

A TÉCNICA DE CRISPR-CAS9 APLICADA NA EVOLUÇÃO TERAPÊUTICA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

THE CRISPR-CAS9 TECHNIQUE APPLIED IN THE THERAPEUTIC EVOLUTION OF THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV)

Andreza da Silva Torres de Oliveira¹, Fabiana Damasceno Fonseca¹, Laís Laine Martins Pedrosa¹, Letícia Borges da Fonseca¹, Suellen Rodrigues Martins², Cristina Aparecida de Jesus Souza³.

¹ Discentes do curso de Biomedicina do Centro Universitário Una de Betim;

² Biomédica, Mestra em Análises Clínicas e Toxicológicas, Professora Adjunta do Centro Universitário Una de Betim

³ Licenciada em Ciências Biológicas, Mestre em Genética Molecular de Microrganismos, Professora Adjunta do Centro Universitário Una de Betim

Resumo:

O DNA do inglês (*Deoxyribonucleic acid*), é passível de codificação surpreendente, estruturado por meio de processos de transcrição, sendo definido como o ponto de partida para o desenvolvimento morfológico e manutenção fisiológica do organismo. No entanto, possíveis mutações gênicas nas fitas do DNA podem ocorrer durante seu ciclo de síntese, ocasionando disfunções que podem comprometer o bom funcionamento do organismo. Em meados da década de 80 nos Estados Unidos da América (EUA) o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) se tornou conhecido como uma nova condição de saúde e apesar do tratamento contínuo empregado para sobrevida dos infectados, o qual pode desencadear sintomatologias não é efetivo na cura. Sendo assim, avanços biotecnológicos têm sido aprimorados, em especial a terapia gênica, que consiste na inserção de material genético em células afetadas a fim de propiciar benefício terapêutico. O estudo em questão teve como objetivo realizar uma revisão da literatura acerca do tema, com foco na aplicação da CRISPR-Cas9 na evolução terapêutica da Imunodeficiência Humana (HIV). As pesquisas demonstram resultados promissores com a aplicação da técnica, entretanto até o momento é empregada apenas *in vitro* e *in vivo* (camundongos), enquanto os testes em humanos seguem em desenvolvimento e com expectativa para início.

Palavras-chave: CRISPR-Cas9. HIV. Terapia gênica.

Abstract:

The English DNA (Deoxyribonucleic acid), is capable of surprising codification, structured through transcription processes, being defined as the starting point for the morphological development and physiological maintenance of the organism. However, possible gene mutations in the DNA strands can occur during its synthesis cycle, causing dysfunctions that can compromise the proper functioning of the organism. In the mid 80's in the United States of America (USA) the Human Immunodeficiency Virus (HIV) became known as a new health condition and despite the continuous treatment used for the survival of the infected, which can trigger symptoms, it is not effective in healing. Thus, biotechnological advances have been improved, especially gene therapy, which consists of inserting genetic material into affected cells in order to provide therapeutic benefit. The study in question aimed to conduct a literature review on the subject, focusing on the application of CRISPR-Cas9 in the therapeutic evolution of Human Immunodeficiency (HIV). Research shows promising results with the application of the technique, however so far it has only been used *in vitro* and *in vivo* (mice), while tests on humans are still under development and are expected to start.

Keywords: CRISPR-Cas9. HIV. Gene therapy.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da terapia genética e o grande avanço nos estudos da ciência com abrangência da biologia molecular na edição genética, trouxeram uma novidade na segunda década do século XXI, que possibilitaram a aplicabilidade em larga escala dentro da genética. Trata-se da técnica CRISPR-Cas9, descrita como repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente inter espaçadas, (do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, CRISPR), e sua proteína associada-9 (do inglês, *CRISPR associated protein-9*, Cas9), proveniente do mecanismo molecular das bactérias, e com grande aceitação, devido a fácil utilização, especificidade e manipulação *in vitro* e *in vivo* (SGANZERLA; PESSINI, 2020)

Segundo Sganzerla; Pessini (2020), a técnica é descrita como tesoura molecular, por possuir a capacidade de seccionar as duas fitas da dupla hélice do DNA através da enzima Cas-9, abrindo espaço para inserção de um novo trecho. Sendo sugerido para deleção, introdução, ou alterações de genes defeituosos (AREND; PEREIRA; MARKOSKI, 2017).

Desse modo a técnica é utilizada para caracterização fenotípica de uma doença, assim como em correções de genes que sofreram mutações e ocasionaram algum dano ao organismo (ROSA; ROVERSI; FEITOSA, 2019).

Os genes e suas expressões, de forma direta ou indiretamente são capazes de auxiliar na prevenção e no tratamento de algumas patologias, mediante utilização da técnica de CRISPR-Cas9, que pode interromper o processo de replicação viral e assim impedir os prejuízos acarretados a saúde (ROSA; ROVERSI; FEITOSA, 2019).

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana, também conhecido como HIV (do inglês, *Human immunodeficiency virus*) possui patogenicidade em que a técnica enfatizada pode ser destinada, vale ressaltar que o vírus pode ser transmitido de várias maneiras, como em relações sexuais sem o uso de preservativos; transmissão vertical que se dá através da mãe soropositiva para o filho durante o parto ou aleitamento e transmissão horizontal que pode ocorrer em um transplante de órgãos, transfusão sanguínea ou por materiais perfurocortantes infectados (MOURA *et al.*, 2020).

