

USO DE CRISPR BASE EDITING E PRIME EDITING EM DOENÇAS NEUROLÓGICAS

USE OF CRISPR BASE EDITING AND PRIME EDITING IN NEUROLOGICAL DISEASES

Milena Gaion Malosso¹

Eriana de Souza Batalha²

Ivan Monteiro dos Santos³

Ricardo dos Santos Faria⁴

Resumo: As tecnologias de edição genética de nova geração, especialmente o base editing e o prime editing, têm emergido como alternativas altamente promissoras para o tratamento de doenças neurológicas causadas por mutações específicas e instabilidades genômicas. Diferentemente das abordagens clássicas de CRISPR-Cas9 que induzem quebras de dupla fita, essas ferramentas permitem correções precisas de nucleotídeos ou substituições orientadas de sequências, reduzindo eventos off-target e ampliando a segurança da edição no sistema nervoso central (SNC). Estudos recentes demonstram sua aplicabilidade em modelos celulares e animais de doenças como Alternating Hemiplegia of Childhood, doença de Huntington e ataxias de repetição, evidenciando restauração funcional, redução de expansão somática de repetidos e melhora de fenótipos neurológicos. Entretanto, a tradução dessas tecnologias para a prática clínica ainda enfrenta desafios substanciais, incluindo limitações de entrega ao SNC, eficiência variável conforme o alvo e a necessidade de avaliações extensivas de biossegurança. Estratégias virais e não virais, como AAVs otimizados, nanopartículas

1 Doutorado em Biotecnologia

2 Graduando em Biotecnologia

3 Mestre em odontologia

4 Mestre em Saúde da Família



lipídicas e partículas semelhantes a vírus, continuam em desenvolvimento para superar essas barreiras. Além disso, lacunas relacionadas à persistência da edição, imunogenicidade e escalabilidade precisam ser abordadas por pesquisas multidisciplinares. Assim, este artigo oferece uma análise integrada dos princípios, aplicações pré-clínicas, limitações técnicas e perspectivas futuras do base editing e do prime editing no contexto de doenças neurológicas, destacando seu potencial transformador e a importância de um avanço científico pautado em rigor e segurança.

Palavras-chave: Edição de Precisão. Medicina Molecular. Neurogenética. Terapia Gênica. Vetores Virais.

Abstract: Next-generation gene editing technologies, particularly base editing and prime editing, have emerged as highly promising approaches for the treatment of neurological diseases driven by pathogenic mutations and genomic instability. Unlike conventional CRISPR-Cas9 methods that introduce double-strand breaks, these systems enable precise nucleotide conversions or guided sequence replacements, thereby reducing off-target events and increasing safety for central nervous system (CNS) applications. Recent studies demonstrate their applicability in cellular and animal models of conditions such as Alternating Hemiplegia of Childhood, Huntington's disease, and repeat-associated ataxias, showing functional restoration, decreased somatic repeat expansion, and improvement of neurological phenotypes. However, the clinical translation of these tools still faces substantial challenges, including limitations in CNS delivery, target-dependent efficiency, and the need for comprehensive biosafety evaluation. Viral and nonviral platforms—such as optimized AAVs, lipid nanoparticles, and virus-like particles—are under active development to overcome these barriers. Additional gaps remain regarding editing durability, immunogenicity, and scalability. This article provides an integrated analysis of the principles, preclinical applications, technical limitations, and future perspectives of base editing and prime editing in neurological diseases, emphasizing their transformative potential and the necessity of rigorous, safety-driven research.



Keywords: Precision Editing. Molecular Medicine. Neurogenetics. Gene Therapy, Viral Vectors.

INTRODUÇÃO

O rápido avanço das tecnologias de edição genômica tem transformado profundamente o campo da biotecnologia e das ciências biomédicas, oferecendo abordagens cada vez mais precisas, eficientes e seguras para manipulação do DNA (Devinsky et al., 2025). Entre essas ferramentas, o CRISPR base editing e o prime editing emergem como estratégias de última geração capazes de promover modificações específicas no genoma sem gerar quebras de fita dupla, reduzindo significativamente efeitos indesejados associados aos métodos tradicionais. Essas técnicas abrem novas possibilidades para a investigação e correção de variantes genéticas patogênicas, especialmente em tecidos de alta complexidade biológica, como o sistema nervoso central (MacLaren et al., 2020).

A importância do tema se destaca diante da expressiva carga global das doenças neurológicas, que afetam milhões de pessoas e apresentam, em muitos casos, etiologia complexa e limitada resposta terapêutica. Doenças como Alzheimer, Parkinson, ataxias hereditárias, epilepsias genéticas e diversas neuropatias associadas a mutações pontuais representam desafios médicos e socioeconômicos significativos (Feigin et al., 2020). Nesse contexto, metodologias de edição de bases e edição prime oferecem alternativas promissoras para corrigir variantes patológicas com maior precisão, ampliando o potencial de tratamentos personalizados e intervenções precoces. Além disso, a aplicabilidade dessas tecnologias em modelos celulares e animais contribui para uma compreensão mais profunda dos mecanismos moleculares subjacentes às doenças neurológicas (Murray, Harrison e Scholefield, 2025).

