públicas promovam a acessibilidade das inovações, garantindo que todos os pacientes, independentemente de sua localização geográfica ou condição socioeconômica, tenham acesso a essas novas oportunidades de diagnóstico e tratamento.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, T. R. *et al.* **Development of CRISPR as an Antiviral Strategy to Combat SARS-CoV-2 and Influenza.** *Cell*, 2020, v. 181, n. 4, p. 865–876.

AGGARWAL, N. *et al.* **FELICX: a robust nucleic acid detection method using flap endonuclease and CRISPR-Cas12.** *Biosensors and Bioelectronics*, v. 222, p. 115002, 15 fev. 2023. DOI 10.1016/j.bios.2022.115002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36527830/>. Acesso em: 19 ago. 2024.

AROMATARIS, E. *et al.* **JBIManual for Evidence Synthesis.** JBI, 2024. DOI 10.46658/JBIMES-24-01. Disponível em: <https://synthesismanual.jbi.global>. Acesso em: 30 jul. 2024.

AHMADI, S. E. *et al.* **Viral vectors and extracellular vesicles: innate delivery systems utilized in CRISPR/Cas-mediated cancer therapy.** *Cancer Gene Therapy*, v. 30, p. 936-954, 2023. DOI 10.1038/s41417-023-00597-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41417-023-00597-z>. Acesso em: 04 set. 2024.

ANITHA, P.; PARAMASIVAM, A.; VIJAYASHREE PRIYADHARSINI, J. **Evolution of CRISPR technology and its implications in oral cancer diagnosis.** *Oral Oncology Reports*, v. 10, p. 100403, 2024. DOI 10.1016/j.oor.2024.100403. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772906024002498?via%3Dihub>. Acesso em: 09 ago. 2024.

BARBA, D. *et al.* **Câncer de mama, ferramentas de rastreamento e diagnóstico: tudo o que você precisa saber.** *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 157, p. 103174, 2021.

BRAY, F. *et al.* **Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.** *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 74, n. 3, p. 229-263, maio/jun. 2024. DOI 10.3322/caac.21834. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21834>. Acesso em: 07 ago. 2024.

CABRAL, B. P.; FONSECA, M. G. D.; MOTA, F. B. **What is the future of cancer care?** A technology foresight assessment of experts' expectations. *Economics of Innovation and New Technology*, v. 28, p. 635-652, 2018.

CAETANO, G. C. G. *et al.* **Técnica CRISPR-CAS9 e sua utilização na área laboratorial.** *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research (BJSCR)*, v. 25, n. 2, p. 96-99, dez. 2018/fev. 2019.

CANCER Causes and Prevention Research. **National Cancer Institute**, 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention>. Acesso em: 24 ago. 2024.

CAO, M. *et al.* **Progress and challenges in the treatment of cancer:** Experiences from clinical trials and perspectives from the field. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, v. 147, n. 8, p. 2007-2018, 2021.

CECCHETELLI, Alyssa. **Finding nucleic acids with SHERLOCK and DETECTR.** *Addgene Blog*, 16 abr. 2020. Disponível em: <https://blog.addgene.org/finding-nucleic-acids-with-sherlock-and-detectr>. Acesso em: 27 ago. 2024.

CHEN, J. S. *et al.* **CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity.** *Science*, 2018, v. 360, n. 6387, p. 436–439.

CHEN, S. *et al.* **Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050.** *JAMA Oncology*, v. 9, n. 4, p. 465–472, 2023. DOI 10.1001/jamaoncol.2022.7826. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncol/fullarticle/2801798>. Acesso em: 15 ago. 2024.

CHENG, Xinrui; PAN, Yan; WU, Xiaoling. **Comparisons and applications of SHELOCK, DETECTR, CRISPR typing PCR.** *Proceedings of the SPIE. Third International Conference on Biological Engineering and Medical Science*, v. 12924, 2024. DOI 10.1117/12.3013133. Disponível em: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/12924/3013133/Co>

[mparisons-and-applications-of-SHELOCK-DETECTR-CRISPR-typing-PCR/10.1117/12.3013133.short](#). Acesso em: 24 set. 2024.

CHERTOW, D. S. **Next-generation diagnostics with CRISPR**. *Science*, v. 360, n. 6387, p. 381–382, 2018. DOI 10.1126/science.aat4982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29700254/>. Acesso em: 09 set. 2024.

CHRISTYANI, G. *et al.* **An overview of advances in rare cancer diagnosis and treatment**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, p. 1201, 2024. DOI 10.3390/ijms25021201. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/2/1201>. Acesso em: 07 ago. 2024.