A técnica CRISPR-Cas9 pode ser aplicada diretamente à base molecular do vírus HIV, devido à sua alta especificidade e particularidade. Passou a ser aplicada em testes para terapia gênica do HIV pelo fato dos demais tratamentos existentes não promoverem a cura (MOURA *et al.*, 2020).

A terapêutica de diversas doenças ligadas ao sistema imunológico, podem ser beneficiadas pela CRISPR-Cas9, uma vez que, através do avanço de pesquisas e estudos a técnica apresenta uma evolução científica constante (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura acerca do tema, com foco na aplicação da CRISPR-Cas9 na evolução terapêutica da Imunodeficiência Humana (HIV). A pesquisa se justifica uma vez que, a técnica de CRISPR-Cas9 pode ser considerada como um novo código em processo de desenvolvimento na ciência, tem como característica predominante sua singularidade, que pode proporcionar uma evolução em quadros de mutações gênicas, através de edições aplicadas diretamente a fita do DNA.

Sendo assim, por ser um método inovador faz-se necessário estudos com compilado de dados que compreenda suas vantagens e desvantagens, propiciando para o meio acadêmico sua melhor aplicabilidade no genoma humano. Tendo em vista a vulnerabilidade acerca da Imunodeficiência Humana (HIV) que promove complicações

a saúde do portador e acomete sua qualidade de vida sendo capaz de levar a óbito em determinados casos, a técnica de CRISPR-Cas9 pode ser usada como uma ferramenta terapêutica.

2 METODOLOGIA

Nesta revisão bibliográfica de literatura caracterizada por uma pesquisa qualitativa e descritiva, foram selecionados estudos das bases de dados *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Google Acadêmico e Pubmed usando os seguintes Descritores em Ciência da Saúde (DeCS): CRISPR-Cas9; HIV e terapia gênica. Os critérios de inclusão foram: publicações no período de maio 2007 a setembro 2021, de livre acesso e os critérios de exclusão: editoriais, revistas e artigos que não permitem acesso e/ou fora do contexto. Os resultados foram apresentados de forma descritiva, divididos em categorias temáticas abordando: Definição, histórico, método, aplicabilidade, benefícios, prejuízos e relevância terapêutica em relação a técnica de CRISPR-Cas9 e Definição e fisiopatologia do HIV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 27 artigos que contemplaram o objetivo da pesquisa. No quadro abaixo se encontram os artigos e sua breve descrição.

Quadro 1: Descrição dos artigos selecionados para a pesquisa.

Autores (Sobrenome, ano)	Título	Delineamento o estudo (Tipo de estudo)	Objetivos	Resultados (Breve descrição)	Conclusão
MARCELA CORSO AREND, JESSICA OLIVAES PEREIRA, MELISSA MEDEIROS MARKOSKI, 2017.	O Sistema CRISPR/Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para a Cardiologia.	Descritivo.	Desvendar o sistema de CRISPR CAS9 e descrever como utilizar a técnica na Cardiologia.	Embora o contexto cardiovascular seja complexo, algumas patologias estão mais ou menos relacionadas a determinados produtos gênicos, cuja interação com outras moléculas já é conhecida, conforme descrito a seguir, facilitando a viabilidade de utilização do sistema CRISPR/Cas9.	Na maioria dos casos, fatores genéticos, ambientais e comportamentais atuam em conjunto para o estabelecimento de DCV. Embora, em alguns casos, sejam observados prováveis fatores preditores dos desfechos, ainda não é possível prever com exatidão a influência da ativação/inativação de genes em relação aos quadros clínicos. Finalmente, como para qualquer nova tecnologia, os riscos, as adaptações fisiológicas, as implicações com a resposta imune, a manutenção da homeostasia, que venham a ser modulados pelo sistema CRISPR/Cas9, precisam ser muito bem avaliados. Mas a possibilidade de uso da nova ferramenta molecular na Cardiologia pode ser vislumbrada e talvez, em um futuro próximo, vir a beneficiar a saúde da população.
BEATRICE ARIALBA ROLIM DE MOURA; CAMILA PORTO RIBEIRO; GIULIA CASTAÑEDA PEREIRA; MIKAELLY DA SILVA CARNEIRO; CRISTINA APARECIDA DE JESUS SOUZA, 2020.	Terapia gênica: perspectivas no tratamento da infecção por HIV.	Descritivo.	O objetivo do presente trabalho é descrever os avanços da terapia genética como uma possível cura da infecção por HIV.	Destes achados, após leituras prévias do resumo, foram selecionados o total de 46 artigos que preenchiam completamente os requisitos de inclusão.	A infecção pelo HIV, vem persistindo como um grande problema mundial. Estimativas feitas em 2019 mostram que havia 38 milhões de infectados, até esse mesmo ano, e apesar de grandes avanços medicinais ainda não possui cura, somente tratamento, que apesar de diminuir drasticamente o número de células infectadas, não é capaz de suprimir o vírus a ponto de ele ser erradicado do organismo. A terapia Gênica, que tem o intuito de tratar as doenças hereditárias e adquiridas como no caso de câncer ou doenças infecciosas, possibilitaria através de