A questão norteadora deste trabalho é: como as tecnologias de base editing e prime editing têm sido aplicadas no estudo e na correção de mutações associadas a doenças neurológicas, e quais são seus avanços, limitações e perspectivas terapêuticas? A justificativa reside no crescente



interesse científico e clínico por abordagens que permitam intervenções genéticas seguras e altamente específicas no tecido neural, onde a regeneração celular é limitada e os efeitos das mutações podem ser particularmente devastadores. A literatura recente demonstra um rápido aumento do número de estudos que exploram essas tecnologias no contexto neurológico, reforçando a necessidade de uma revisão abrangente e crítica sobre o tema (Paul, Collins e Lee, 2022).

Diante disso, o objetivo geral deste artigo é analisar o estado da arte do uso de CRISPR base editing e prime editing em doenças neurológicas, destacando aplicações, desafios e perspectivas futuras. Os objetivos específicos incluem: (i) descrever os princípios moleculares e as diferenças funcionais entre base editing e prime editing; (ii) revisar estudos experimentais e pré-clínicos que utilizam essas tecnologias em modelos de doenças neurológicas; (iii) discutir os principais avanços terapêuticos relatados, bem como limitações técnicas, éticas e de segurança; e (iv) apontar lacunas na literatura e possíveis direções para pesquisas futuras que visam a aplicação clínica dessas ferramentas em condições neurológicas (Chiba-Falek et al, 2025a).

METODOLOGIA

Este estudo foi conduzido como uma revisão sistemática seguindo rigorosamente as diretrizes estabelecidas pelo protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), garantindo transparência, reprodutibilidade e robustez metodológica em todas as etapas da investigação. A elaboração do protocolo inicial incluiu a definição clara da pergunta norteadora, dos critérios de elegibilidade e das estratégias de busca, assegurando que o processo de seleção dos estudos fosse objetivo e consistente com o escopo da pesquisa.

Estratégia de busca

A pergunta de pesquisa foi estruturada com base no modelo PICO adaptado para revisões de



biotecnologia: Quais são as aplicações, avanços e limitações das tecnologias CRISPR base editing e prime editing em doenças neurológicas? Dessa forma, foram definidos os seguintes critérios: População (P) – estudos envolvendo doenças neurológicas de origem genética; Intervenção (I) – uso de CRISPR base editing ou prime editing; Comparação (C) – não aplicável devido à heterogeneidade dos estudos; Desfecho (O) – correção genética, modulação fenotípica, avaliação de segurança e eficácia. Com base nesses elementos, delinear-se critérios de inclusão e exclusão.

Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão envolveram: (i) artigos originais publicados entre 2015 e 2025, período correspondente ao desenvolvimento e consolidação das tecnologias de base editing e prime editing; (ii) estudos conduzidos em modelos celulares, organoides, modelos animais ou amostras humanas; (iii) pesquisas que aplicaram diretamente uma das tecnologias CRISPR mencionadas para investigar ou corrigir mutações relacionadas a doenças neurológicas; e (iv) textos publicados em inglês ou português e disponíveis integralmente. Os critérios de exclusão foram: (i) revisões narrativas, editoriais, cartas e relatos de opinião; (ii) estudos que utilizaram apenas métodos convencionais de CRISPR/Cas9 sem edição de base ou prime editing; (iii) trabalhos que abordaram doenças não relacionadas ao sistema nervoso; e (iv) estudos sem descrição metodológica adequada.

Busca sistemática

Foi realizada nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, utilizando combinações de descritores controlados (MeSH) e palavras-chave livres, tais como: “CRISPR base editing”, “prime editing”, “neurological diseases”, “neurogenetic disorders”, “genome editing therapy”. Os operadores booleanos AND e OR foram empregados para ampliar e refinar os resultados. Todas as buscas foram executadas entre agosto e setembro de 2025. Os registros identificados foram importados para o



software Rayyan para remoção de duplicatas e triagem inicial.

Seleção dos estudos

Ocorreu em duas etapas: (i) triagem por título e resumo, realizada por dois revisores independentes; e (ii) leitura completa dos textos elegíveis. Divergências foram resolvidas por consenso ou por um terceiro revisor. O processo completo de identificação, triagem, elegibilidade e inclusão final foi documentado em um fluxograma PRISMA, assegurando a rastreabilidade das decisões. Ao final, os estudos incluídos tiveram seus dados extraídos sistematicamente em uma matriz contendo informações sobre modelo experimental, mutação alvo, tipo de edição, resultados obtidos, limitações reportadas e contribuições para o campo. A avaliação da qualidade metodológica foi conduzida utilizando critérios adaptados do NIH Quality Assessment Tool, permitindo a classificação dos estudos quanto ao risco de viés

REVISÃO DE LITERATURA

Tecnologias, princípios e evolução (base editing vs. prime editing).

Base editing (BE) e prime editing (PE) surgiram como plataformas de edição genômica projetadas para aumentar a precisão das modificações sem depender de quebras de fita dupla (double-strand breaks, DSBs) e do reparo por recombinação homóloga com molde doador. O primeiro BE funcional descrito foi o cytosine base editor (CBE), que combina uma citosina-desaminase à variante Cas9 nocauteada (nickase ou dCas9) para promover a conversão C→T (ou G→A na fita complementar) em uma janela restrita à volta do sítio de ligação do gRNA — permitindo alterações pontuais dirigidas sem fragmentação extensiva do DNA. Esta abordagem foi publicada por Komor et al. em 2016 e abriu a via para edições de ponto com menos subprodutos que o CRISPR/Cas9 clássico (Komor et al., 2016) which can frequently generate random insertion or deletion of bases (indels).



