



TERAPIA DO HIV COM CRISPR-CAS: AVANÇOS E DESAFIOS NA EDIÇÃO GENÉTICA

HIV THERAPY WITH CRISPR-CAS: ADVANCES AND CHALLENGES IN GENE EDITING

TERAPIA DEL VIH CON CRISPR-CAS: AVANCES Y RETOS EN LA EDICIÓN GENÉTICA



10.56238/edimpecto2025.028-011

Denis Rossanez Rodrigues

Discente de Medicina

Instituição: Faculdade Municipal Professor Franco Montoro (FMPFM)

Amine Barakat e Silva

Discente de Medicina

Instituição: Faculdade Municipal Professor Franco Montoro (FMPFM)

Sthefanie de Paiva Siqueira

Discente de Medicina

Instituição: Faculdade Municipal Professor Franco Montoro (FMPFM)

Drielly Domingues Parra

Discente de Medicina

Instituição: Faculdade Municipal Professor Franco Montoro (FMPFM)

Leonardo Quint Alecrim Bascopé

Discente de Medicina

Instituição: Faculdade Municipal Professor Franco Montoro (FMPFM)

Ryan Rafael Barros de Macedo

Discente de Medicina

Instituição: Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos (UNICEPLAC)

RESUMO

Este artigo de revisão explora a aplicação da tecnologia de edição genética CRISPR-Cas como uma potencial terapia curativa para a infecção pelo HIV. A introdução estabelece o problema central: a terapia antirretroviral (cART) suprime a replicação do HIV, mas não elimina o vírus, que persiste em um reservatório latente integrado ao genoma das células do hospedeiro. A erradicação desse reservatório é o passo essencial para a cura. Nesse contexto, o sistema CRISPR-Cas surge como uma ferramenta promissora, funcionando como "tesouras moleculares" capazes de remover ou inativar o DNA proviral. O objetivo do estudo é, portanto, compilar e analisar os avanços e desafios atuais dessa abordagem terapêutica. A metodologia utilizada foi uma revisão narrativa da literatura, baseada em

uma pesquisa na base de dados PubMed por artigos científicos publicados nos últimos cinco anos, utilizando os descritores 'CRISPR-Cas', 'HIV' e 'Treatment'. Os resultados e a discussão são divididos em duas estratégias principais. A primeira é o ataque direto ao genoma viral, onde o CRISPR-Cas é usado para excisar ou inativar sequências conservadas do DNA do HIV, com a abordagem multiplex (uso de múltiplas guias de RNA) mostrando-se mais eficaz. A segunda estratégia foca em modificar o genoma do hospedeiro para criar resistência à infecção, sendo o principal alvo o nocaute do gene do correceptor *CCR5*, inspirado em casos de cura de pacientes que receberam transplantes de medula de doadores com uma mutação natural neste gene. Apesar do sucesso em modelos celulares e animais, a revisão destaca desafios significativos: o risco de escape viral por mutação, os perigosos efeitos *off-target* (cortes indesejados no genoma humano), a complexa logística de entrega do sistema CRISPR a todas as células do reservatório e a possibilidade de uma resposta imune contra a proteína Cas.

Palavras-chave: HIV. CRISPR-Cas. Edição Genética. Terapia Gênica.

ABSTRACT

This review article explores the application of CRISPR-Cas gene editing technology as a potential curative therapy for HIV infection. The introduction establishes the central problem: antiretroviral therapy (cART) suppresses HIV replication but does not eliminate the virus, which persists in a latent reservoir integrated into the genome of host cells. Eradication of this reservoir is the essential step toward a cure. In this context, the CRISPR-Cas system emerges as a promising tool, functioning as "molecular scissors" capable of removing or inactivating proviral DNA. The objective of the study is, therefore, to compile and analyze the current advances and challenges of this therapeutic approach. The methodology used was a narrative review of the literature, based on a search of the PubMed database for scientific articles published in the last five years, using the descriptors 'CRISPR-Cas', 'HIV', and 'Treatment'. The results and discussion are divided into two main strategies. The first is the direct attack on the viral genome, where CRISPR-Cas is used to excise or inactivate conserved sequences of HIV DNA, with the multiplex approach (use of multiple RNA guides) proving to be more effective. The second strategy focuses on modifying the host genome to create resistance to infection, with the main target being the knockout of the *CCR5* co-receptor gene, inspired by cases of cure in patients who received bone marrow transplants from donors with a natural mutation in this gene. Despite success in cell and animal models, the review highlights significant challenges: the risk of viral escape through mutation, dangerous off-target effects (unwanted cuts in the human genome), the complex logistics of delivering the CRISPR system to all cells in the reservoir, and the possibility of an immune response against the Cas protein.