					ferramentas biotecnológicas de edição genética uma possível cura definitiva do HIV. Seu avanço apesar de ser possível, ainda enfrenta muitos desafios, o que torna a Terapia Gênica uma possível ferramenta na cura do HIV, porém com muitas barreiras para ultrapassar. Os estudos que são feitos, visam a comprovação da eficiência dessa terapia. Há diversos tipos de metodologias para serem usadas a favor da saúde e todos eles precisam de cada vez mais estudos com o avanço dessas biotecnologias, tornando cada vez mais próximo seu uso eficaz.
JONAS RIBEIRO DA ROSA; FERNANDA MARCONI ROVERSI; LUCAS DE SOUSA RAMALHAES FEITOSA, 2019.	Edição genética através do CRISPR para tratamento de doenças.	Descritivo.	Tratar sobre edição genética para o tratamento de doenças.	A tecnologia CRISPR-Cas9 vem sendo amplamente estudada e utilizada em terapias gênicas e consiste na introdução deleção ou modificação de genes prejudiciais, tendo, em testes em modelo animal e em cultura de células, mostrado resultados bastante positivos no tratamento e cura de várias doenças relacionadas com alterações gênicas.	O desenvolvimento de novas tecnologias e metodologias, principalmente na área da medicina, biotecnologia e informática, tem possibilitado grandes avanços no entendimento de certas condições e tem trazido muitos benefícios relacionados à vida. Uma tecnologia inovadora e promissora que tem sido destaque é a CRISPR- Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa Capítulo 11 113 Cas9, naturalmente encontradas no sistema de defesa imunológica em bactérias. O CRISPR-Cas9 tem como princípio a edição gênica e consequentemente, modificação proteica, metabólica e de algumas características do organismo de forma rápida, econômica e eficiente (poucos efeitos off-target), portanto, considerada precisa e pontual.
ANOR SGANZERLA, LEO PESSINI, 2020.	Edição de humanos por meio da técnica do CRISPR-Cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas.	Descritivo.	Analisar a ética científica em torno da técnica do CRISPR-Cas9 e a necessidade de fazer ciência com consciência, prudência e	A imediata aplicação clínica de edição do genoma será em células somáticas humanas para o tratamento ou prevenção de doenças e deficiências. De fato, tal pesquisa já está em testes clínicos nos EUA. Quanto à edição de	Não é à toa que mesmo os cientistas mais entusiasmados envolvidos nessas pesquisas, ao se darem conta de tamanho perigo, com essa alta possibilidade de riscos e danos potenciais serem multiplicados hereditariamente, tornaram-se os primeiros a levantar a bandeira de

			responsabilidade é o objetivo desta reflexão.	células germinativas (óvulos e espermatozoides), não é o que se prevê neste momento.	que precisamos de mais prudência, precaução e de um consenso de uma moratória internacional. Nesse sentido, a edição genética torna-se também uma questão de saúde e de política pública.
STEVEN G. DEEKS; JULIE OVERBAUGH; ANDREW PHILLIPS; SUSAN BUCHBINDER, 2015.	Infecção por HIV.	Descritivo.	Aplicar o aprendizado com a pesquisa do HIV e lutar por desenvolvimento de uma vacina no âmbito de proteção e cura para o HIV.	Os avanços notáveis reverteram a tendência de redução da expectativa de vida em toda a África na década de 1990; de fato, houve um aumento geral de 8% na expectativa de vida na África entre 2000 e 2012.	Os avanços na prevenção do HIV, tratamento e acesso aos serviços reduziram drasticamente o impacto do HIV e da AIDS em todo o mundo. Aplicar as lições aprendidas com a pesquisa do HIV nas últimas três décadas e lutar pelo desenvolvimento de uma vacina preventiva e cura para o HIV pode levar a uma geração livre do HIV.
ERIC J. ARTS; DARIA J. HAZUDA, 2012.	Terapia medicamentosa anti-retroviral para HIV-1.	Descritivo.	Revisar os princípios básicos da terapia com medicamentos antirretrovirais, o modo de ação dos medicamentos e os fatores que levam ao fracasso do tratamento (ou seja, resistência aos medicamentos).	Ao revisar a história de desenvolvimento de drogas ARV, no entanto, existem algumas lições importantes e paralelos que precisam ser mantidos em mente ao considerarmos o desenvolvimento de estratégias de prevenção de pequenas moléculas para HIV-1.	A amplitude e profundidade da terapia do HIV-1 pipeline pode estar entre os mais bem sucedidos para o tratamento de qualquer doença humana, infecção ou distúrbio conforme ilustrado pelo número de agentes antirretrovirais e únicas classe de drogas disponíveis. O caminho para o sucesso do tratamento do HIV-1 era difícil, e nos primeiros dias muitos pacientes foram tratados inadequadamente com regimes subótimos que rapidamente levaram ao fracasso e resistência aos medicamentos. Embora seja desconhecido se a prevenção da transmissão do HIV-1 exigirá o mesmo número de agentes, o a plasticidade inerente do HIV-1 sugere erro do lado da cautela e foco no início em produtos combinados que mitigariam este risco.
NUNO R. FARIA; ANDREW RAMBAUT; MARC A. SUCHARD; GUY BAELE; TREVOR BEDFORD; MELISSA J. WARD; ANDREW J. TATEM; JOÃO D. SOUSA; NIMALAN ARINAMINPATHY; JACQUES PÉPIN; DAVID POSADA;	Epidemiologia do HIV. A propagação precoce e a ignição epidêmica do HIV-1 em populações humanas.	Descritivo.	Desvendar as circunstâncias que cercam a ascensão do HIV desde suas origens antes de 1920 em caçadores de chimpanzés nos Camarões	Nossos resultados são consistentes com hipóteses de que intervenções iatrogênicas em Kinshasa e seus arredores e / ou pós-independência mudanças no comportamento sexual foram críticas para o surgimento do grupo M. Nós	Nós mostramos que a pandemia de HIV-1 grupo M iniciou em Kinshasa por volta do início dos anos 1920 e que sua expansão espacial na África central foi dependente de uma rede de transporte ativa que conectou a principal população do país centros para outras regiões da