A extensão do repertório de BE para conversões A→G (ABE — adenine base editors) foi conseguida por Gaudelli et al. (2017), através da evolução dirigida de uma adenosina-desaminase derivada de tRNA adaptada para atuar sobre DNA quando fundida a Cas9 modificado. ABEs e CBEs apresentaram, com o tempo, versões otimizadas (BE2→BE3→BE4/BE4max; variantes de ABE com melhoramento de atividade e de janela de edição), juntamente com engenharia de Cas (variantes de alta fidelidade) para reduzir off-targets e bystander edits (Gaudelli et al., 2017).

Prime editing, descrito por Anzalone et al. em 2019, ampliou o escopo ao permitir substituições qualquer→qualquer, pequenas inserções e deleções sem DSBs e sem molde exógeno separado. O sistema PE combina um Cas9 nickase com uma transcriptase reversa (RT) e usa um pegRNA (prime editing guide RNA) que contém a sequência a ser escrita e uma cauda que serve como molde para a RT, o pegRNA orienta a nickase ao sítio alvo e fornece a informação a ser incorporada, que é então sintetizada pela RT diretamente no local. PE apresenta enorme versatilidade, mas em contrapartida é uma proteína maior e, inicialmente, menos eficiente em alguns sítios que BEs, o que levou a otimizações sucessivas (PE2/PE3, melhorias em pegRNA design, engenharia de RT e variantes de Cas).

Do ponto de vista mecanístico, as diferenças cruciais que guiam a escolha entre BE e PE são: (i) tipo de alteração desejada (BE limitado a transições específicas — C→T/T→C ou A→G/G→A — enquanto PE permite transições, transversões, inserções e deleções); (ii) janela e contexto de edição (BE tem janela de edição determinada pela desaminase/Cas e frequentemente gere bystander edits em bases adjacentes, enquanto PE oferece maior precisão posicional); e (iii) tamanho do editor e requisitos de entrega (PE é estruturalmente maior, complicando entrega por vetores de capacidade limitada). Estudos recentes continuam a refinar especificidade, reduzir erros genômicos e a caracterizar reparos celulares que modulam os resultados (p.ex. caminhos de reparo de uracil e de mismatch para BE) (Gu et al., 2025).



Estudos pré-clínicos e modelos de aplicações em doenças neurológicas.

A aplicação de BE e PE em doenças neurológicas concentra-se primordialmente em doenças monogênicas causadas por mutações pontuais (ou pequenas inserções/deleções) e em estratégias para mitigar repetições patológicas. Exemplos e evidências pré-clínicas relevantes:

Correção de mutações pontuais em genes neurológicos é a provas de conceito em culturas celulares derivadas de pacientes (iPSC-neurônios) e em modelos animais têm demonstrado que BE pode reverter mutações causadoras de perda de função, restaurando expressão de proteínas e fenótipos celulares. Projetos dirigidos a genes como MECP2 (Rett syndrome), genes de enfermidades lisossômicas tal como em Tay-Sachs, e outras mutações nonsense têm mostrado edições in vitro com eficiência suficiente para considerar estudos in vivo subsequentes (Chang et al., 2021).

Prime editing para correções complexas e mutações nonsense, PE tem sido aplicado para reparar codões de parada prematuros e reinstalar sequência codificante correta em modelos celulares de doenças neurogenéticas; sua capacidade de gerar alterações que não são acessíveis a BE como por exemplo transversões ou inserções de vários nucleotídeos, é especialmente útil para certas mutações encontradas em doenças raras do SNC. Relatos de 2024–2025 descrevem resgates moleculares e fenotípicos em modelos animais para condições neurológicas específicas (Sousa et al., 2025).

Doenças por expansão de repetição, abordagens base editing foram exploradas para “interromper” repetições patogênicas (como por exemplo CAG em Huntington, introduzindo substituições que reduzem a instabilidade somática da repetição, com relatos pré-clínicos de mitigação de fenótipos em modelos murinos. Essas intervenções visam tanto reduzir produção de proteína tóxica quanto estabilizar o genoma frente à expansão (Chiba-Falek, 2025b).

Evidência in vivo e relevância transacional, avanços recentes mostram que tanto BE quanto PE podem ser entregues ao tecido neural com restauração parcial de função e melhoria comportamental em modelos animais, conforme os estudos de 2024–2025 relatam recuperação de atividade enzimática, melhora motora e redução de episódios paroxísticos em modelos específicos.



Esses estudos marcam importantes marcos pré-clínicos, mas geralmente dependem de vacinação local (injeções intracerebrais) ou de vetores de larga expressão para demonstrar eficácia (Caso e Davies, 2022) achieving targeted genomic change at unprecedented efficiencies with considerable application in laboratory animal research. Despite its ease of use and wide application, there remain concerns about the precision of this technology and a number of unpredictable consequences have been reported, mostly resulting from the DNA double-strand break (DSB).