CHRZANOWSKA, N. M.; KOWALEWSKI, J.; LEWANDOWSKA, M. A. **Uso de Hibridização In Situ de Fluorescência (FISH) no Diagnóstico e Terapias Personalizadas em Tumores Sólidos**. *Molecules*, v. 25, p. 1864, 2020.

CLARO, I. B.; LIMA, L. D.; ALMEIDA, P. F. **Diretrizes, estratégias de prevenção e rastreamento do câncer do colo do útero: as experiências do Brasil e do Chile**. *Ciências & Saúde Coletiva*, v. 26, n. 10, Out. 2021. DOI 10.1590/1413-812320212610.11352021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/ryPf33LvS6k5yJMqYMSSPPd/?lang=pt>. Acesso em: 09 set. 2024.

DA SILVA, M. J. S.; O'DWYER, G.; OSORIO-DE-CASTRO, C. G. S. **Cancer care in Brazil: structure and geographical distribution**. *BMC Cancer*, v. 19, p. 987, 2019. DOI 10.1186/s12885-019-6190-3. Disponível em: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-019-6190-3>. Acesso em: 15 ago. 2024.

DABEER, S.; KHAN, M. M.; ISLAM, S. **Diagnóstico de câncer em imagem histopatológica: abordagem baseada em CNN**. *Unlocked*, v. 16, p. 100231, 2019.

DIAGNOSTICS - The CRISPR-based detection platform. **Mammoth Biosciences**, 2020. Disponível em: <https://mammoth.bio/diagnostics/>. Acesso em: 25 jul. 2024.



GONZALEZ, H.; HAGERLING, C.; WERB, Z. **Roles of the immune system in cancer**: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes & Development*, v. 32, n. 19-20, p. 1267-1284, 2018. DOI 10.1101/gad.314617.118. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30275043/>. Acesso em: 09 set. 2024.

GOOTENBERG, Jonathan S. *et al.* **Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2**. *Science*, v. 356, p. 438-442, 2017. DOI 10.1126/science.aam9321. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28408723/>. Acesso em: 25 jul. 2024.

HALICEK, M. *et al.* **Detecção de câncer de cabeça e pescoço em histologia digitalizada de lâmina inteira usando redes neurais convolucionais**. *Scientific Reports*, v. 9, p. 14043, 2019.

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R.A. **Hallmarks of cancer**: the next generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011. DOI 10.1016/j.cell.2011.02.013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376230/>. Acesso em: 17 jul. 2024.

HAUSMAN, D. M. **What Is Cancer?** *Perspect Biol Med.*, v. 62, n. 4, p. 778–784, 2019. DOI 10.1353/pbm.2019.0046. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761807/>. Acesso em: 18 jul. 2024.

HILL, B. T. **Etiologia do câncer**. *Oncologia Oftálmica Clínica*. p. 11–17, 2019. DOI 10.1007/978-3-030-04489-3\_2. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-04489-3\\_2#citeas](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-04489-3_2#citeas). Acesso em: 07 ago. 2024.

HILLARY, V.E.; CEASAR, S.A. **A review on the mechanism and applications of CRISPR/Cas9/Cas12/Cas13/Cas14 proteins utilized for genome engineering**. *Molecular Biotechnology*, v. 65, p. 311–325, 2023. DOI 10.1007/s12033-022-00567-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12033-022-00567-0>. Acesso em: 19 jul. 2024.

HINSHAW, D. C.; SHEVDE, L. A. **The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression**. *Cancer Research*, v. 79, n. 18, p. 4557-4566, 2019. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-18-3962. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31350295/>. Acesso em: 07 ago. 2024.

HUANG, C. H.; LEE, K. C.; DOUDNA, J. A. **Applications of CRISPR-Cas Enzymes in Cancer Therapeutics and Detection**. *Trends Cancer*, 2018, v. 4, n. 7, p. 499–512.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Ministério da Saúde: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 18 jul. 2024.

JAYANTHI, V. S. A.; DAS, A. B.; SAXENA, U. **Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers**. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 91, p. 15–23, 2017.

JOLANY VANGAH, S. *et al.* **CRISPR-based diagnosis of infectious and noninfectious diseases**. *Biological Procedures Online*, v. 22, n. 1, p. 24, nov. 2020

KAMINSKI, M.M. *et al.* **CRISPR-based diagnostics**. *Nature Biomedical Engineering*, v. 5, p. 643–656, 2021. DOI 10.1038/s41551-021-00760-7. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41551-021-00760-7>. Acesso em: 19 jul. 2024.

