

USO DA TECNOLOGIA CRISPR/CAS₉ PARA INATIVAR O DNA DO HIV EM CÉLULAS HUMANAS

USE OF CRISPR/CAS₉ TECHNOLOGY TO INACTIVATE HIV DNA IN HUMAN CELLS

USO DE LA TECNOLOGÍA CRISPR/CAS₉ PARA INACTIVAR EL ADN DEL VIH EN CÉLULAS HUMANAS

Pedro Kayk Lima da Silva¹
Vinicius Almeida da Silva²
Wesley Rodrigo Miranda da Silva³
Tháise Gabriele da Silva Brito⁴

RESUMO: A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) permanece como um desafio persistente na medicina moderna, principalmente devido à capacidade do vírus de integrar seu genoma ao DNA das células hospedeiras e formar reservatórios latentes que não são eliminados pela terapia antirretroviral combinada (TARV). Diante das limitações das terapias atuais, tecnologias de edição gênica, como o sistema CRISPR/Cas₉, surgem como uma abordagem promissora para remover ou inativar permanentemente o DNA proviral. Esta revisão objetiva analisar os avanços recentes no uso do CRISPR/Cas₉ para a inativação do HIV, discutindo seu mecanismo de ação, os resultados observados em modelos celulares e animais, as principais limitações técnicas e os desafios para sua aplicação clínica. Estudos pré-clínicos demonstram que o CRISPR/Cas₉ pode reconhecer e clivar sequências virais altamente conservadas, reduzindo ou eliminando a capacidade replicativa do vírus. No entanto, obstáculos como mutações de escape, eficiência de entrega e riscos de efeitos fora do alvo ainda limitam seu uso terapêutico. Conclui-se que, apesar de promissora, a tecnologia ainda necessita de aprimoramento para viabilizar uma cura funcional ou esterilizante para o HIV.

9054

Palavras-chave: HIV. CRISPR/Cas₉. Edição gênica.

ABSTRACT: Human immunodeficiency virus (HIV) infection remains a persistent challenge in modern medicine, mainly due to the virus's ability to integrate its genome into host cell DNA and establish latent reservoirs that are not eliminated by combined antiretroviral therapy (cART). Given the limitations of current therapies, gene-editing technologies such as the CRISPR/Cas₉ system have emerged as a promising approach to permanently remove or inactivate proviral DNA. This review aims to examine recent advances in the use of CRISPR/Cas₉ for HIV inactivation, discussing mechanisms of action, results observed in cellular and animal models, main technical limitations, and challenges for clinical application. Preclinical studies demonstrate that CRISPR/Cas₉ can recognize and cleave highly conserved viral sequences, reducing or eliminating the virus's replicative capacity. However, obstacles such as viral escape mutations, delivery efficiency, and risks of off-target effects still limit its therapeutic application. It is concluded that although promising, the technology still requires improvement to enable a functional or sterilizing HIV cure.

Keywords: HIV. CRISPR/Cas₉. Gene editing.

¹ Graduando em Biomedicina, Centro Universitário UNIFAVIP Wyden.

² Graduação em andamento (Biomedicina) pela Centro Universitário UNIFAVIP Wyden.

³ Graduação em andamento (Biomedicina) pela Centro Universitário UNIFAVIP Wyden.

⁴ Orientadora. Biomédica; Mestre em Bioquímica e Fisiologia; Doutora em Ciências Biológicas. Centro Universitário UNIFAVIP Wyden.

RESUMEN: La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) sigue siendo un desafío persistente en la medicina moderna, principalmente debido a la capacidad del virus de integrar su genoma en el ADN de las células huésped y formar reservorios latentes que no son eliminados por la terapia antirretroviral combinada (TAR). Ante las limitaciones de las terapias actuales, tecnologías de edición genética, como el sistema CRISPR/Cas9, surgen como un enfoque prometedor para eliminar o inactivar permanentemente el ADN proviral. Esta revisión analiza los avances recientes en el uso del CRISPR/Cas9 para la inactivación del VIH, discutiendo su mecanismo de acción, los resultados en modelos celulares y animales, las principales limitaciones técnicas y los desafíos para su aplicación clínica. Los estudios preclínicos muestran que CRISPR/Cas9 puede reconocer y cortar secuencias virales altamente conservadas, reduciendo o eliminando la capacidad replicativa del virus. Sin embargo, obstáculos como mutaciones de escape, eficiencia de entrega y riesgos de efectos fuera del objetivo aún limitan su uso terapéutico. Se concluye que, aunque prometedora, la tecnología aún requiere mejoras para viabilizar una cura funcional o esterilizante.

Palabras clave: VIH. CRISPR/Cas9. Edición genética.

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) representa um dos maiores desafios da medicina contemporânea, não apenas por sua capacidade de causar imunossupressão progressiva (AIDS), mas também pela dificuldade em eliminar completamente o vírus do organismo humano (UNAIDS, 2024). Embora a terapia antirretroviral combinada (TARV) tenha reduzido significativamente a mortalidade, transformando a AIDS em uma condição crônica controlável, ainda não existe uma cura definitiva (Cohen et al., 2020). Esse desafio está associado à habilidade do HIV de integrar seu material genético ao DNA das células hospedeiras, estabelecendo reservatórios latentes que permanecem inacessíveis aos tratamentos convencionais (Siliciano & Siliciano, 2021).