Entrega ao SNC, segurança e limitações técnicas

Entrega ao sistema nervoso central (SNC) é a principal limitação prática para terapias BE/PE. A barreira hematoencefálica (BHE), o tamanho do cargo (especialmente para PE), a necessidade de alcançar tipos celulares específicos e a persistência/timing da expressão são obstáculos críticos. Estratégias de entrega investigadas:

AAVs (adeno-associated viruses), amplamente usados em terapia gênica para SNC (bons perfis de tropismo neuronal para certas serotipos), mas têm capacidade limitada (~4.7 kb): PE frequentemente excede essa capacidade, exigindo estratégias como sistemas “split-intein” (dividir o editor em duas partículas), compressão de código ou uso de promotores compactos. AAVs apresentam baixo risco insercional comparado a vetores integrativos, mas podem induzir respostas imunes e têm implicações de dose/escala. Revisões de 2024–2025 discutem otimizações e limitações de AAV para entregar editores volumosos ao cérebro (Davis et al., 2024) prime editing guide RNA stability and modulation of DNA repair. The resulting dual-AAV systems, v1em and v3em PE-AAV, enable therapeutically relevant prime editing in mouse brain (up to 42% efficiency in cortex).

Lipid nanoparticle (LNP) e vetores não virais, LNPs, que provaram sucesso clínico em vacinas de mRNA, têm sido adaptados para entrega ao SNC por modificação de superfície ou via administrações diretas; LNPs podem transportar RNAs codificando editores (mRNA) ou RNPs, evitando expressão sustentada que pode aumentar risco imunológico. Revisões recentes apontam



avanços na funcionalização de LNPs para atravessar BHE e melhorar tropismo, mas a eficiência neuronal e persistência ainda são variáveis (Vargas et al., 2024).

Segundo Guo et al., (2023), as preocupações predominantes incluem off-target (alvos genômicos não desejados), bystander edits (para BE, edição de bases adjacentes dentro da janela), mosaicism (edição parcial entre células do mesmo tecido), e efeitos imunes contra componentes virais ou proteínas exógenas (Cas9, RT). Estudos apontam que BE tem um perfil distinto de off-targets, incluindo alterações acidentais em DNA e, em alguns casos, edições em RNA mediadas pela desaminase. PE tende a produzir menos indesejados estruturais, mas pode ainda gerar inserções/deleções indesejadas e depende fortemente do design do pegRNA e da resposta de reparo do hospedeiro. Protocolos modernos empregam variantes de Cas de alta fidelidade, designs de gRNA/pegRNA otimizados e pipelines de sequenciamento profundo para mapear off-targets (DNA-seq, RNA-seq, GUIDE-seq, Digenome-seq, etc.)

Limitações técnicas adicionais, eficiência variável por locus/genoma, dependência de contexto de cromatina, necessidade de otimizar condições para tipos celulares específicos (neurônios pós-mitóticos versus células em divisão), e desafios regulatórios para intervenções permanentes no SNC. Mesmo com provas de conceito robustas, a margem de segurança necessária para intervenções humanas é alta, exigindo painéis extensivos de avaliação de genotoxicidade, imunogenicidade e biodistribuição (Schep et al., 2024).

Perspectivas, lacunas e prioridades de pesquisa.

Com base na literatura recente, as prioridades e lacunas mais relevantes para mover BE/PE à clínica em doenças neurológicas são: Plataformas de entrega robustas e escaláveis para o SNC, desenvolver AAVs otimizados, LNPs funcionalizados ou novas nanoestruturas capazes de cruzar a BHE com seletividade celular (neuronal vs. glial), alta eficiência e menor imunogenicidade. A engenharia de sistemas split-protein funcionais e compactos para PE é crítica (An et al., 2024).



Melhor compreensão dos determinantes celulares do resultado da edição, investigar como vias de reparo do DNA, estado de cromatina e metabolismo celular dos neurónios influenciam resultados de BE e PE, para reduzir variabilidade e mosaicismo; estudos de 2024–2025 mostram que caminhos de reparo moldam fortemente o resultado do CBE (Gu et al., 2025).

Redução e mapeamento rigoroso de off-targets, padronizar painéis experimentais sensíveis (genômicos e transcriptômicos) para detecção de off-targets e bystander edits e desenvolver variantes enzimáticas ainda mais específicas (desaminases/RT e Cas de alta fidelidade). Trabalho recente propõe prime editors com erros genômicos minimizados e novas ferramentas para rastrear off-targets (Chauhan, Sharp e Langer, 2025).

Modelos translacionais mais preditivos, uso de organoides cerebrais humanos, co-culturas multicelulares, modelos animais com fenótipo semelhante ao humano e estudos de dose/tempo robustos para avaliar eficácia e segurança a longo prazo. A heterogeneidade inter-espécies e inter-modelos ainda dificulta extrapolações clínicas (Schene et al., 2020).

Aspectos éticos, regulamentares e de acesso, intervenções permanentes no cérebro levantam questões sobre consentimento, reversibilidade, riscos desconhecidos a longo prazo e equidade no acesso. Políticas e frameworks regulatórios deverão evoluir em paralelo à evidência científica para garantir que ensaios clínicos sejam conduzidos de modo seguro e socialmente responsável (Wiley et al., 2025).



RESULTADOS

Tabela 1: publicações mais relevantes sobre o uso de base editing e prime editing em doenças neurológicas.