KATTI, A. *et al.* **CRISPR in cancer biology and therapy**. *Nature Reviews Cancer*, v. 22, p. 259–279, 2022. DOI 10.1038/s41568-022-00441-w. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41568-022-00441-w#citeas>. Acesso em: 05 ago. 2024.

KHAMBHATI, K.; BHATTACHARJEE, G.; SINGH, V. **Current progress in CRISPR-based diagnostic platforms**. *J Cell Biochem*, v. 120, n. 3, p. 2721-2725, 2019.

KLAUNIG, J. E. **Carcinogenesis**. An Introduction to Interdisciplinary Toxicology. p. 97–110, 2020. DOI 10.1016/b978-0-12-813602-7.00008-9. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128136027000089>.

Acesso em: 07 ago. 2024.

LENGAUER, C.; KINZLER, K.W.; VOGELSTEIN, B. **Instabilidades genéticas em cânceres humanos**. Nature, v. 396, p. 643-649, 1998.

LI, P. *et al.* **Applications of the CRISPR-Cas system for infectious disease diagnostics**. Expert Rev Mol Diagn, v. 21, n. 7, p. 723-732, jul. 2021.

MANCINI, Natália. **Conheça a jornada de pessoas com leucemia**. Revista ABRALE on-line, 2022. Disponível em: <https://revista.abrale.org.br/qualidade-de-vida/2022/12/conheca-a-jornada-de-pessoas-com-leucemia/>. Acesso em: 04 set. 2024.

MATTIUZZI, C.; LIPPI, G. **Current Cancer Epidemiology**. J Epidemiol Glob Health, v. 9, n. 4, p. 217-222, dez. 2019. DOI 10.2991/jegh.k.191008.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31854162/>. Acesso em: 07 ago. 2024.

MCGRANAHAN, N. *et al.* **Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade**. Science, v. 351, n. 6280, p. 1463-1469, 2017. DOI 10.1126/science.aaf1490. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26940869/>. Acesso em: 15 ago. 2024.

MUSTAFA, M. I.; MAKHawi, A. M. **SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases**. Journal of Clinical Microbiology, v. 59, p. 10.1128, 2021. DOI 10.1128/jcm.00745-20. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00745-20>. Acesso em: 09 jul. 2024.

NAYAK, Vinayak; *et al.* **Advancement in precision diagnosis and therapeutic for triple-negative breast cancer: harnessing diagnostic potential of CRISPR-Cas and**

engineered CAR T-cells mediated therapeutics. *Environmental Research*, v. 235, p. 116573, 2023. DOI 10.1016/j.envres.2023.116573. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935123013774?via%3Dihub>. Acesso em: 09 ago. 2024.

NAZARETH, J. J. D. O. *et al.* **V. Biossensor**: uma evolução biotecnológica no diagnóstico precoce do câncer. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*, v. 34, n. 1, p. 61-68, mar./mai. 2021.

NEW report on global cancer burden in 2022 by world region and human development level. **International Agency For Research on Cancer**, 2024. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/news-events/new-report-on-global-cancer-burden-in-2022-by-world-region-and-human-development-level/>. Acesso em: 24 set. 2024.

NGUYEN, L. T. *et al.* **CRISPR-ENHANCE**: An enhanced nucleic acid detection platform using Cas12a. *Methods*, v. 203, p. 116-124, jul. 2022.

NORMAL Controls on Cell Division are Lost during Cancer. **Nature Education**, 2014. Disponível em: <https://www.nature.com/scitable/ebooks/essentials-of-cell-biology-14749010/122997842/>. Acesso em: 24 ago. 2024.

OLIVEIRA, D. L.; RÉDEA, G.; CHUA, E. **Citometria de fluxo de espectro total como uma tecnologia poderosa para pesquisa de imunoterapia contra o câncer**. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v. 7, p. 612801, 2021.

OLIVEIRA, Nazareth *et al.* **Uma evolução biotecnológica no diagnóstico precoce do câncer**. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR*, v. 34, n. 1, p. 61-68, mar./mai. 2021.

SANTOS, M. de O. *et al.* **Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025**. *Revista Brasileira de Cancerologia*, [S. l.], v. 69, n. 1, p. e–213700, 2023.

SENGUPTA, R.; ZAIDI, S. K. **AACR Cancer Progress Report 2021: Discovery Science Driving Clinical Breakthroughs**. *Clinical Cancer Research*, v. 27, n. 21, p. 5757-5759, 1 nov. 2021. DOI 10.1158/1078-0432.CCR-21-3367. Disponível em: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/27/21/5757/671755/AACR-Cancer-Progress-Report-2021-Discovery-Science>. Acesso em: 09 ago. 2024.

