

# CRISPR CAS9: ATUAIS APLICAÇÕES NO TRATAMENTO DO HIV

## CRISPR CAS9: CURRENT APPLICATIONS FOR HIV TREATMENT

---

**Fellipe C. C. Batista<sup>1</sup>; Carlos P. Nunes<sup>2</sup>.**

---

Descritores: CRISPR Cas9; Engenharia Genética; HIV; CRISPR; Edição de Genoma.  
Keywords: CRISPR Cas9; Genetic Engineering; HIV; CRISPR; Genome Editing.

### RESUMO

**Introdução:** O HIV é uma doença sem cura que ainda é transmitida todos os anos por 2 milhões de pessoas, grandes avanços medicinais já foram feitos, porém ainda sem eliminar por completo o Vírus, a edição genética promovida pelo CRISPR promete revolucionar o tratamento da AIDS e várias outras doenças. **Objetivo:** O principal foco de estudo está direcionado para analisar as atuais opções terapêuticas para tratar o HIV-1 usando a tecnologia CRISPR Cas9, além de analisar a evolução na engenharia genética, estudar o mecanismo desse método e suas controversas. **Métodos:** Foi realizado uma revisão sistemática, com busca nas plataformas digitais Scielo, PubMed, Jama, Lilacs. **Desenvolvimento:** O CRISPR é produto de anos de um objetivo da comunidade científica de alterar o gene para benefícios, atualmente as pesquisas com CRISPR se encontram em pesquisa de animais com bons resultados e notícias especulativas, porém o CRISPR apresenta certas limitações para chegar ao local de ação. **Conclusão:** As pesquisas para se desenvolver a cura do HIV estão sendo aceleradas pelo CRISPR, porém com embates éticos e técnicos

### ABSTRACT

**Introduction:** HIV is a disease without cure that is still transmitted every year by 2 million people, great medical advances have been made, but still without completely eliminating the virus and side effects in current medications, the genetic issue promoted by CRISPR promises to revolutionize the treatment of AIDS and several other diseases. **Objective:** The main focus of this study is to analyze the current therapeutic options for treating HIV-1 using CRISPR Cas9 technology, in addition to analyzing the evolution in genetic engineering, studying the mechanism of this method and its controversies. **Methods:** A systematic review was carried out, searching the digital platforms Scielo, PubMed, Jama, Lilacs. **Development:** CRISPR is the product of years of a scientific community's goal of changing the gene for benefits, currently CRISPR searches are in good animal research and speculative news, but CRISPR has certain limitations to reach the

site action. **Conclusion:** Research to develop the cure for HIV is being accelerated by CRISPR, but with ethical and technical

## INTRODUÇÃO

Não é de hoje que humanos usam a engenharia genética para transformar as coisas ao seu redor, através da seleção artificial vem se fortalecendo traços úteis de plantas e animais, usando radiação em plantas para conseguir traços favoráveis, inserção de trechos de DNA em bactérias ou em animais, até que isso se tornou um negócio lucrativo, como a produção de hormônios de crescimento, insulina e alimentos geneticamente modificáveis.<sup>1</sup>

Todavia, essa modificação genética era demorada e custosa até quando surgiu uma técnica para revolucionar, o CRISPR Cas9.<sup>1</sup> A sigla CRISPR vem da expressão chamada Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats e, em tradução literal, significa “agrupados de curtas repetições palindrômicas regularmente interespaçadas”.<sup>2</sup>

Esta técnica revolucionária pode também auxiliar na não replicação de doenças virais, como por exemplo o HIV.<sup>3</sup>

Todos os anos, mais de dois milhões de pessoas são infectadas pelo vírus do HIV, garantindo que a AIDS continue sendo um problema de saúde global.<sup>4</sup> Os Fármacos Antirretrovirais foram um dos principais sucessos na ciência médica no final do século 20 para tratar o HIV-1.<sup>4</sup> No entanto, as limitações inerentes as terapias antirretrovirais representam uma necessidade urgente de desenvolver novas drogas e estratégias para erradicar a infecção pelo HIV-1.<sup>4</sup> Essas limitações incluem a toxicidade dos Antirretrovirais, criação de resistência a eles, e inabilidade de erradicar por completo a infecção viral.<sup>3</sup> Nas últimas três décadas viram-se um tremendo progresso no desenvolvimento de abordagens de terapia genética para o HIV com muitas diferentes tecnologias, tendo demonstrado a eliminação de replicação do vírus.<sup>3</sup>

## OBJETIVOS

Objetivo Primário:

- Analisar as novas opções terapêuticas para o tratamento do HIV partindo de terapias com o CRISPR Cas9.