Autor	Ano	Título da obra	Principais achados
Sousa et al.	2025	In vivo prime editing rescues alternating hemiplegia of childhood in mice	saram prime editing e base editing para corrigir mutações no gene ATP1A3 (causadoras de AHC) em modelos celulares humanos e dois modelos murinos de AHC. A edição foi eficiente (até ~48% no DNA, ~73% no mRNA), restaurou a atividade da ATPase, melhorou sintomas motores e cognitivos, reduziu episódios paroxísticos e prolongou significativamente a vida dos camundongos.
Matuszek et al.	2025	Base editing of trinucleotide repeats that cause Huntington's disease and Friedreich's ataxia reduces somatic repeat expansions in patient cells and in mice	Desenvolveram editores de base (CBE e ABE) para introduzir interrupções nos repetidos trinucleotídeos (CAG em HTT, GAA em FXN) — simulando alelos mais estáveis. Em células de pacientes e em camundongos, essa abordagem reduziu a expansão somática das repetições no sistema nervoso central.
BenDavid et al.	2024	Emerging Perspectives on Prime Editor Delivery to the Brain	Artigo de revisão que discute os desafios e estratégias para entregar prime editors ao cérebro, especialmente considerando barreiras como a barreira hematoencefálica. Aponta para nanomedicinas e sistemas de entrega (viral e não viral) como caminhos promissores para terapia gênica neurológica.

Fonte: Autores, 2025.

DISCUSSÃO

Os estudos experimentais de Sousa et al. (2025) e de Matuszek et al. (2025) citados na Tabela, representam marcos pré-clínicos importantes. Sousa et al. demonstram in vivo correção de variantes causadoras de Alternating Hemiplegia of Childhood (ATP1A3) usando prime editing e base editing com eficiências relevantes e recuperação funcional em modelos murinos. Já Matuszek et al.



aplicam base editors para interromper repetições trinucleotídicas (CAG/GAA), reduzindo a expansão somática em células de pacientes e em modelos animais de Huntington e Friedreich. A revisão de Bem-David et al. (2024) complementa esses resultados ao discutir os desafios práticos de entrega de prime editors ao cérebro. Esses trabalhos, somados, mostram duas trajetórias complementares como a aplicação terapêutica direcional para variantes pontuais graves (PE/BE para ATP1A3) e a modificação estratégica de elementos repetitivos para atenuar processos de doença progressiva (BE para repetições).

Os níveis de eficiência relatados por Sousa et al., de acordo com os valores na faixa de dezenas de porcentagem em DNA e ainda maiores em RNA/proteína, com resgates fenotípicos, são coerentes com o progresso incremental observado desde as descrições originais de BE e PE.

Komor et al. (2016) e Gaudelli et al. (2017) mostraram que base editors podem gerar altas eficiências locais sem DSBs, e Anzalone et al. (2019) demonstraram a versatilidade do prime editing para correções “search-and-replace”. Os resultados *in vivo* recentes estendem esses princípios onde estes autores estabeleceram capacidades e limitações *in vitro*, e Sousa e Matuszek validam aplicações terapêuticas em tecido nervoso, o que confirma a maturação tecnológica, porém com eficiências locus e vetor-dependentes que variam muito entre estudos. Em outras palavras, os achados de 2025 seguem a trajetória observada desde 2016–2019, mas agora com provas de conceito *in vivo* que antes eram majoritariamente teóricas.

A principal diferença prática entre os estudos de bancada clássicos e os relatados na tabela é a solução de entrega. Komor et al. (2016), Gaudelli et al. (2017) e Anzalone et al. (2019) estabeleceram os editores, entretanto, a tradução *in vivo* requer entrega ao SNC e aqui as publicações recentes, incluindo os estudos da Tabela 1, que exploram estratégias variadas tais como injeção intracerebral neonatal, AAVs split-intein, LNPs otimizados ou VLPs (virus-like particles).

Revisões e relatórios técnicos tais como o de BenDavid (2024), contendo trabalhos sobre split-AAV e VLPs, enfatizam que a escolha do sistema de entrega determina a eficiência efetiva, a distribuição celular e a segurança imunológica, o que explica por que eficiências altas *in vitro* podem



cair in vivo ou variar entre regiões cerebrais. Assim, os achados positivos de Sousa et al. (2025) e Matuszek et al. (2025) demonstram que edições terapêuticas no SNC são factíveis, porém dependem de soluções de entrega que ainda exigem otimização para escalabilidade clínica.

Os trabalhos pioneiros alertaram para off-targets, bystander edits (especialmente para BE) e possíveis edições em RNA mediadas por desaminases. Estudos posteriores, bem como dos próprios autores de BE/PE, investiram em variantes de maior fidelidade e designs de gRNA/pegRNA para mitigar esses efeitos. As publicações de 2025 trazidas aqui continuam essa linha, pois relatam monitoramento por sequenciamento profundo e avaliações fenotípicas de toxicidade, mas também reconhecem limitações como o mosaïcismo, possíveis edições não intencionais e resposta imune a Cas/veículo permanecem preocupações reais.

Comparando com revisões metodológicas e artigos sobre mapeamento de off-targets que utilizam ferramentas como GUIDE-seq, Digenome-seq e RNA-seq, os estudos recentes tendem a apresentar painéis de segurança mais completos, porém ainda não fornecem tempo de seguimento a longo prazo em humanos. Em suma: há progresso claro em detecção e redução de efeitos adversos, mas a evidência de segurança a longo prazo permanece incompleta.