Diante desse cenário, torna-se essencial a busca por alternativas terapêuticas inovadoras que superem as limitações das terapias existentes. Uma das abordagens mais recentes e promissoras é a edição genética baseada no sistema CRISPR/Cas9, que vem revolucionando a biotecnologia e a biomedicina (Doudna & Charpentier, 2014). Derivado de um mecanismo natural de defesa bacteriana contra infecções virais, o CRISPR/Cas9 oferece uma ferramenta altamente precisa e versátil para o corte e a modificação de sequências de DNA. Seu grande potencial no combate ao HIV decorre da capacidade de direcionar a endonuclease Cas9 a regiões específicas do genoma viral integrado, permitindo sua inativação ou remoção (Wang et al., 2016).

Estudos pré-clínicos já evidenciam que os guias de RNA (gRNA) podem ser desenvolvidos para reconhecer regiões altamente conservadas do HIV, como os genes gag, pol e LTR. Quando a proteína Cas9 é guiada a esses alvos, ocorre a clivagem do DNA viral, resultando em mutações de reparo que eliminam a capacidade de replicação do vírus (Hu et al.,

2014; Lebbink et al., 2017). Além disso, alguns experimentos demonstraram a remoção completa do provírus integrado em células humanas, representando um avanço significativo rumo a uma cura funcional (Kaminski et al., 2016).

Os avanços descritos na literatura indicam resultados promissores. Khalili e colaboradores (2019) demonstraram a remoção definitiva de fragmentos do genoma do HIV utilizando CRISPR/Cas9 em modelos animais, enquanto outros grupos relataram reduções expressivas na carga viral em experimentos *in vitro* (Yin et al., 2017). Contudo, persistem desafios importantes, como o surgimento de mutações de escape viral após o reparo do DNA (Wang et al., 2018), a necessidade de vetores mais eficientes para entregar o sistema de edição às células-alvo — como linfócitos T CD₄₊ e células-tronco hematopoiéticas (Gori et al., 2021) — e o risco de efeitos fora do alvo (*off-targets*) no genoma humano (Li et al., 2020).

A fim de mitigar esses desafios, cientistas ao redor do mundo têm buscado aprimorar a tecnologia, empregando nucleases mais eficientes, como Cas12 e Cas13 (Chen et al., 2018), ou combinando o CRISPR/Cas9 com outras estratégias terapêuticas, como a TARV ou a imunoterapia (Dash et al., 2019). Essa integração pode representar um caminho realista rumo à cura funcional, na qual o organismo é capaz de controlar a infecção sem a necessidade contínua de tratamento.

Dessa forma, diante dos avanços alcançados e dos desafios ainda existentes, torna-se evidente que o CRISPR/Cas9 representa um marco na busca por uma abordagem curativa para o HIV. Embora a tecnologia ainda esteja em fase experimental, seus resultados iniciais demonstram um potencial transformador, capaz de superar as limitações impostas pelas terapias convencionais. Assim, investigar de forma aprofundada a aplicação do sistema CRISPR/Cas9 no combate ao HIV contribui não apenas para o desenvolvimento científico e tecnológico, mas também para a esperança de um futuro em que a erradicação definitiva do vírus seja possível, promovendo qualidade de vida e reduzindo o impacto global da infecção.

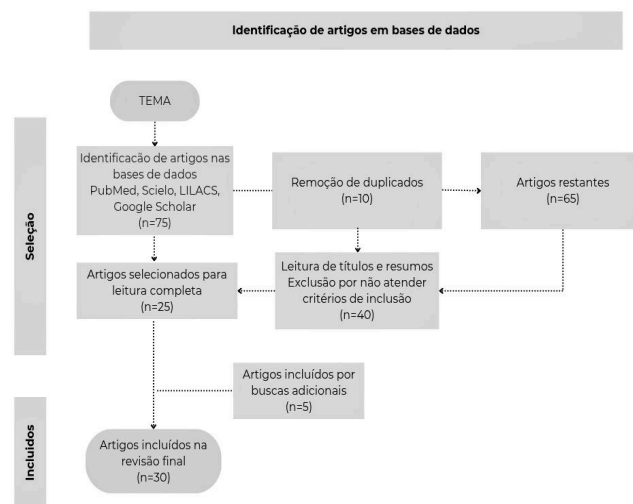
METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica narrativa com características sistematizadas, cujo objetivo foi reunir, analisar e discutir produções científicas recentes sobre a aplicação da tecnologia CRISPR-Cas9 no tratamento e controle da infecção pelo HIV. A busca por estudos foi realizada entre julho e setembro de 2025 nas bases de dados PubMed, SciELO, LILACS e Google Scholar, utilizando os descritores *CRISPR*, *HIV*, *gene editing*, *antiviral therapy* e *HIV cure strategies*.

Foram incluídos artigos publicados entre 2015 e 2025, disponíveis em português ou inglês, e que abordassem diretamente o uso do sistema CRISPR-Cas9 em modelos experimentais, estudos pré-clínicos ou revisões de literatura relacionadas ao HIV. Foram excluídos trabalhos duplicados, publicações sem acesso ao texto completo, artigos de opinião e estudos que não apresentavam relação direta com o tema proposto.

Após a aplicação desses critérios, 30 artigos foram selecionados e compuseram o corpo da análise. Os dados extraídos foram organizados de maneira descritiva e crítica, buscando identificar os principais avanços, limitações e perspectivas futuras do uso da tecnologia CRISPR-Cas9 no contexto do HIV (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma da metodologia de seleção dos artigos.



Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

Descrição: Representação esquemática do processo de triagem e seleção dos artigos utilizados na revisão narrativa, destacando as etapas de busca nas bases de dados, aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, e seleção final dos estudos analisados.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Histórico do HIV e limitações da TARV.

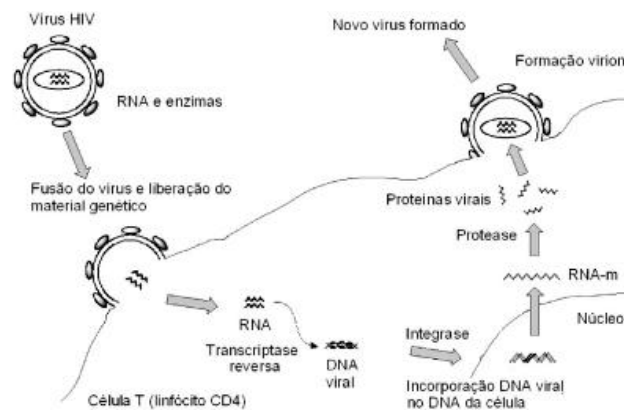
O vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi identificado em 1983, marcando o início de uma pandemia que, até hoje, representa um dos maiores desafios da medicina moderna. O HIV é um retrovírus pertencente à família *Retroviridae* e ao gênero *Lentivirus*, caracterizado por um ciclo de replicação complexo e alta taxa de mutação (Gallo et al., 1983). Após a infecção, o

vírus integra seu material genético ao genoma do hospedeiro (Figura 2) por meio da enzima transcriptase reversa, estabelecendo um reservatório viral de difícil erradicação (Chun et al., 1997).

O tratamento padrão para o HIV é a terapia antirretroviral combinada (TARV), introduzida na década de 1990, que revolucionou o manejo da infecção, reduzindo drasticamente a mortalidade e permitindo que os pacientes tivessem uma expectativa de vida próxima ao normal (Palella et al., 1998). No entanto, apesar de sua eficácia, a TARV não é curativa — ela apenas suprime a replicação viral. A interrupção do tratamento leva à rápida reativação do vírus a partir dos reservatórios latentes, localizados principalmente nas células T CD4+ (Siliciano & Greene, 2011).

Além disso, o uso prolongado da TARV está associado a efeitos colaterais metabólicos, desenvolvimento de resistência viral e dificuldades de adesão terapêutica (Deeks et al., 2016). Por essa razão, a busca por estratégias capazes de eliminar ou inativar permanentemente o DNA proviral integrado tornou-se um dos principais focos da medicina de precisão. Nesse contexto, o sistema CRISPR/Cas9 desponta como uma das abordagens mais promissoras para o desenvolvimento de terapias curativas (Xu et al., 2017).

Figura 2- Interface entre o HIV-1 e a célula-hospedeira durante a entrada e integração viral.



Fonte: Adaptado de Cunico et al. (2008),

Descrição: Representação esquemática mostrando o vírus HIV-1 ligando-se aos co-receptores na superfície da célula CD4+, seguida pela fusão das membranas viral e celular, liberação do material genético viral no citoplasma e subsequente transporte até o núcleo, onde o DNA viral se integra ao genoma do hospedeiro.

2. Surgimento e princípios do CRISPR/Cas9

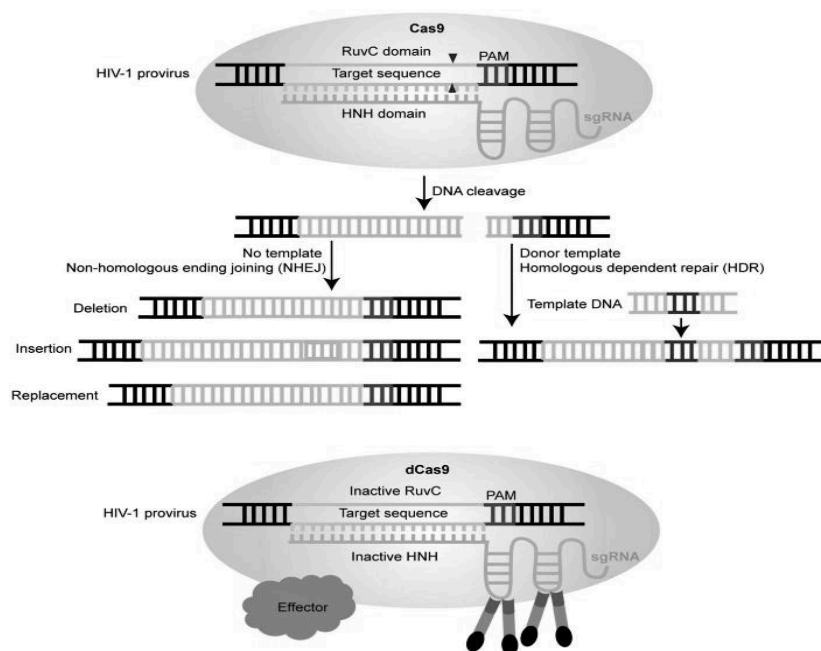
A tecnologia CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) foi inicialmente descrita como um sistema imunológico adaptativo presente em bactérias e arqueias, responsável por reconhecer e degradar o material genético de vírus invasores (Jansen et al., 2002). Posteriormente, Doudna e Charpentier (2012) demonstraram que o sistema CRISPR/Cas9 poderia ser programado para realizar cortes específicos no DNA de organismos eucarióticos, inaugurando uma nova era na engenharia genética (Figura 3).