SHARIQ, M. *et al.* **CRISPR-based diagnostic approaches: implications for rapid management of future pandemics (Review)**. *Molecular Medicine Reports*, v. 27, n. 6, p. 118, 2023. DOI 10.3892/mmr.2023.13005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37144477/>. Acesso em: 07 ago. 2024.

SHI, Kai; *et al.* **A CRISPR-Cas autocatalysis-driven feedback amplification network for supersensitive DNA diagnostics**. *Science Advances*, v. 7, eabc7802, 2021. DOI 10.1126/sciadv.abc7802. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abc7802>. Acesso em: 19 jul. 2024.

SIEGEL, R. L. *et al.* **Cancer statistics, 2022**. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 72, n. 1, p. 7-33, jan./fev. 2022. DOI 10.3322/caac.21708. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21708>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SORNAMBIKAI, Sundaram *et al.* **CRISPR based biosensing: an ultrasensitive theranostic tool for the detection of early breast cancer biomarkers – a mini review**. *Biosensors and Bioelectronics: X*, v. 14, p. 100367, 2023. DOI 10.1016/j.biosx.2023.100367. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S259013702300064X?via%3Dihub>. Acesso em: 25 jul. 2024.

SUNG, H. *et al.* **Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries**. *CA Cancer J Clin*, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021. DOI 10.3322/caac.21660. Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>. Acesso em: 18 jul. 2024.

TEMPORÃO, J. G. *et al.* **Desafios atuais e futuros do uso da medicina de precisão no acesso ao diagnóstico e tratamento de câncer no Brasil.** Cadernos de Saúde Pública, v. 38, n. 10, p. e00006122, 2022. DOI 10.1590/0102-311XPT006122. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/zDRHSHfSh7mkcCKNHxSjr8C/?lang=pt>. Acesso em: 15 ago. 2024.

TIAN, X. *et al.* **CRISPR/Cas9** - An evolving biological tool kit for cancer biology and oncology. NPJ Precision Oncol, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2019.

TRICCO, A.C. *et al.* **PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation.** Annals of Internal Medicine, [s.l.], v. 169, n. 7, p. 467–473, 2018. DOI 10.7326/M18-0850. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M18-0850>. Acesso em: 17 ago. 2024.

VAN RIET, J. *et al.* **CRISPRs in the human genome are differentially expressed between malignant and normal adjacent to tumor tissue.** Communications Biology, v. 5, n. 1, p. 338, abr. 2022. DOI 10.1038/s42003-022-03249-4. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s42003-022-03249-4>. Acesso em: 14 jul. 2024.

WANG, M. *et al.* **CRISPR applications in cancer diagnosis and treatment.** Cell Molecular Biology Letters, v. 28, n. 1, p. 73, 2023. DOI 10.1186/s11658-023-00483-4. Disponível em: <https://cmbl.biomedcentral.com/articles/10.1186/s11658-023-00483-4>. Acesso em: 04 set. 2024.

WANG, T.; LIU, L. **Innovative Imaging Techniques for Advancing Cancer Diagnosis and Treatment.** Cancers, v. 16, p. 2607, 2024. DOI 10.3390/cancers16142607. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/16/14/2607>. Acesso em: 18 jul. 2024.

WESTON, A. *et al.* **Multistage carcinogenesis**. Holland-Frei Cancer Medicine, ed. 6, 2003.

YANG, X.; ZHANG, B. **A review on CRISPR/Cas**: a versatile tool for cancer screening, diagnosis, and clinic treatment. Functional & Integrative Genomics, v. 23, n. 2, p. 182, mai. 2023. DOI 10.1007/s10142-023-01117-w. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37231285/>. Acesso em: 14 jul. 2024.

ZHANG, H. *et al.* **Application of the CRISPR/Cas9-based gene editing technique in basic research, diagnosis, and therapy of cancer**. Molecular Cancer, v. 20, p. 126, 2021. DOI 10.1186/s12943-021-01431-6. Disponível em: <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-021-01431-6>. Acesso em: 09 ago. 2024.

ZHANG, Mingtao *et al.* **CRISPR technology**: the engine that drives cancer therapy. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 133, p. 111007, 2021. DOI 10.1016/j.biopha.2020.111007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220311999>. Acesso em: 24 ago. 2024.

ZHOU, Jian *et al.* **CRISPR/Cas-based nucleic acid detection strategies**: trends and challenges. Heliyon, v. 10, n. 4, e26179, 2024. DOI 10.1016/j.heliyon.2024.e26179. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38390187/>. Acesso em: 24 jul. 2024.