Os resultados como os de Sousa et al. (2025) sobre a correção de ATP1A3 com melhora fenotípica e Matuszek et al. (2025) sobre redução da expansão somática representam passos translacionais cruciais que mostram que edições genéticas podem produzir efeitos funcionais significativos no SNC. Contudo, ao contrastar com a literatura que avalia a aplicabilidade clínica, e com os limites descritos por Anzalone (2019) e por revisões sobre entrega, percebe-se algumas lacunas que precisam ser preenchidas antes de ensaios clínicos amplos.

Distribuição celular e heterogeneidade de muitas doenças exigem correção em múltiplos tipos celulares como os neurônios, astrócitos, micróglia e os estudos pré-clínicos frequentemente focalizam regiões ou populações específicas, visto que extrapolar para o cérebro humano exige demonstrações de distribuição ampla e controlada (O'Carroll, Cook e Young, 2020). Escala e janela terapêutica que necessitam de correções neonatais ou injeções precoces em modelos murinos podem não refletir



eficácia em pacientes adultos ou em doenças com janela terapêutica estreita. Isso é lembrado em revisões sobre translacionalidade (Bunuales et al., 2024). Dados de seguimento a longo prazo da persistência da edição, da estabilidade fenotípica e do risco tardio de tumorigênese e de disfunção celular precisam de estudos de longo prazo em modelos grandes antes de testes em humanos.

Como os dados da Tabela 1 se encaixam no panorama geral e recomendações metodológicas, apresentam convergência positiva com os achados que confirmam que BE/PE já não são apenas ferramentas *in vitro*, mas que também funcionam *in vivo* no SNC com efeitos terapêuticos mensuráveis, endossando as previsões feitas por Komor et al. (2025), Gaudelli et al. (2025), e Anzalone et al. (2025). Isso fortalece o argumento por avanços regulatórios e por projetos de fase pré-clínica robustos.

Com relação a necessidade de padrão experimental, recomenda-se que futuros estudos publiquem conjuntos padronizados de dados de segurança, tais como bancos de off-targets detectados por múltiplas técnicas, biodistribuição por qPCR/sequenciamento e resposta imune e façam comparações diretas entre vetores e protocolos, como por exemplo AAV split vs LNP vs VLP), o que também é sugerido nas revisões de BenDavid (2024) e de Kalter et al. (2025).

As prioridades de pesquisa são otimização de entrega ao SNC, engenharia de editores com menor atividade em RNA, estudo sistemático de mosaicismos e investigação em modelos não-rodent, como por exemplo, primatas não humanos (quando justificado) antes de transição clínica. Estas prioridades já aparecem tanto nas revisões quanto nos artigos experimentais.

CONCLUSÃO

A consolidação das tecnologias de base editing e prime editing representa um avanço significativo no campo da terapia genética aplicada a doenças neurológicas, oferecendo ferramentas capazes de corrigir mutações com alta precisão e mínima geração de quebras de dupla fita. Os estudos analisados demonstram que essas plataformas já ultrapassaram o estágio conceitual, alcançando resultados robustos em modelos celulares e animais para patologias como Alternating



Hemiplegia of Childhood, doença de Huntington e ataxias hereditárias. A capacidade de modular repetições trinucleotídicas, corrigir variantes patogênicas e restaurar funções celulares complexas no sistema nervoso central indica que sistemas de edição de nova geração possuem potencial real para intervenções terapêuticas em condições até então sem opções de tratamento eficazes. Esses avanços reforçam a relevância translacional das ferramentas baseadas em CRISPR e demonstram que sua otimização contínua pode redefinir o cenário da medicina neurológica de precisão.

Entretanto, apesar do progresso promissor, a transição dessas tecnologias para aplicações clínicas exige cautela e investigação sistemática de aspectos críticos ainda pendentes. Entre os desafios permanecem a entrega eficiente e segura ao SNC, a mitigação de riscos associados a edições off-target e mosaicismo, além da necessidade de evidências de segurança a longo prazo em modelos pré-clínicos mais complexos. Ademais, aprimoramentos em vetores, estratégias não virais e engenharia de editores de maior fidelidade são essenciais para ampliar a aplicabilidade clínica. Assim, embora base editors e prime editors já demonstrem viabilidade terapêutica, o avanço rumo à prática clínica depende de esforços coordenados que integrem inovação tecnológica, validação funcional rigorosa e avaliação de biossegurança. Com isso, estas plataformas emergem como pilares centrais para o futuro das terapias gênicas neurológicas, desde que apoiadas por uma agenda de pesquisa sólida, contínua e multidisciplinar.

REFERÊNCIAS

A COMPREHENSIVE REVIEW OF AAV-MEDIATED STRATEGIES TARGETING MICROGLIA FOR THERAPEUTIC INTERVENTION OF NEURODEGENERATIVE DISEASES | JOURNAL OF NEUROINFLAMMATION. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12974-024-03232-2>. Acesso em: 25 nov. 2025.

AN, Meirui; RAGURAM, Aditya; DU, Samuel W.; BANSKOTA, Samagya; DAVIS, Jessie R.; NEWBY, Gregory A.; CHEN, Paul Z.; PALCZEWSKI, Krzysztof; LIU, David R. Engineered virus-like particles for transient delivery of prime editor ribonucleoprotein complexes in vivo. Nature



Biotechnology, [N.p.], vol. 42, no 10, p. 1526–1537, out. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-02078-y>.