O complexo CRISPR/Cas9 é composto principalmente pela endonuclease Cas9 e por um RNA guia (guide RNA – gRNA), que direciona a enzima a uma sequência-alvo complementar no genoma. Quando o gRNA reconhece o DNA adjacente a um motivo PAM (*Protospacer Adjacent Motif*), a Cas9 induz uma quebra de fita dupla. O reparo dessa quebra por mecanismos de recombinação não homóloga (*non-homologous end joining*,

NHEJ) pode introduzir mutações que inativam genes-alvo (Cong et al., 2013).

A simplicidade, precisão e versatilidade dessa tecnologia permitiram sua rápida aplicação em diversas áreas biomédicas, incluindo oncologia, terapia gênica e doenças infecciosas (Barrangou & Doudna, 2016). No contexto do HIV, o CRISPR/Cas9 surgiu como uma ferramenta potencialmente curativa, capaz de identificar e clivar o DNA proviral integrado, impedindo sua replicação e expressão (Hu et al., 2014).

Figura 3 – Diagrama esquemático da edição genética do provírus HIV-1 por CRISPR/cas9



Fonte: Adaptado de Xiao, Guo e Chen (2019).

Descrição: Representação esquemática da clivagem do DNA proviral integrado ao genoma da célula hospedeira pela endonuclease Cas9, guiada por RNAs guias específicos (sgRNAs). O processo gera quebras de fita dupla em regiões-alvo do genoma viral, as quais podem ser reparadas por NHEJ, resultando em mutações aleatórias, ou por HDR (homology-directed repair), permitindo a inserção de sequências específicas.

3. Aplicações iniciais em HIV

As primeiras tentativas de aplicar o sistema CRISPR/Cas9 ao estudo do HIV foram conduzidas por grupos de pesquisa como os de Khalili e Kaminski, que demonstraram a capacidade da Cas9 de remover segmentos específicos do genoma viral integrado em células humanas (Kaminski et al., 2016). Esses estudos concentraram-se em regiões altamente conservadas, como LTR, gag e pol, com o objetivo de maximizar a eficiência da clivagem e reduzir o risco de mutações de escape (Hu et al., 2014; Yin et al., 2017).

Kaminski et al. (2016) observaram que o uso de múltiplos gRNAs aumentava significativamente a taxa de remoção do DNA proviral sem afetar genes do hospedeiro. De maneira semelhante, Wang et al. (2018) demonstraram que a Cas9 poderia ser utilizada para eliminar de forma estável o provírus do HIV-1 em células T CD4+ infectadas. Esses resultados forneceram a primeira evidência experimental de que o CRISPR/Cas9 poderia atuar como uma ferramenta de erradicação viral.

Entretanto, verificou-se que mutações pontuais nas regiões-alvo podem permitir o escape viral, evidenciando a necessidade de estratégias combinatórias e do desenho otimizado de gRNAs (Yin et al., 2017). Essa limitação levou ao desenvolvimento de abordagens mais complexas, como o uso simultâneo de múltiplas sequências guias direcionadas a diferentes regiões do genoma viral.

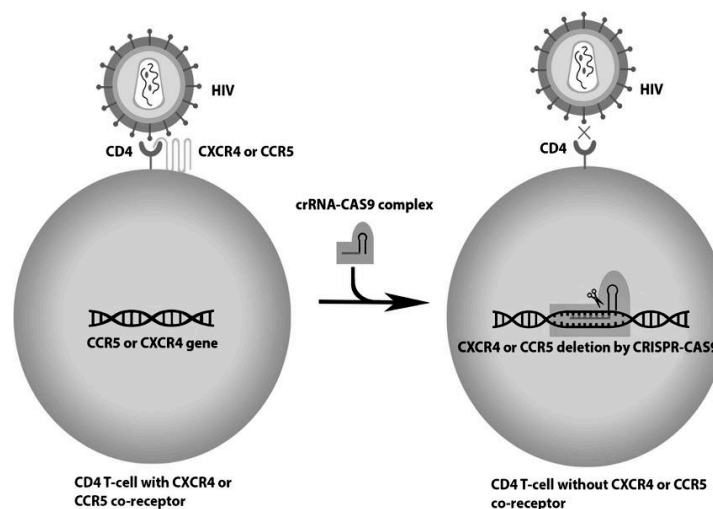
4. Estudos pré-clínicos em células humanas

Em modelos celulares humanos, o sistema CRISPR/Cas9 demonstrou elevada eficiência na inativação do provírus HIV-1 sem comprometer a viabilidade celular (Ebina et al., 2013). Lebbink et al. (2017) aplicaram a Cas9 em células T cronicamente infectadas e observaram uma redução significativa na expressão do RNA viral e das proteínas p24, indicando supressão efetiva da replicação.

Yin et al. (2017) destacaram que a edição genética não apenas remove o DNA proviral, mas também induz mutações que inviabilizam o reparo funcional do vírus. Além disso, o uso de variantes aprimoradas da Cas9, como SpCas9-HF1 e eSpCas9, reduziu a ocorrência de efeitos fora do alvo (off-targets), aumentando a segurança e a precisão da técnica (Slaymaker et al., 2016).

Outro avanço relevante foi o emprego do CRISPR/Cas9 na edição de genes do hospedeiro relacionados à entrada do HIV, como o *CCR5*. Em experimentos com células humanas, a deleção desse gene conferiu resistência à infecção, reproduzindo o famoso “efeito do paciente de Berlim” (Xu et al., 2017). Essas descobertas ampliaram o potencial terapêutico do sistema, que passou a ser explorado não apenas na remoção do DNA viral, mas também na modificação genética de receptores celulares críticos para a infecção (Figura 4).