<p>MARTINE PEETERS; OLIVER G. PYBUS; PHILIPPE LEMEY, 2014.</p>			<p>até a amplificação em Kinshasa.</p>	<p>sugerimos que uma combinação distinta de circunstâncias durante um determinado espaço e sócio-histórico janelas permitiu o estabelecimento, disseminação espacial e crescimento epidêmico de o grupo HIV-1 M pandêmico. Argumentos semelhantes pode estar na base do surgimento de outras doenças transmitidas pelo sangue patógenos, particularmente o do HCV.</p>	<p>região subsaariana África. Além disso, o aumento do exponencial taxa de crescimento do grupo M por volta de 1960 está em contraste com o confinado espacialmente, não pandêmico grupo O.</p>
<p>PRAJIT LIMSIRICHAJ; THOMAS GAJ; DAVID V. SCHAFFE, 2016.</p>	<p>Ativação da expressão latente de HIV-1 mediada por CRISPR.</p>	<p>Analítico Experimental.</p>	<p>Demonstrar que os ativadores de transcrição baseados em CRISPR podem ser configurados para induzir a expressão latente de HIV-1 e que a combinação dessas ferramentas CRISPR com compostos de reversão de latência podem levar a uma ativação robusta da expressão do gene viral em modelos baseados em células de latência de HIV-1.</p>	<p>Os ativadores transcricionais CRISPR induzem a expressão gênica do LTR do HIV-1. Os sistemas de ativação da transcrição baseados em CRISPR / Cas9 entregues via lentivírus podem estimular a expressão latente do gene do HIV, mas que as diferenças na acessibilidade da cromatina no LTR do HIV-1 podem interferir na capacidade da Cas9 para estimular a transcrição. As descobertas indicam coletivamente que dCas9-p300 oferece forte potencial para estimular a transcrição do LTR do HIV-1. Ocorreu reativação da expressão latente de HIV-1 usando acetiltransferases baseadas em CRISPR.</p>	<p>O uso de um coquetel baseado em CRISPR consistindo em múltiplos sgRNA desde o início do tratamento também pode ser usado para ajudar a bloquear a fuga do HIV-1. Foi apresentado que os sistemas de ativação CRISPR têm o potencial de induzir a expressão do HIV-1 em modelos de latência baseados em células. Os sistemas CRISPR, em combinação com o cART, podem levar a novos tratamentos para a infecção pelo HIV-1.</p>
<p>FERREIRA, ORLANDO; FRANCHINI, MIRIAM; BAZZO, MARIA LUIZA; MOTTA, LEONARDO; VÉRAS, NAZLE; WERSOM, ELAINE, 2014.</p>	<p>Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV.</p>	<p>Descritivo.</p>	<p>Apresentar novas políticas que têm sido adotadas com o objetivo de ampliar o diagnóstico, introduzir novas metodologias e fluxos que seguem o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV,</p>	<p>Esperamos que os profissionais e serviços façam conforme escolhidos a sua realidade local, de modo a viabilizar o acesso de todos os obrigados ao diagnóstico da infecção pelo HIV. Ao construir essas propostas, consideramos também uma agilidade da resposta</p>	<p>Com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico, além de orientar e subsidiar, especialmente os (as) profissionais de saúde na realização do diagnóstico da infecção pelo HIV, foi elaborado este Manual Técnico.</p>