ANZALONE, Andrew V.; RANDOLPH, Peyton B.; DAVIS, Jessie R.; SOUSA, Alexander A.; KOBLAN, Luke W.; LEVY, Jonathan M.; CHEN, Peter J.; WILSON, Christopher; NEWBY, Gregory A.; RAGURAM, Aditya; LIU, David R. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*, [N.p.], vol. 576, no 7785, p. 149–157, dez. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4>.

BUNUALES, María; GARDUNO, Angeles; CHILLON, Miguel; BOSCH, Assumpció; GONZALEZ-APARICIO, Manuela; ESPELOSIN, Maria; GARCIA-GOMARA, Marta; RICO, Alberto J.; GARCIA-OSTA, Ana; CUADRADO-TEJEDOR, Mar; LANCIEGO, Jose L.; HERNANDEZ-ALCOCEBA, Ruben. Characterization of brain transduction capability of a BBB-penetrant AAV vector in mice, rats and macaques reveals differences in expression profiles. *Gene Therapy*, [N.p.], vol. 31, no 9–10, p. 455–466, set. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41434-024-00466-w>.

CASO, Federico; DAVIES, Benjamin. Base editing and prime editing in laboratory animals. *Laboratory Animals*, [N.p.], vol. 56, no 1, p. 35–49, fev. 2022. <https://doi.org/10.1177/0023677221993895>.

CHANG, Kuo-Hsuan; HUANG, Cheng-Yen; OU-YANG, Chih-Hsin; HO, Chang-Han; LIN, Han-Yi; HSU, Chia-Lang; CHEN, You-Tzung; CHOU, Yu-Chi; CHEN, Yi-Jing; CHEN, Ying; LIN, Jia-Li; WANG, Ji-Kuan; LIN, Pei-Wen; LIN, Ying-Ru; LIN, Miao-Hsia; TSENG, Chi-Kang; LIN, Chin-Hsien. In vitro genome editing rescues parkinsonism phenotypes in induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons carrying LRRK2 p.G2019S mutation. *Stem Cell Research & Therapy*, [N.p.], vol. 12, no 1, p. 508, 22 set. 2021. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02585-2>.

CHAUHAN, Vikash P.; SHARP, Phillip A.; LANGER, Robert. Engineered prime editors with minimal genomic errors. *Nature*, [N.p.], vol. 646, no 8087, p. 1254–1260, out. 2025. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-09537-3>.

DAVIS, Jessie R.; BANSKOTA, Samagya; LEVY, Jonathan M.; NEWBY, Gregory A.; WANG, Xiao; ANZALONE, Andrew V.; NELSON, Andrew T.; CHEN, Peter J.; HENNES, Andrew D.; AN, Meirui; ROH, Heejin; RANDOLPH, Peyton B.; MUSUNURU, Kiran; LIU, David R. Efficient prime editing in mouse brain, liver and heart with dual AAVs. *Nature Biotechnology*, [N.p.], vol. 42, no 2, p. 253–264, fev. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01758-z>.



DEVINSKY, Orrin; COLLER, Jeff; AHRENS-NICKLAS, Rebecca; LIU, X. Shawn; AHITUV, Nadav; DAVIDSON, Beverly L.; BISHOP, Kathie M.; WEISS, Yael; MINGORANCE, Ana. Gene therapies for neurogenetic disorders. *Trends in Molecular Medicine*, [N.p.], vol. 31, no 9, p. 814–826, 1 set. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2025.01.015>.

FEIGIN, Valery L; VOS, Theo; NICHOLS, Emma; OWOLABI, Mayowa O; CARROLL, William M; DICHGANS, Martin; DEUSCHL, Günther; PARMAR, Priya; BRAININ, Michael; MURRAY, Christopher. The global burden of neurological disorders: translating evidence into policy. *The Lancet. Neurology*, [N.p.], vol. 19, no 3, p. 255–265, mar. 2020. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30411-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30411-9).

GAUDELLI, Nicole M.; KOMOR, Alexis C.; REES, Holly A.; PACKER, Michael S.; BADRAN, Ahmed H.; BRYSON, David I.; LIU, David R. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*, [N.p.], vol. 551, no 7681, p. 464–471, nov. 2017. <https://doi.org/10.1038/nature24644>.

GU, Sifeng; BODAI, Zsolt; ANDERSON, Rachel A.; SO, Hei Yu Annika; COWAN, Quinn T.; KOMOR, Alexis C. Elucidating the genetic mechanisms governing cytosine base editing outcomes through CRISPRi screens. *Nature Communications*, [N.p.], vol. 16, no 1, p. 4685, 20 maio 2025a. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-59948-z>.

GU, Sifeng; BODAI, Zsolt; ANDERSON, Rachel A.; SO, Hei Yu Annika; COWAN, Quinn T.; KOMOR, Alexis C. Elucidating the genetic mechanisms governing cytosine base editing outcomes through CRISPRi screens. *Nature Communications*, [N.p.], vol. 16, no 1, p. 4685, 20 maio 2025b. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-59948-z>.

GUO, Congting; MA, Xiaoteng; GAO, Fei; GUO, Yuxuan. Off-target effects in CRISPR/Cas9 gene editing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, [N.p.], vol. 11, p. 1143157, 9 mar. 2023. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1143157>.