Keywords: HIV. CRISPR-Cas. Gene Editing. Gene Therapy.

RESUMEN

Este artículo de revisión explora la aplicación de la tecnología de edición genética CRISPR-Cas como una posible terapia curativa para la infección por VIH. La introducción establece el problema central: la terapia antirretroviral (cART) suprime la replicación del VIH, pero no elimina el virus, que persiste en un reservorio latente integrado en el genoma de las células del huésped. La erradicación de este reservorio es el paso esencial para la cura. En este contexto, el sistema CRISPR-Cas surge como una herramienta prometedora, que funciona como «tijeras moleculares» capaces de eliminar o inactivar el ADN proviral. El objetivo del estudio es, por lo tanto, recopilar y analizar los avances y retos actuales de este enfoque terapéutico. La metodología utilizada fue una revisión narrativa de la literatura, basada en una búsqueda en la base de datos PubMed de artículos científicos publicados en los últimos cinco años, utilizando los descriptores «CRISPR-Cas», «VIH» y «Tratamiento». Los resultados y la discusión se dividen en dos estrategias principales. La primera es el ataque directo al genoma viral, en el que se utiliza CRISPR-Cas para extirpar o inactivar secuencias conservadas del ADN del VIH,



siendo el enfoque múltiple (uso de múltiples guías de ARN) el más eficaz. La segunda estrategia se centra en modificar el genoma del huésped para crear resistencia a la infección, siendo el objetivo principal la eliminación del gen del correceptor CCR5, inspirada en casos de curación de pacientes que recibieron trasplantes de médula ósea de donantes con una mutación natural en este gen. A pesar del éxito en modelos celulares y animales, la revisión destaca retos significativos: el riesgo de escape viral por mutación, los peligrosos efectos fuera del objetivo (cortes no deseados en el genoma humano), la compleja logística de entrega del sistema CRISPR a todas las células del reservorio y la posibilidad de una respuesta inmunitaria contra la proteína Cas.

Palabras clave: VIH. CRISPR-Cas. Edición Genética. Terapia Génica.

1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) representam um desafio persistente para a saúde pública global, com aproximadamente 38 milhões de pessoas infectadas (Hussein et al., 2023). A terapia antirretroviral combinada (cART), embora eficaz em suprimir a replicação viral e reduzir a carga viral a níveis indetectáveis, não é curativa (Khamaikawin et al., 2024). A principal barreira para a erradicação do vírus é a existência de um reservatório viral latente, constituído por DNA proviral integrado de forma estável ao genoma das células do hospedeiro, principalmente linfócitos T CD4⁺ de memória (Maslennikova e Mazurov, 2022; Hussein et al., 2023).

Este reservatório é insensível à cART e pode reativar a produção viral a qualquer momento, exigindo que os pacientes mantenham o tratamento por toda a vida (Maslennikova e Mazurov, 2022). A terapia contínua, por sua vez, está associada a desafios como toxicidade medicamentosa e o desenvolvimento de resistência viral (Hussein et al., 2023; Maslennikova e Mazurov, 2022). Nesse contexto, a remoção do DNA proviral latente integrado é considerada o requisito fundamental para qualquer estratégia de cura do HIV (Herskovitz et al., 2022).