Objetivos Secundários:

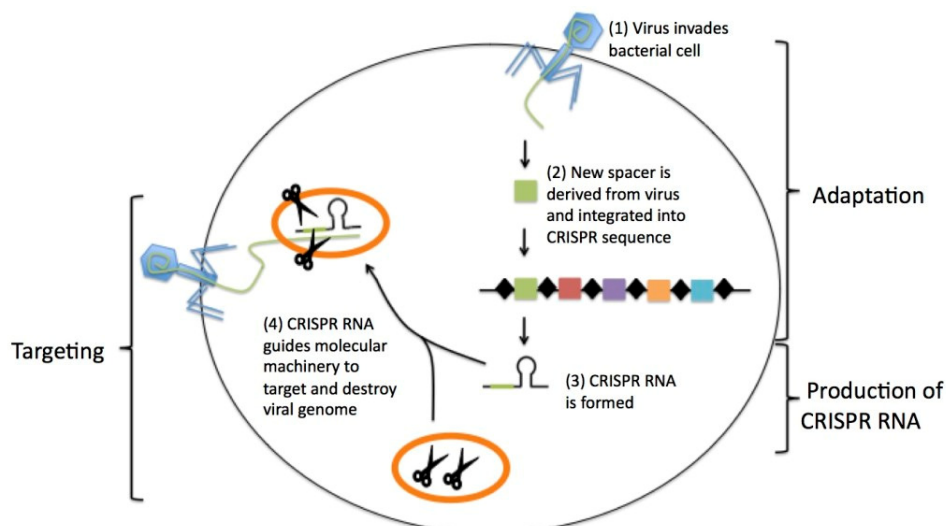
- Verificar as limitações dos avanços da tecnologia CRISPR para tratar o HIV
- Compreender a evolução da engenharia genética
- Entender como funciona o CRISPR Cas9

## MÉTODOS

As pesquisas foram realizadas com buscas nos bancos de dados do Scielo (Scientific Eletronic Library Online), PUBMED (US National Library of Medicine National Institutes of Health), JAMA (Journal of the American Medical Association), Lilacs (Literatura Latino America e do Caribe em ciências da saúde), com os seguintes descritores: CRISPR; Engenharia Genética; CRISPR Cas9; HIV; Edição de Genes. Foram selecionados artigos publicados entre 2016 e 2018, pesquisados entre setembro e novembro de 2018. A partir dessas descrições foram encontrados 449 artigos, utilizando filtros como: idioma Português e inglês, palavras chaves, configuração completa do artigo, data do artigo publicado e conter o tema do trabalho. Ao se aplicar os filtros mencionados foram pré-selecionados 9 artigos dos quais todos foram utilizados na confecção do trabalho.

## DESENVOLVIMENTO

Bactérias e Vírus sempre travaram uma batalha ao longo da evolução das espécies, alguns vírus bacteriófagos entram na bactéria e podem levar a sua lise, todavia, fora descoberto algumas bactérias que possuem um mecanismo de defesa que conseguem salvar o próprio material genético dos vírus em seu DNA em um espaço do código do DNA chamado CRISPR, ele então é armazenado até que quando a bactéria é atacada pelo mesmo vírus ela produz uma cópia do material em forma de RNA no qual ativa uma proteína chamada Cas9 que compara o material genético do Vírus com o RNA, quando ela o encontra, ela corta essa parte do material e torna o Vírus inútil, protegendo a Bactéria do ataque viral (Figura 1).<sup>1</sup>