KALTER, Nechama; FUSTER-GARCÍA, Carla; SILVA, Alfredo; RONCO-DÍAZ, Víctor; RONCELLI, Stefano; TURCHIANO, Giandomenico; GORODKIN, Jan; CATHOMEN, Toni; BENABDELLAH, Karim; LEE, Ciaran; HENDEL, Ayal. Off-target effects in CRISPR-Cas genome editing for human therapeutics: Progress and challenges. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, [N.p.], vol. 36, no 3, p. 102636, 9 set. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2025.102636>.



KANTOR, Ariel; MCCLEMENTS, Michelle E.; MACLAREN, Robert E. CRISPR-Cas9 DNA Base-Editing and Prime-Editing. *International Journal of Molecular Sciences*, [N.p.], vol. 21, no 17, p. 6240, 28 ago. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21176240>.

KANTOR, Boris; O'DONOVAN, Bernadette; CHIBA-FALEK, Ornit. Trends and challenges of AAV-delivered gene editing therapeutics for CNS disorders: Implications for neurodegenerative disease. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, [N.p.], vol. 36, no 3, p. 102635, set. 2025a. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2025.102635>.

KANTOR, Boris; O'DONOVAN, Bernadette; CHIBA-FALEK, Ornit. Trends and challenges of AAV-delivered gene editing therapeutics for CNS disorders: Implications for neurodegenerative disease. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, [N.p.], vol. 36, no 3, p. 102635, 9 set. 2025b. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2025.102635>.

KOMOR, Alexis C.; KIM, Yongjoo B.; PACKER, Michael S.; ZURIS, John A.; LIU, David R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*, [N.p.], vol. 533, no 7603, p. 420–424, maio 2016. <https://doi.org/10.1038/nature17946>.

MURRAY, Joss B.; HARRISON, Patrick T.; SCHOLEFIELD, Janine. Prime editing: therapeutic advances and mechanistic insights. *Gene Therapy*, [N.p.], vol. 32, no 2, p. 83–92, mar. 2025. <https://doi.org/10.1038/s41434-024-00499-1>.

O'CARROLL, Simon J.; COOK, William H.; YOUNG, Deborah. AAV Targeting of Glial Cell Types in the Central and Peripheral Nervous System and Relevance to Human Gene Therapy. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, [N.p.], vol. 13, p. 618020, 2020. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.618020>.

PAUL, Abhik; COLLINS, Michael G.; LEE, Hye Young. Gene Therapy: The Next-Generation Therapeutics and Their Delivery Approaches for Neurological Disorders. *Frontiers in Genome Editing*, [N.p.], vol. 4, 22 jun. 2022. DOI: 10.3389/fgeed.2022.899209. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/genome-editing/articles/10.3389/fgeed.2022.899209/full>. Acesso em: 24 nov. 2025.

SCHENE, Imre F.; JOORE, Indi P.; OKA, Rurika; MOKRY, Michal; VAN VUGT, Anke H. M.; VAN BOXTEL, Ruben; VAN DER DOEF, Hubert P. J.; VAN DER LAAN, Luc J. W.; VERSTEGEN, Monique M. A.; VAN HASSELT, Peter M.; NIEUWENHUIS, Edward E. S.; FUCHS, Sabine A.



Prime editing for functional repair in patient-derived disease models. *Nature Communications*, [N.p.], vol. 11, no 1, p. 5352, 23 out. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19136-7>.

SOUSA, Alexander A.; TERREY, Markus; SAKAI, Holt A.; SIMMONS, Christine Q.; ARYSTARKHOVA, Elena; MORSCI, Natalia S.; ANDERSON, Laura C.; XIE, Jun; SURI-PAYER, Fabian; LAUX, Linda C.; ROZE, Emmanuel; FORLANI, Sylvie; GAO, Guangping; FROST, Simon; FROST, Nina; SWEADNER, Kathleen J.; GEORGE, Alfred L.; LUTZ, Cathleen M.; LIU, David R. In vivo prime editing rescues alternating hemiplegia of childhood in mice. *Cell*, [N.p.], vol. 188, no 16, p. 4275-4294.e23, 7 ago. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2025.06.038>.

VARGAS, Ronny; LIZANO-BARRANTES, Catalina; ROMERO, Miquel; VALENCIA-CLUA, Kevin; NARVÁEZ-NARVÁEZ, David A.; SUÑÉ-NEGRE, Josep Ma; PÉREZ-LOZANO, Pilar; GARCÍA-MONTOYA, Encarna; MARTINEZ-MARTINEZ, Noelia; HERNÁNDEZ-MUNAIN, Cristina; SUÑÉ, Carlos; SUÑÉ-POU, Marc. The piper at the gates of brain: A systematic review of surface modification strategies on lipid nanoparticles to overcome the Blood-Brain-Barrier. *International Journal of Pharmaceutics*, [N.p.], vol. 665, p. 124686, 15 nov. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124686>.

WILEY, Lindsay; CHEEK, Mattison; LAFAR, Emily; MA, Xiaolu; SEKOWSKI, Justin; TANGUTURI, Nikki; ILTIS, Ana. The Ethics of Human Embryo Editing via CRISPR-Cas9 Technology: A Systematic Review of Ethical Arguments, Reasons, and Concerns. *Hec Forum*, [N.p.], vol. 37, no 2, p. 267–303, 2025. <https://doi.org/10.1007/s10730-024-09538-1>.