Nos últimos anos, a tecnologia de edição genômica baseada no sistema de repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespaçadas (CRISPR) e suas proteínas associadas (Cas) emergiu como uma ferramenta promissora com potencial para revolucionar o tratamento do HIV (Hussein et al., 2023). Este sistema, originalmente um mecanismo de defesa imune em procariontes, foi adaptado para funcionar como "tesouras moleculares" capazes de clivar o DNA em locais específicos, oferecendo a possibilidade de inativar ou excisar o provírus do HIV do genoma do hospedeiro (Herskovitz et al., 2022). As estratégias terapêuticas exploradas incluem tanto a inativação direta de genes virais quanto a modificação de genes do hospedeiro, como os correceptores de entrada viral, para conferir resistência à infecção (Maslennikova e Mazurov, 2022).

2 METODOLOGIA

Este trabalho constitui uma revisão narrativa da literatura, elaborada com o propósito de compilar e analisar as descobertas científicas mais atuais sobre a aplicação da tecnologia CRISPR-Cas na terapia do HIV. Para a sua construção, foi conduzida uma busca na base de dados PubMed, empregando-se os descritores 'CRISPR-Cas', 'HIV' e 'Treatment', combinados através dos operadores booleanos AND e OR para otimizar a pesquisa, em conformidade com o vocabulário do *Medical Subject Headings* (MeSH).

Foram estabelecidos como critérios de inclusão artigos científicos publicados nos últimos cinco anos, cujo texto completo estivesse acessível e redigido nos idiomas inglês ou português, e que abordassem diretamente a temática central. Foram excluídos do escopo deste estudo trabalhos sem



relevância direta, publicações duplicadas, outras revisões narrativas que não atendessem a um rigor metodológico adequado e artigos não indexados na base de dados consultada. A seleção dos artigos foi realizada em duas fases distintas: primeiramente, uma triagem baseada na análise de títulos e resumos e, em seguida, a leitura integral dos textos pré-selecionados para confirmação de sua pertinência. As informações extraídas foram subsequentemente organizadas e sintetizadas de forma descritiva.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação da tecnologia CRISPR-Cas para o tratamento do HIV tem sido explorada por meio de diferentes estratégias, que podem ser categorizadas em abordagens que visam o genoma viral e aquelas que modificam o genoma do hospedeiro para conferir resistência à infecção (Maslennikova e Mazurov, 2022).

Uma das abordagens mais diretas consiste na inativação ou excisão do provírus HIV-1 integrado ao genoma do hospedeiro (Hussein et al., 2023). Para minimizar o risco de escape viral, os alvos selecionados são geralmente sequências altamente conservadas dentro do genoma do HIV, como as *long terminal repeats* (LTRs) ou os genes estruturais e regulatórios *gag*, *pol*, *tat* e *rev* (Hussein et al., 2023; Maslennikova e Mazurov, 2022). Estudos demonstram que o uso de múltiplas guias de RNA (gRNAs) simultaneamente (abordagem *multiplex*) para excisar grandes segmentos do genoma viral é mais eficaz do que o uso de um único gRNA (Hussein et al., 2023). Essa estratégia demonstrou a capacidade de eliminar o DNA proviral em linhagens celulares e até mesmo em camundongos humanizados, especialmente quando combinada com a terapia antirretroviral de longa duração (LASER ART) (Herskovitz et al., 2022; Maslennikova e Mazurov, 2022).

Outra estratégia promissora foca na modificação de genes do hospedeiro para bloquear a entrada viral. O alvo principal dessa abordagem é o gene do correceptor de quimiocina CCR5, utilizado pela maioria das cepas de HIV (R5-trópicas) para infectar as células (Maslennikova e Mazurov, 2022). A inspiração para essa técnica vem da observação de que indivíduos com uma mutação natural homozigótica no gene CCR5 (CCR5-Δ32) são resistentes à infecção pelo HIV (Maslennikova e Mazurov, 2022). O sucesso dos transplantes de medula óssea de doadores CCR5-Δ32 em pacientes como os de "Berlim" e "Londres", que levaram à remissão do HIV, serve como prova de conceito para essa abordagem (Herskovitz et al., 2022; Khamaikawin et al., 2024). Utilizando o CRISPR-Cas9, pesquisadores conseguiram nocautear o gene CCR5 em células-tronco hematopoiéticas (HSPCs) e linfócitos T CD4+, conferindo-lhes resistência à infecção por cepas R5-trópicas (Khamaikawin et al., 2024; Maslennikova e Mazurov, 2022). Uma limitação, no entanto, é a ineficácia contra cepas X4-trópicas, que utilizam o correceptor CXCR4 (Khamaikawin et al., 2024). Para contornar isso, estratégias de nocaute duplo de CCR5 e CXCR4 ou a combinação do nocaute de

CCR5 com outros inibidores, como o peptídeo de fusão C46, estão sendo investigadas (Khamaikawin et al., 2024; Maslennikova e Mazurov, 2022).