**Figura 1:** Nesta imagem é demonstrada como a tecnologia CRISPR Cas9 funciona, quando o vírus ataca uma célula com CRISPR seu código de DNA é consolidado ao DNA da célula, então é formado um RNA Guia a partir desse código genético

do vírus, esse RNA entra em uma proteína chamada Cas9, no qual será responsável por analisar nos próximos ataques virais se o RNA guia é idêntico ao código genético do vírus invasor, se positivo, o Cas9 corta essa parte do DNA, deixando assim a célula livre do vírus

Partindo desse pressuposto está sendo aplicado tal técnica em humanos, ou seja, aplicando pedaços de DNA que se quer mudar em uma célula viva.<sup>1</sup>

Em relação ao Vírus HIV alguns avanços foram notados como em 2013 uma aplicação de CRISPR para cortar com sucesso o Chemokine Receptor 5 (CCR5) cujo é um dos maiores co-receptores do HIV que ajuda ele entrar na célula alvo.<sup>4</sup>

Em 2015 cientistas provaram que era possível retirar o Vírus HIV em células em laboratório, um ano depois fora feito um estudo em ratos no qual fora injetado CRISPR nesses ratos com HIV e fora retirado mais de 50% do vírus no organismo dele.<sup>1</sup>

No ano de 2017, pesquisadores mostraram que o DNA do HIV podem ser eliminados no genoma em modelos de animais vivos, eles utilizaram 3 tipos de animais, todos foram ratos, e um deles foram humanizados, ou seja, foram transplantados células humanas fisiológicas infectadas com o HIV, os pesquisadores inativaram geneticamente com o sistema Crispr, eles testaram esse sistema em ratos que tinham uma infecção aguda por Eco-HIV que é o HIV dos ratos e é muito semelhante com o dos humanos eles conseguiram a eficiência em 96% em bloquear a replicação viral e prevenir a infecção sistêmica, com apenas um uso dessa técnica, todas as células humanas que estavam no rato humanizado foram eliminadas.<sup>5</sup> O próximo passo é testar esse modelo em primatas, o objetivo é testar em modelo humanos, porém ainda vai demorar um pouco para acontecer.<sup>5</sup>

Em Novembro de 2018 fora noticiado o nascimento de 2 gêmeas na China geneticamente modificadas em fertilização in vitro por CRISPR no qual as deixaram totalmente imunes ao vírus do HIV, o assunto trouxe investigação policial visto os vários assuntos éticos relacionados a alteração genética, todavia o responsável não postou nenhum artigo científico ainda.<sup>6</sup> O cientista por e trás disso, He Jiankui, promoveu explicações abrindo um canal no youtube sobre sua cirurgia genética, ele sofreu várias críticas de muitos outros cientistas renomados, como por exemplo a Jennifer Doudna, uma bioquímica da Universidade da Califórnia, Berkeley e uma pioneira em CRISPR Cas9 gene-editing, técnica que He usou.<sup>7</sup> Ela disse que ficara horrorizada pelas técnicas que ele usou, muito inapropriada em vários níveis.<sup>7</sup> Sua cirurgia genética consistiu em retirar o gene CCR5, que serve como a porta de entrada do vírus na célula humana. As críticas também foram por conta que ele agiu sozinho, sem avisar a comunidade científica sobre o ato, agindo assim, sem transparência.<sup>7</sup> Francis Collins, diretor do National Institute of Health (NIH)

disse que não apoia modificações genéticas em embriões, também acrescentou que esse tipo de experimento deve respeitar as regras normas éticas internacionais.<sup>7</sup> A academia chinesa de ciências abriu um investigação sobre o caso para averiguar a veracidade das informações.<sup>7</sup>

Apesar dos avanços, a tecnologia CRISPR possui algumas limitações como por exemplo como entregar eficientemente esse sistema para células infectadas pelo HIV. Atualmente Se usa o adenovirus, adeno-associated vírus (AAV) e Lentivirus para tal função, porém o Adenovirus apresenta um efeito de imunogeneticidade, enquanto o AAV apresenta uma pequeno espaço para levar os genes, já o Lentivirus apresenta risco de errar o alvo da célula escolhida.<sup>4</sup>

## **CONCLUSÃO**

A partir da análise dos artigos selecionados para esta revisão sistemática, fica evidente que o futuro das terapias para erradicar o vírus HIV-1 está caminhando para uma resolução a partir da tecnologia do CRISPR Cas9, ou seja, utilizando esse mecanismo para evitar a proliferação do vírus do HIV nas células, as pesquisas ainda estão em testes animais, porém com ótimos resultados, também tem-se notícia de gêmeas que após uma cirurgia genética foram totalmente imunizadas de adquirir o vírus, todavia ainda é uma especulação que não possui comprovação científica.