			impactando na transmissão do vírus e no surgimento de novos casos.	aos requisitos, seu encaminhamento para assistência médica e a relação custo-efetividade da testagem.	
MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021.	Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (IST).	Descritivo.	Atualizar o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (IST).	O presente protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (IST) contém um capítulo sobre saúde sexual, que contempla a abordagem centrada na pessoa com vida sexual ativa.	O texto tem por objetivo facilitar a conduta dos profissionais de saúde, de forma alinhada com as mais recentes ferramentas para orientações de prevenção.
ALEXANDER, THOMAS, S. 2016	Teste de diagnóstico do vírus da imunodeficiência humana: 30 anos de evolução.	Descritivo.	Avancemos para 2016 e, embora ainda não tenhamos um teste específico de AIDS, o teste de diagnóstico de infecção por HIV evoluiu durante os últimos 30 anos. A infecção pelo HIV agora pode ser facilmente detectada por testes laboratoriais, mas a AIDS é o estágio final da infecção pelo HIV e requer parâmetros clínicos e laboratoriais para o diagnóstico. Neste artigo, forneço um pano de fundo histórico do teste de HIV, concluindo com uma descrição da geração atual de testes de diagnóstico de HIV e o algoritmo de teste atual.	As principais deficiências dos primeiros testes de HIV foram amplamente superadas com o advento dos testes de quarta e quinta geração. A janela de teste negativo da infecção à detecção foi reduzida, os valores preditivos positivos melhoraram e os testes estão disponíveis em uma variedade de formatos.	O teste de HIV evoluiu de ser usado como um método para salvaguardar o suprimento de sangue para ser oferecido como um teste diagnóstico de rotina. A evolução possibilita detectada aproximadamente 2 semanas após a exposição, com um número reduzido de resultados falso-positivos em comparação com aqueles observados com os primeiros testes de HIV.
SALVADOR DÁRIO BERGEL, 2017.	O impacto ético das novas tecnologias de edição genética.	Descritivo.	Apresentar os questionamentos e temores após a publicação dos trabalhos da Doudna e Charpentier a respeito da técnica CRISPR-Cas9.	O descobrimento da técnica CRISPR/CAS 9 de edição genética abre importantes horizontes para a pesquisa científica. Os problemas éticos, jurídicos e sociais que podem surgir com a aplicação em humanos são enormes, o que justifica um	Nesse sentido concordamos em que a educação pública e o compromisso são cruciais no processo de avaliação e aplicação de valores sociais aos riscos e benefícios das tecnologias de edição do genoma e às dimensões éticas que abarca. Para a edição do genoma

				debate social amplo. O trabalho indaga sobre os temas mais significativos que poderiam ser incluídos em tal debate.	somático, o Comitê conclui que os debates sobre regulações transparentes e inclusivas deveriam preceder qualquer consideração sobre a autorização de provas clínicas para doença ou inabilidade.
RAFAEL NOGUEIRA FURTADO, 2019.	Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano.	Descritivo.	O artigo analisa criticamente discursos científicos sobre o tema, buscando evidenciar as estratégias argumentativas presentes nos debates.	O artigo analisa discussões sobre edição genética humana encontradas em artigos científicos, declarações institucionais e proferidas no International Summit on Gene Editing realizado em 2015. Objetiva-se explicitar e refletir sobre argumentos favoráveis e contrários à modificação do DNA.	Este trabalho buscou explicitar e refletir sobre controvérsias relacionadas à edição genética humana. Constataram-se reações distintas, referentes à compreensão, ao manejo e à comunicação de riscos e benefícios da modificação do DNA.
MARIA RITA DE CASSIA BARRETO DE ALMEIDA; LILIANA MARIA LABRONICI, 2007.	A trajetória silenciosa de pessoas portadoras do HIV contada pela história oral.	Descritivo.	Apreender os motivos que dificultam a procura da pessoa que é portadora do vírus HIV aos serviços do SUS para o acompanhamento de sua saúde.	O surgimento da AIDS como fenômeno social e histórico carregou consigo os espectros construídos no imaginário social, recrudescendo o conceito de peste, mobilizando sentimentos e preconceitos, tornando-se ela mesma um grande estigma. Fatores que afetam de maneira fundamental o bem-estar de pessoas vivendo com o HIV.	Os motivos que interferem na procura aos serviços de saúde referidos pelos colaboradores parecem ter sua gênese e explicação no modo como se deu o processo de simbolização da AIDS a fim de decifrá-la e como foi significada, quando lhe deram um sentido profundamente depreciativo, ancorando-a no imaginário do mal, das pestes, do sexo e da morte. Este sentido é o núcleo do estigma do qual as marcas físicas e o diagnóstico positivo constituem as manifestações perceptíveis do sinal que desencadeia as condutas estigmatizantes.
KEZIA PARKINS, 2021.	FDA aprova primeiro ensaio investigando a edição do gene CRISPR como cura para o HIV.	Descritivo.	Divulgar as novas perspectivas da técnica de CRISPR-Cas9 na aplicação de testes em humanos.	Um novo paradigma para o tratamento do HIV está no horizonte enquanto a FDA dá sinal para o início dos testes de terapia genética baseada em CRISPR.	O HIV agora pode ser bem controlado com medicamentos anti-retrovirais, mas estes são um compromisso para toda a vida e causam efeitos colaterais. Nas últimas décadas, uma evasiva vacina contra o HIV foi considerada 'o santo graal' para impedir a disseminação da doença altamente estigmatizada, mas a edição genética baseada em CRISPR