Apesar dos avanços promissores, a terapia baseada em CRISPR-Cas para o HIV enfrenta desafios significativos. Um dos principais é o escape viral, onde o mecanismo de reparo celular de quebras de dupla fita (NHEJ) pode introduzir mutações no genoma viral que o tornam resistente a futuras edições pelo sistema CRISPR (Herskovitz et al., 2022; Hussein et al., 2023). Outra preocupação de segurança são os efeitos *off-target*, que consistem em clivagens não intencionais no genoma do hospedeiro, com potencial para causar deleções cromossômicas ou oncogênese (Hussein et al., 2023). A entrega eficiente e segura dos componentes do sistema CRISPR para todas as células do reservatório viral também permanece um obstáculo logístico considerável, com vetores virais como os vírus adeno-associados (AAV) e lentivírus apresentando vantagens e desvantagens em termos de capacidade de carga e risco de integração (Hussein et al., 2023). Finalmente, a imunogenicidade das proteínas Cas, de origem bacteriana, pode provocar uma resposta imune no hospedeiro, comprometendo a eficácia da terapia (Hussein et al., 2023).

4 CONCLUSÃO

A conclusão fundamental desta revisão é que a tecnologia CRISPR-Cas representa a abordagem mais promissora até o momento para o desenvolvimento de uma cura funcional ou esterilizante para o HIV. Ao oferecer um mecanismo para atacar diretamente o reservatório viral latente — a barreira intransponível para as terapias atuais —, a edição genética tem o potencial de revolucionar o tratamento da AIDS, movendo o objetivo de uma supressão vitalícia para a erradicação completa do vírus.

As implicações desta pesquisa são profundas, fornecendo uma prova de conceito robusta para duas frentes terapêuticas: a excisão viral e a imunização celular genética (nockout do *CCR5*). No entanto, a conclusão também serve como um alerta ponderado, ressaltando que a transição da pesquisa para a prática clínica enfrenta obstáculos críticos de segurança e eficácia. As principais limitações que impedem a aplicação imediata são os riscos de efeitos *off-target*, que podem ter consequências oncogênicas, e a dificuldade em garantir a entrega do sistema CRISPR a 100% das células do reservatório viral sem provocar uma resposta imune adversa.

Para o futuro, o artigo aponta que a pesquisa deve se concentrar intensamente na otimização da segurança e da especificidade dos sistemas CRISPR, no desenvolvimento de vetores de entrega mais eficientes e seguros (possivelmente não virais) e na criação de estratégias combinadas para prevenir o escape viral. A superação desses desafios é a condição indispensável para que a promessa da cura do HIV através da edição genética possa se tornar uma realidade clínica segura e acessível.



REFERÊNCIAS

HERSKOVITZ, J. et al. Pathways Toward a Functional HIV-1 Cure: Balancing Promise and Perils for CRISPR Therapy. *Methods in Molecular Biology*, v. 2407, p. 429-445, 2022.

HUSSEIN, M. et al. A CRISPR-Cas Cure for HIV/AIDS. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 2, p. 1563, 2023.

KHAMAIKAWIN, W. et al. CRISPR/Cas9 genome editing of CCR5 combined with C46 HIV-1 fusion inhibitor for cellular resistant to R5 and X4 tropic HIV-1. *Scientific Reports*, v. 14, n. 10852, 2024.

MASLENNIKOVA, A.; MAZUROV, D. Application of CRISPR/Cas Genomic Editing Tools for HIV Therapy: Toward Precise Modifications and Multilevel Protection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, p. 880030, 2022.