As limitações dessa técnica são variadas, por exemplo como enviar o CRISPR a célula alvo sem provocar uma reação inflamatória, visto que nosso organismo ataca bactérias ou vírus invasores que são usados para levar o CRISPR. Todavia, com a rapidez dessa evolução, as limitações aparentam ser resolvidas rapidamente.

O uso dessa técnica revolucionária, tem de fato um grande potencial para não somente curar o HIV mas como outras doenças, uma vez que tem o potencial reconhecer qualquer infecção nas células e também de mudar o código do DNA das mesmas. Essa tecnologia de fato consegue retirar as doenças em sua origem, a partir de mudanças no código genético. Todavia, existe um grande embate sobre as questões de éticas relacionadas ao tema, uma vez que alguns pesquisadores podem fazer isso sem o aval da comunidade científica internacional, não se sabe ao certo até que ponto o uso das alterações genéticas vai levar a humanidade, a priori pode ser usado para causas nobres como a cura do HIV, porém a edição gênica tem o potencial de ser usada para questões estéticas, como escolher a cor dos olhos, altura e entre outros aspectos.

Ademais, também é preciso reconhecer que o embate ético pode atrapalhar a evolução do desenvolvimento do CRISPR Cas9 em virtude que pode levar longos processos burocráticos para pesquisas serem aceitas.

Com isso, é recomendável criar um consenso de limites éticos internacionais e aceleração das pesquisas de edição gênica em humanos, uma vez que ao mesmo tempo precisa-se de um controle sobre essa tecnologia para evitar possíveis catástrofes éticas, é necessário a evolução da mesma para os pacientes esperançosos para a cura do HIV e outras doenças sem cura.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao professor Carlos Pereira Nunes pela oportunidade de realizar esse trabalho extracurricular e por toda sua dedicação e orientação para a conclusão do mesmo. Agradecer também pelo apoio de busca de mais conhecimento, afim de realizarmos uma boa pesquisa para concluir o trabalho.

## **REFERÊNCIAS**

1. Kurzgesagt IAN. Genetic Engineering Will Change Everything Forever – CRISPR. 2016 (16m03s). Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=jAhjPd4uNFY>> Acesso em: 28 Nov. 2018.
2. Bergel SD. O impacto ético das novas tecnologias de edição genética. Rev. bioét. (Impr.) 25 (3). 454-61. 2017
3. Saayman S, Ali AS, Morris KV, Weinberg MS. The therapeutic application of CRISPR/Cas9 technologies for HIV. Expert Opin. Biol. Ther. 15(6). 2015
4. Deng Q, Chen Z, Shi L, Lin H. Developmental progress of CRISPR/Cas9 and its therapeutic applications for HIV-1 infection. Rev Med Virol. 2018
5. Yin Z, Zhang T, Qu X, Zhang Q, Putatunda R, Xiao X, Li F, Xiao W, Zhao H, Dai S, Qin X, Mo X, Young W, Khalili K, Hu W. In vivo excision of HIV-1 Provirus saCAS9 and Multiplex Single-Guide RNAs in Animal Modes. Molecular Therapy Vol. 25 No 5. 2017
6. Holland O, Wang S. Chinese scientist claims world's first gene-edited babies, amid denial from hospital and international outcry. CNN. 2018. Disponível em: <<https://edition.cnn.com/2018/11/26/health/china-crispr-gene-editing-twin-babies-first-intl/index.html>> Acesso em: 28 Nov. 2018.
7. Cyranoski D. CRISPR-baby scientist fails to satisfy critic. Nature. 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/d41586-018-07573-w>>. Acesso em: 28 Nov. 2018.