					representaria uma abordagem terapêutica totalmente nova.
DARSHANA GUPTA , OINDRILA BHATTACHARJEE , DRISHTI MANDAL , MADHAB KUMAR SEN , DHRITIMAN DEY , ADHIRAJ DASGUPTA , TAWSIF AHMED KAZI , RAHUL GUPTA , SENJUTI SINHAROY , KRISHNENDU ACHARYA , DHRUBAJYOTI CHATTOPADHYAY , V RAVICHANDIRAN , SYAMAL ROY , DIPANJAN GHOSH, 2019.	Sistema CRISPR-Cas9: um novo amanhecer na edição de genes.	Descritivo.	discutir a história do CRISPR-Cas9, seu mecanismo de edição de genoma e sua aplicação em parasitas animais, vegetais e protozoários. Além disso, os prós e contras do CRISPR-Cas9 e seu potencial na aplicação terapêutica.	A execução do sistema CRISPR-Cas9 ampliou o número de substitutos científicos acessíveis para estudar a função do gene, permitindo a geração de modelos de doenças baseados em CRISPR.	Mesmo que muitas questões mecanicistas sejam deixadas para trás e o sistema ainda não seja à prova de erros, ou seja, uma série de desafios ainda precisam ser resolvidos, o emprego de tecnologias de engenharia de genoma baseadas em CRISPR-Cas9 aumentará nossa compreensão dos processos de doenças e seu tratamento no futuro próximo.
ANTARA BARMAN , BORNALI DEB , SUPRIYO CHAKRABORTY, 2020.	Um olhar sobre a edição do genoma com a tecnologia CRISPR-Cas9.	Descritivo.	Revisar que a organização CRISPR-Cas é restrita a duas classes e possui diferentes efetores de proteína. Também revisamos a arquitetura dos loci CRISPR, mecanismo envolvido na edição do genoma pela tecnologia CRISPR-Cas9 e vias de reparo de quebras de fita dupla (DSBs) geradas durante o processo de edição do genoma. Esta revisão também apresenta as estratégias para aumentar a especificidade do Cas9 e reduzir a atividade fora do alvo para obter a edição precisa do genoma.	Fornecer informações sobre ferramentas CRISPR usadas para edição de genoma, bancos de dados que são necessários para armazenar dados em loci, estratégias para entrega de CRISPR-Cas9 para células em estudo e aplicações de CRISPR-Cas9 para vários campos.	As medidas de segurança são implementadas nesta tecnologia para evitar uso indevido ou questões éticas. Os aspectos futuros e as aplicações potenciais da tecnologia CRISPR-Cas9 necessária principalmente para o tratamento de doenças terríveis, melhoramento de culturas, bem como melhoramento genético em humanos.
AV BANNIKOV , AV LAVROV, 2017.	CRISPR / CAS9, o Rei das Ferramentas de Edição do Genoma.	Descritivo.	Descrever os princípios gerais da organização e função das nucleases Cas e uma série de questões importantes a serem consideradas durante o planejamento de	A disponibilidade do CRISPR / Cas9 é inegável, mas a eficiência e a confiabilidade ainda estão em estudo, a fim de descrever os princípios de funcionamento das nucleases do sistema Cas.	Os principais aspectos que devem ser levados em consideração ao planejar o trabalho usando CRISPR / Cas9 também são considerados - métodos para avaliar a eficiência e especificidade de Cas9, abordagens para a seleção de sgRNA, variantes Cas9 geneticamente

			experimentos de edição de genoma com CRISPR / Cas9.		modificadas, o uso de recombinação homóloga e fim não homólogo -união ao editar DNA.
VICENTE DE PAULO BARRETTO, ELIS CRISTINA UHRY LAUXEN, 2017.	O marco inicial da vida humana: perspectivas ético-jurídicas no contexto dos avanços biotecnológicos.	Descritivo.	refletir, com base na ideia de dignidade humana, sobre aspectos éticos e jurídicos de questões relacionadas ao marco inicial da vida humana no contexto da sociedade tecnocientífica contemporânea.	Antes mesmo de a sociedade tomar conhecimento, ponderar e adotar providências com relação às possibilidades existentes, crescentes avanços da biotecnologia desencadeiam situações novas e sem precedentes, carecedoras de parâmetros para nortear sua utilização.	A dignidade humana pode ser indicada como um importante referencial hermenêutico nas respectivas reflexões e diálogos, bem como nos processos de construção de parâmetros éticos e jurídicos para nortear os respectivos avanços biotecnológicos.
CHANG LIU, LI ZHANG, HAO LIU, KU N CHENG, 2017.	Estratégias de entrega do sistema de edição de genes CRISPR-Cas9 para aplicações terapêuticas.	Descritivo.	Apresentar o mecanismo molecular e diferentes estratégias para editar genes usando o sistema CRISPR-Cas9.	O maior desafio é a entrega segura e eficiente do sistema de edição de genoma CRISPR-Cas9 para células-alvo no corpo humano.	Apesar da grande promessa da tecnologia CRISPR-Cas9, vários desafios ainda precisam ser enfrentados antes de suas aplicações bem-sucedidas para pacientes humanos.
GANG WANG, NA ZHAO, BEN BERKHOUT, ATZE T. D.A.S, 2017.	Estratégias antivirais baseadas em CRISPR-Cas contra o HIV-1.	Descritivo.	Revisar como a ferramenta CRISPR-Cas foi utilizada em novas abordagens terapêuticas contra o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), com foco em abordagens que visam inativar permanentemente todos os genomas do vírus ou prevenir a persistência viral em reservatórios latentes.	O tratamento com Cas9/gRNA duplo pode resultar na esterilização completa do HIV infeccioso ao longo do tempo por meio do sistema de replicação <i>in vitro</i> . A esterilização da cultura infectada ocorreu dentro de um mês para a melhor combinação de gRNA direcionada a Gag e sequências Tat / Rev sobrepostas, enquanto a inativação completa do vírus levou 3 meses para a segunda melhor combinação direcionada aos genes Gag e Env.	A aplicação bem-sucedida da tecnologia CRISPR na terapia anti-HIV exigirá a entrega eficiente dos reagentes CRISPR a, de preferência, todas as células infectadas com HIV, em particular as células que constituem o reservatório latente durante a TARV, ou todas as células suscetíveis ao HIV. Como para outras abordagens de terapia gênica, vários vetores virais, incluindo vetores lentivirais (LV) e vírus adeno-associados (AAV), podem ser usados para a entrega sustentada dos transgenes Cas9 e gRNA, resultando na atividade de longo prazo dos antivirais.
QIAOQIAO XIAO, DEYIN GUO E SHULIANG CHEN, 2019.	Aplicação da edição de genes baseada em CRISPR / Cas9 na terapia de HIV-1 / AIDS.	Descritivo.	Atualizar o ágil progresso nos últimos anos da pesquisa de terapia HIV-1 baseada em CRISPR/Cas9 e debater as limitações e perspectivas futuras de sua aplicação.	Foi descoberto que Cas9/gRNA poderia inibir a replicação do HIV-1, mas logo o vírus escapou dessa inibição devido ao reparo de NHEJ, que induziu mutações em torno dos locais de clivagem (Wang <i>et al.</i> , 2016b). Outras pesquisas também demonstraram que CRISPR/Cas9	A tecnologia CRISPR / Cas9 é uma ferramenta poderosa de edição de genes e tem sido amplamente aplicada em pesquisas experimentais de terapia genética de HIV-1. Além disso, também tem grande potencial para ser aplicado em várias áreas, como triagem genética médica e análise de ontologia genética