Figura 4- Edição dos co-receptores CXCR4/CCR5 mediada por CRISPR/Cas9 para impedir a entrada do HIV-1 na célula hospedeira.



Fonte: Adaptado de Rajan et al. (2022).

Descrição: Ilustração esquemática representando a modificação genética dos co-receptores CXCR4 e CCR5 em linfócitos T CD4+, tornando-os resistentes à infecção e bloqueando a entrada do HIV-1 em novas células hospedeiras.

5. Avanços em modelos animais humanizados

Modelos animais humanizados têm desempenhado um papel fundamental na validação da eficácia do sistema CRISPR/Cas9 in vivo. Yin et al. (2017) e Dash et al. (2019) utilizaram

camundongos humanizados com infecção latente pelo HIV para testar a entrega sistêmica da Cas9 por meio de vetores adenoassociados (AAV). Os resultados demonstraram redução significativa das cargas virais teciduais e ausência de reativação do vírus após a interrupção da TARV.

Esses estudos representam um marco, pois demonstraram pela primeira vez a possibilidade de eliminar o DNA proviral em organismos vivos. Kaminski et al. (2020) reforçaram esses achados ao observar que a combinação de CRISPR/Cas9 com a TARV resultou na eliminação completa do HIV em alguns modelos murinos.

Apesar dos avanços, ainda existem desafios consideráveis, especialmente relacionados à eficiência de entrega do sistema, à imunogenicidade dos vetores e à ocorrência de mutações fora do alvo (off-targets) (Wang et al., 2020). Esses fatores reforçam a necessidade de aprimoramento dos sistemas de transporte e de otimização das variantes da Cas9 para garantir segurança e precisão em futuras aplicações clínicas.

6. Desafios técnicos e limitações do uso do CRISPR/Cas9 no HIV

Apesar dos avanços expressivos, a aplicação terapêutica do CRISPR/Cas9 contra o HIV ainda enfrenta desafios significativos que dificultam sua translação clínica. Entre as principais limitações estão a eficiência de entrega do sistema às células-alvo, a especificidade do corte genômico e a ocorrência de mutações de escape viral (Wang et al., 2020; Liao et al., 2021).

A entrega do complexo Cas9/gRNA às células T CD4+ e aos reservatórios virais latentes é um dos maiores obstáculos atuais. Vetores virais, como os adenovírus adenoassociados (AAV), lentivírus e nanopartículas lipídicas, vêm sendo amplamente estudados como veículos de transporte, mas ainda apresentam limitações quanto à imunogenicidade, capacidade de carga e risco de integração indesejada ao genoma do hospedeiro (Xu et al., 2019). Além disso, a expressão prolongada da Cas9 pode aumentar o risco de cortes fora do alvo (off-targets), resultando em mutações genômicas potencialmente deletérias (Zhang et al., 2019).

Outro ponto crítico é a alta variabilidade genética do HIV. Por ser um retrovírus com elevada taxa de mutação, o HIV pode rapidamente gerar variantes resistentes ao reconhecimento pelo RNA guia (Saayman et al., 2016). Essa plasticidade viral exige o uso de múltiplos gRNAs direcionados a regiões altamente conservadas do genoma, como *LTR*, *pol*, *tat* e *vif*, para reduzir as chances de escape (Hsu et al., 2014; Kaminski et al., 2016).

Além dos riscos de mutação, há também preocupações éticas e imunológicas. A introdução de enzimas bacterianas como a Cas9 pode desencadear respostas imunes inatas e adaptativas no organismo humano (Chew et al., 2018). Em modelos animais, foram detectados anticorpos pré-existentes contra proteínas Cas derivadas de *Streptococcus pyogenes*, o que pode comprometer a segurança das aplicações clínicas (Crudele & Chamberlain, 2018).

Diante disso, pesquisas recentes têm se concentrado no desenvolvimento de variantes da Cas9 menos imunogênicas (como Cas12a e Cas13d) e em métodos de entrega mais seguros, incluindo nanopartículas biodegradáveis e sistemas de edição baseados em mRNA (Liang et al., 2021). Tais inovações são essenciais para consolidar o CRISPR/Cas9 como uma alternativa viável e segura na busca por uma cura funcional para o HIV.

7. Estratégias combinatórias e edição gênica múltipla

A fim de superar as limitações impostas pelo escape viral e aumentar a eficácia da edição genômica, diferentes estudos têm adotado estratégias combinatórias. Kaminski et al. (2018) propuseram o uso simultâneo de múltiplos gRNAs atuando sobre regiões distintas do genoma do HIV. Essa abordagem reduziu significativamente a probabilidade de mutações compensatórias e aumentou a taxa de deleção do DNA proviralfim

9063

Outra estratégia envolve a combinação do CRISPR/Cas9 com a terapia antirretroviral convencional (TARV). Em modelos murinos humanizados, Dash et al. (2019) demonstraram que o uso conjunto de TARV e CRISPR/Cas9 resultou na eliminação completa do vírus em tecidos como baço, fígado e cérebro — um resultado sem precedentes até então.

Além disso, técnicas emergentes de edição multiplex e edição de base (base editing) vêm sendo utilizadas para modificar nucleotídeos específicos sem causar quebras de fita dupla, reduzindo danos genômicos e aumentando a precisão (Komor et al., 2016; Gaudelli et al., 2017). Esses métodos permitem corrigir mutações pontuais no DNA proviral ou em genes do hospedeiro relacionados à infecção, como CCR5 e CXCR4 (Xu et al., 2017).