				<p>poderia gerar vírus mutantes capazes de resistir a Cas9/sgRNA causando reparo de DNA em células hospedeiras (Wang Z. <i>et al.</i>, 2016; Yoder e Bundschuh, 2016). Para lidar com esse mecanismo de escape, Liang <i>et al.</i> propôs soluções alternativas, como modificar sgRNA, reprogramar a nuclease Cas9 e suprimir a atividade NHEJ (Liang <i>et al.</i>, 2016). Os achados negativos do CRISPR / Cas9 tornam os pesquisadores mais cuidadosos ao projetar sgRNAs e aplicar essa tecnologia para o tratamento de HIV-1 / AIDS em ensaios clínicos.</p>	<p>(Xue <i>et al.</i>, 2016). Seu surgimento traz esperança para a população de indivíduos infectados pelo HIV-1, mas é importante ressaltar que os efeitos negativos como desvio do alvo e fuga viral devem ser considerados. Portanto, a cura bem-sucedida do HIV-1 ainda tem um longo caminho a percorrer. Os ensaios clínicos de CRISPR/Cas9 no tratamento do HIV-1 continuam a ser um desafio e a ética deve ser sempre colocada em primeiro lugar.</p>
MARIA GUIMARÃES, 2020.	Ferramenta para editar genes leva Nobel de Química.	Descritivo.	Apresentar o sistema CRISPR-Cas9 desenvolvido pela francesa Emmanuelle Charpentier e a Norte Americana Jennifer Doudna, que abriu caminho para uma infinidade de aplicações.	<p>Diretora da unidade de Ciência de Patógenos no Instituto Max Planck em Berlim, na Alemanha, Charpentier descobriu o sistema Crispr em 2011, na Universidade de Umea, na Suécia. Ela estava estudando o material genético de bactérias especificamente pequenas moléculas de ácido ribonucleico, o RNA - em busca de novos caminhos que levassem à produção de terapias antibióticas. O que ela encontrou, em bactérias, foram pequenas moléculas de RNA remanescentes de reações a material genético introduzido em eventos de infecção por vírus. Seu trabalho revelou que, acopladas às formas mais longas do RNA do tipo Crispr e em conjunto com proteínas bacterianas chamadas Cas9, essas</p>	<p>Por tanto em 2012, foi publicado na revista Science, o artigo que lhes deu fama, mostrando que o RNA Crispr e a proteína Cas9 formam uma tesoura capaz de reconhecer uma porção específica do DNA viral e cortá-lo. Elas também conseguiram simplificar a construção da ferramenta molecular e criar uma maneira de direcionar a tesoura para um ponto desejado do genoma, o que permitiria inativar ou corrigir genes, inserindo alterações.</p>