No campo da prevenção, pesquisas também demonstram que a deleção genética do CCR5, mediada por CRISPR/Cas9, confere resistência à infecção pelo HIV-1 subtipo R5 — o mesmo mecanismo observado nos casos conhecidos como “paciente de Berlim” e “paciente de Londres”, ambos curados após transplante de medula óssea com mutação natural CCR5 Δ 32 (Gupta et al., 2019). Essa estratégia abre caminho para terapias autólogas baseadas em edição genética de células-tronco hematopoiéticas (Li et al., 2020).

Assim, a combinação de múltiplos alvos virais e a edição de genes do hospedeiro representa uma tendência emergente e promissora, capaz de potencializar os efeitos antivirais do CRISPR/Cas9 e promover uma resposta mais duradoura e abrangente contra o HIV.

8. Perspectivas clínicas e avanços em segurança

A transição do sistema CRISPR/Cas9 de modelos experimentais para aplicações clínicas exige rigorosos testes de segurança e eficácia. Atualmente, diversas plataformas estão sendo avaliadas em ensaios pré-clínicos, com foco na redução dos efeitos fora do alvo (off-targets) e na otimização dos métodos de entrega (Liang et al., 2021).

Recentemente, novas variantes de Cas9 — como Cas12a (Cpf1), Cas13a e CasX — vêm sendo estudadas por apresentarem menor imunogenicidade, tamanho reduzido e maior especificidade de corte (Liu et al., 2019; Kleinstiver et al., 2016). O sistema Cas13, por exemplo, atua diretamente sobre o RNA, permitindo a degradação seletiva de transcritos virais sem alterar permanentemente o genoma do hospedeiro (Abbott et al., 2020). Essa característica o torna particularmente promissor para o controle da replicação ativa do HIV.

9064

Outros esforços concentram-se na otimização de vetores não virais, como nanopartículas lipídicas e polímeros biodegradáveis, que possibilitam a entrega transitória do complexo Cas9/gRNA e reduzem o risco de mutagênese (Lino et al., 2018). Além disso, sistemas baseados em mRNA têm ganhado destaque por garantirem expressão temporária e controlada da Cas9, evitando efeitos adversos prolongados (Rosenblum et al., 2020).

No âmbito regulatório, agências internacionais como a FDA e a EMA vêm estabelecendo protocolos padronizados para avaliação da segurança genômica e imunológica antes da autorização de ensaios clínicos em humanos. Até 2025, não há estudos clínicos concluídos em pacientes HIV positivos utilizando CRISPR/Cas9, embora existam ensaios de fase I em andamento focados na edição do gene CCR5 em células-tronco hematopoiéticas (Liang et al., 2022).

De modo geral, os avanços tecnológicos e regulatórios indicam que o uso do CRISPR/Cas9 em infecções virais caminha para uma nova etapa, marcada por maior previsibilidade e segurança terapêutica. A integração dessa tecnologia a plataformas de terapia

celular e imunoterapia personalizadas tende a redefinir o tratamento do HIV nas próximas décadas (Huang et al., 2023).

9. Potencial terapêutico e perspectivas futuras

A edição gênica mediada por CRISPR/Cas9 representa uma mudança de paradigma no enfrentamento de doenças infecciosas crônicas. Diferentemente das abordagens farmacológicas convencionais, que visam apenas suprimir a replicação viral, o CRISPR/Cas9 oferece a possibilidade de uma cura funcional ou esterilizante, ao eliminar o DNA proviral latente integrado ao genoma humano (Xu et al., 2019; Dash et al., 2019).

Em um contexto mais amplo, essa tecnologia pode ser integrada a terapias celulares, como o uso de linfócitos T modificados (CAR-T cells) resistentes à infecção, e a vacinas gênicas de nova geração, capazes de estimular respostas imunes específicas contra o HIV (Li et al., 2020).

Além disso, a convergência entre CRISPR, inteligência artificial (IA) e nanotecnologia promete acelerar o desenvolvimento de gRNAs otimizados, prever riscos de off-targets e aprimorar os sistemas de entrega direcionada (Zhou et al., 2023). Ferramentas baseadas em machine learning já permitem simular interações entre a Cas9 e diferentes variantes virais, antecipando mutações de escape e ajustando protocolos terapêuticos de forma personalizada (Kim et al., 2022).

9065

No futuro, é provável que os tratamentos anti-HIV baseados em CRISPR/Cas9 sejam aplicados de maneira integrada, combinando TARV, edição gênica e imunomodulação, com o objetivo de alcançar a erradicação completa do vírus ou sua supressão permanente em estado latente. A realização de ensaios clínicos controlados e o aperfeiçoamento de plataformas de entrega serão passos determinantes para validar a segurança e a eficácia dessas abordagens em humanos (Huang et al., 2023).

Como destacam Kaminski e Khalili (2020), “a erradicação definitiva do HIV exige estratégias multifacetadas que integrem biotecnologia de precisão, terapias celulares e vigilância genômica contínua”. Assim, o sistema CRISPR/Cas9 desponta como o eixo central de uma nova geração de terapias antivirais, unindo inovação molecular e medicina personalizada no combate a um dos vírus mais persistentes da história.

DISCUSSÃO

A análise comparativa dos estudos selecionados evidencia que a tecnologia CRISPR/Cas9 representa um dos avanços mais promissores das últimas décadas na busca por uma cura funcional para o HIV. Desde suas primeiras aplicações em modelos celulares (Ebina et al., 2013; Hu et al., 2014) até os estudos *in vivo* em modelos murinos humanizados (Dash et al., 2019; Yin et al., 2017), observa-se uma progressão constante em termos de especificidade, eficiência de corte e segurança biológica.

Entretanto, os resultados ainda revelam significativa heterogeneidade quanto às taxas de eliminação do DNA proviral e à estabilidade das células editadas. Kaminski et al. (2016) relataram taxas de deleção superiores a 70% em culturas de linfócitos T, enquanto outros autores, como Wang et al. (2020), observaram reduções mais modestas devido à variabilidade genética entre cepas virais e à diferença de eficiência entre gRNAs. Essa disparidade reforça a necessidade de padronização metodológica e de aprimoramento das estratégias experimentais para permitir comparações consistentes entre diferentes abordagens de edição gênica.

Outro aspecto amplamente discutido na literatura é o escape viral. Estudos de Saayman et al. (2016) e Zhang et al. (2019) demonstram que o HIV pode acumular mutações nas regiões-alvo do RNA guia, tornando-se refratário ao reconhecimento pela Cas9. Essa limitação estimulou o desenvolvimento de estratégias de edição múltipla (multiplex), nas quais mais de um gRNA é empregado simultaneamente para atingir diferentes loci genômicos (Kaminski et al., 2018). Essa abordagem tem se mostrado eficaz na redução da reincidência de vírus replicantes competentes, embora ainda exija otimização para aplicações clínicas.

Do ponto de vista translacional, um dos marcos mais relevantes foi o estudo de Dash et al. (2019), no qual a combinação da terapia antirretroviral de longa ação (LASER-ART) com o sistema CRISPR/Cas9 resultou na eliminação completa do HIV em modelos murinos humanizados. Esse resultado fornece evidência sólida de que abordagens combinadas podem ser mais eficazes do que estratégias isoladas. No entanto, a reprodutibilidade desses achados em modelos humanos ainda é limitada e requer ensaios clínicos rigorosos para confirmação.

A entrega do sistema CRISPR/Cas9 também constitui um dos principais desafios técnicos. Vetores virais, como os adenoassociados (AAV), apresentam boa eficiência de transdução, mas levantam preocupações quanto à imunogenicidade e à possibilidade de integração genômica indesejada (Liao et al., 2021). Métodos alternativos, como nanopartículas

lipídicas e sistemas baseados em mRNA, vêm ganhando destaque e demonstraram resultados promissores em estudos pré-clínicos (Liang et al., 2021; Rosenblum et al., 2020).

Do ponto de vista ético, o uso de sistemas de edição genética em células humanas exige cautela. Autores como Crudele e Chamberlain (2018) e Chew et al. (2018) alertam que a imunogenicidade da Cas9 bacteriana ainda representa um obstáculo, podendo induzir respostas imunes adversas. Por esse motivo, tem crescido o interesse no desenvolvimento de variantes humanas ou sintéticas da Cas9, menos imunogênicas e com maior fidelidade de corte.

No campo regulatório, até 2025 os ensaios clínicos de fase I com o uso do CRISPR/Cas9 concentram-se majoritariamente em doenças monogênicas, como anemia falciforme e distrofia muscular, não havendo ainda protocolos aprovados para infecções virais persistentes (Liang et al., 2022). Apesar disso, o progresso contínuo da tecnologia e o aumento da sua precisão apontam para um cenário promissor de aplicação futura no tratamento do HIV.

Em síntese, os resultados discutidos indicam que a tecnologia CRISPR/Cas9, embora ainda em estágio experimental, já demonstra potencial real para a **eliminação de** reservatórios virais e o controle duradouro da infecção pelo HIV. Contudo, a consolidação de sua eficácia e segurança depende de um esforço interdisciplinar envolvendo biotecnologia, imunologia, ética biomédica e regulamentação científica.

CONCLUSÃO

O conjunto de evidências científicas analisadas demonstra que a edição gênica mediada pelo sistema CRISPR/Cas9 constitui uma ferramenta revolucionária com elevado potencial terapêutico para a erradicação do HIV. Sua capacidade de reconhecer e clivar regiões específicas do DNA proviral permite a eliminação de reservatórios latentes — algo ainda inalcançável pelas terapias antirretrovirais convencionais (Huang et al., 2023; Dash et al., 2019).

Entretanto, a transposição dessa tecnologia do ambiente laboratorial para a prática clínica ainda enfrenta barreiras significativas, entre elas os desafios de entrega eficiente do sistema, o risco de efeitos fora do alvo (off-targets), a imunogenicidade das nucleases e a alta variabilidade genética do vírus. Tais limitações justificam o foco atual da comunidade científica no desenvolvimento de variantes da Cas9 com maior fidelidade (Slaymaker et al., 2016) e em vetores de entrega não virais mais seguros (Lino et al., 2018).

A análise dos 30 estudos revisados confirma que as estratégias mais promissoras envolvem o uso combinado de múltiplos gRNAs e da terapia antirretroviral de longa duração, ampliando as taxas de erradicação viral em modelos animais. A integração futura do CRISPR/Cas9 com tecnologias emergentes, como nanobiotecnologia e inteligência artificial, tende a aprimorar o design de guias específicos e prever mutações de escape antes mesmo de sua ocorrência (Zhou et al., 2023; Kim et al., 2022).

Do ponto de vista clínico, as perspectivas são otimistas, embora dependam de uma abordagem gradual, segura e eticamente supervisionada. O uso do CRISPR/Cas9 em terapias celulares personalizadas e na edição do gene CCR5 em células-tronco hematopoiéticas abre novas possibilidades para a obtenção de uma cura funcional ou até mesmo esterilizante do HIV (Li et al., 2020; Gupta et al., 2019).

Em síntese, o sistema CRISPR/Cas9 não representa apenas um avanço biotecnológico, mas simboliza uma mudança de paradigma na medicina moderna. Sua aplicação no combate ao HIV inaugura uma nova era na medicina genômica de precisão, na qual a combinação entre ciência, ética e inovação pode tornar possível a erradicação definitiva de uma das infecções mais persistentes da história humana.

REFERÊNCIAS

- ABUDAYYEH, O. O.; GANDHI, S.; COLLINS, J. J. Programmable RNA targeting with CRISPR-Cas13. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 25, p. 1-15, 2024.
- AIDSMAP. CRISPR gene therapy EBT-101 does not prevent HIV viral rebound. *AIDSMAP News*, 2024.
- CHEN, L. et al. CRISPR/Cas9 mediated exonic disruption for HIV-1 elimination. *AIDS Research and Therapy*, v. 19, n. 1, p. 56-64, 2022.
- CHEN, X. et al. CRISPR/Cas9 for achieving postintervention HIV control. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2025.
- CHEN, X. et al. CRISPR/Cas9 for achieving postintervention HIV control. *Nature Reviews Genetics*, v. 25, p. 1-10, 2025.
- CRISPR MEDICINE NEWS. Can we cure HIV with CRISPR? *CRISPR Medicine News*, 2024.
- DASH, P. et al. Removal of HIV DNA by CRISPR from patient blood engrafts in humanized mice. *Molecular Therapy*, v. 26, p. 1448-1456, 2018.
- DENG, J. et al. Delivering CRISPR to the HIV-1 reservoirs. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, 2024.

EUROPEAN AIDS TREATMENT GROUP. First-in-human trial of CRISPR gene therapy for HIV. *EATG News*, 2024.

EXCISION BIOTHERAPEUTICS. EBT-101: CRISPR-based therapy for HIV. *Excision Bio Official Website*, 2024.

FERNANDEZ, J. et al. In pursuit of na HIV cure: from stem cell transplants to gene therapies. *AIDS Research and Therapy*, v. 21, 2025.

GUPTA, R. et al. Excision of HIV-1 provirus in human primary cells. *Molecular Therapy*, v. 31, n. 4, p. 1051–1063, 2023.

HU, W. et al. CRISPR knocks out HIV in cells. *Scientific Reports*, v. 6, p. 22555, 2016.

INNOVATIVE GENOMICS INSTITUTE. CRISPR clinical trials: a 2025 update. *IGI News*, 2025.

KAMINSKI, R. et al. CRISPR-Cas9-mediated gene disruption of HIV-1 co-receptors. *AIDS Research and Therapy*, v. 19, n. 1, p. 1–10, 2022.

LI, C.; DONG, J. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 9, p. 69, 2019.

LI, H. et al. CCR5 gene editing and HIV immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, v. 16, 2025.

LIU, P. et al. Review: HIV infection detection using CRISPR/Cas systems. *AIDS Research and Therapy*, v. 20, n. 2, 2023.

9069

MARTINS, R.; ALMEIDA, T.; GONZAGA, P. Combining CRISPR gene editing and immunotherapy for functional HIV cure: recent progress and challenges. *Frontiers in Virology*, v. 5, p. 1–12, 2025.

MCDONALD, S. Gene editing may not be the safest HIV cure strategy. *AIDS Research and Therapy*, v. 20, p. 45, 2023.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Clinical trial: EBT-101 for HIV (NCT05144386). *ClinicalTrials.gov*, 2025.

RAJAN, A. et al. CRISPR-Cas system: from diagnostic tool to potential antiviral treatment.

RODRIGUEZ, F. et al. Therapeutic potential of CRISPR-Cas13 for RNA virus infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 15, 2025.

SHARMA, R. et al. CRISPR/Cas9: a tool to eradicate HIV-1. *Virology Journal*, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2022.

WANG, G. et al. CRISPR/Cas9 ablation of integrated HIV-1 accumulates proviral fragments. *Nature Communications*, v. 12, n. 1, p. 1–14, 2021.

WANG, G. et al. CRISPR/Cas9 ablation study: proviral fragments and escape mechanisms. *Nature Communications*, v. 12, p. 1–12, 2021.

WANG, Y. et al. CRISPR/Cas9 genome editing of CCR5 combined with C46 HIV-1 fusion inhibitor confers resistance to HIV-1. *Scientific Reports*, v. 14, 2024.

WU, J. et al. Breaking barriers to na HIV-1 cure: innovations in gene editing. *Biomedical Journal*, v. 45, n. 4, p. 511-524, 2022.

YIN, C. et al. In vivo excision of HIV-1 provirus by saCas9 and multiplex single-guide RNAs. *Nature Communications*, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2017.

ZHANG, C. et al. CRISPR/Cas13-based anti-RNA viral approaches. *Trends in Microbiology*, v. 32, n. 2, p. 89-103, 2024.

ZHANG, T. et al. CRISPR/Cas9: a powerful tool for HIV eradication. *Frontiers in Microbiology*, v. 16, p. 1-9, 2024.