				moléculas conseguem cortar o DNA em pedaços menores. Faltava entender como esse mecanismo forneceria proteção contra vírus, e para isso a francesa procurou Jennifer Doudna.	
CAROLINE MOTA SOUZA BARBOZA, MARCELLA MARTINS TERRA, MARIA LUÍSA CANDIDO RIBEIRO, JACKSIANE BRANDÃO SILVA, 2019.	A TÉCNICA DE CRISPR-Cas9 NA TERAPIA GÊNICA: uma revisão da literatura.	Descritivo.	avaliar o uso desta tecnologia na terapia gênica, assim como apresentar algumas das doenças que poderiam ser tratadas por ela, e abordar questões éticas envolvidas nos processos de edição gênica em humanos.	a técnica de CRISPR-Cas9 é uma promissora ferramenta de edição gênica podendo ser utilizada em diversas finalidades, desde o uso no tratamento de doenças genéticas ao uso na agricultura, porém, existem diversas questões envolvidas na realização das terapias para tratamento de patologias em humanos.	o sistema CRISPR-Cas9 é uma opção promissora para as terapias gênicas, porém deve ser usada com cautela, levando em consideração as questões éticas que envolvem as técnicas de edição gênica.
GLOBE NEWSWIRE BY NOTIFIED, 2021.	Excision Receives FDA Clearance of IND for Phase 1/2 Trial of EBT-101 CRISPR-Based Therapeutic for Treatment of HIV	Descritivo.	O EBT-101, um terapêutico <i>in vivo</i> baseado em CRISPR projetado para extirpar o DNA proviral do HIV, é uma terapia genética única que aproveita a história evolutiva da CRISPR como um sistema de defesa viral em bactérias.	Em estudos pré-clínicos, demonstrou a capacidade de extinguir o DNA proviral em múltiplas linhas celulares: células primárias humanas, bem como múltiplos modelos animais, incluindo primatas não humanos.	De acordo com Lisa Danzing, Diretora Médica da empresa Excision, a equipe aguarda essa importante colaboração com os principais investigadores, consultores científicos e reguladores, para realizar um julgamento seguro e informativo com essa abordagem de primeira classe para um alvo de doença viral anteriormente considerado incurável."
LOURENCO MOISES PEREIRA DA COSTA TEIXEIRA DA SILVA, 2016.	Polimorfismo da Long Terminal Repeat (LTR) do HIV-1 em Amostras do Sul do Brasil.	Análítico Experimental.	Confirmar a presença mais frequente de duplicação no HIV-1 de subtipo C e clarificar se a variabilidade na LTR pode relacionar-se com marcadores substitutivos de replicação viral (carga viral) e com o perfil de subtipos virais. Foram utilizadas 15 amostras de um grupo de pacientes da Região Sul do Brasil, proveniente do	Os fragmentos da LTR, foram determinados por nested PCR (nPCR) e sequenciamento direto, utilizando Primers específicos. Após o sequenciamento e edição, as sequências foram analisadas quanto a presença de Nf-kB, carga viral e subtipos virais. Encontramos predominantemente os subtipos B (33.4%), BC (13.3%), C (40%) e F (13.3%). A duplicação de Nf-kB aparece predominantemente associada ao subtipo C. Não se	Relacionando os subtipos com os dados de duplicação de Nf-kB e de carga viral, não foi encontrada uma relação direta, eliminando a possibilidade de inferir acerca de maior ou menor índice de replicação viral de um determinado subtipo.

			centro de testagem do Rio Grande do Sul apresentando infecção recente.	verifica relevância estatística quando se comparam sequências com duplicação ou sem duplicação de Nf-kB.	
PEDRO BARBOZA DE MORAIS, PRISCILA MORAES HENRIQUE PAIVA, THIAGO FRANCO NASSER, 2021.	Terapia Gênica: nova perspectiva no avanço à cura da infecção pelo HIV	Descritivo.	analisar o avanço para a cura da infecção pelo HIV com a utilização da terapia gênica mediante a uma revisão de literatura.	Os estudos mostraram que a técnica apresenta-se promissora, com resultados positivos, entretanto ainda realizada apenas em culturas de células e camundongos, sendo necessárias mais pesquisas para que a mesma possa ser utilizada em seres humanos.	Embora os estudos obtiveram sucesso apenas em culturas de células e camundongos, a terapia gênica mostra-se promissor para conseguir deletar os 32 pares de bases. A partir desta revisão bibliográfica foi possível observar que os cientistas estão cada vez mais próximos da cura do HIV do que imaginamos.

Fonte: Produzidos pelos autores

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 CRISPR-Cas9 e sua relevância associada a terapêutica

O desenvolvimento da terapia gênica e o grande avanço nos estudos da ciência com abrangência da biologia molecular, trouxeram uma novidade na segunda década do século XXI, que possibilitaram a aplicabilidade em larga esfera dentro da genética, trata-se da técnica de CRISPR-Cas9 (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

Segundo Barboza (2019), em 1987 cientistas japoneses estudando a bactéria *Escherichia coli*, observaram a técnica usual da edição gênica conhecida como CRISPR, o que motivou a continuidade dos estudos, assim como, o espanhol Francisco Mojica, que durante experiências com *Haloferax mediterranei* (archaea) também observou sequências repetidas, que funcionavam como um sistema de defesa para os microrganismos em análise. Os bacteriófagos ao infectar uma bactéria, introduzem o DNA viral no DNA da célula bacteriana, diretamente na sequência CRISPR, dessa forma são desenvolvidas “memórias” de infecção, ou seja, o organismo adquire a capacidade de reconhecer o mesmo agressor em possíveis reinfecções futuras, o que possibilita uma resposta imunológica rápida na defesa do organismo (MARTINEZ-OLIVA, 2020).

Emmanuelle Charpentier, Diretora da Unidade de Ciências de Patógenos no Instituto Max Planck em Berlim, na Alemanha, durante estudos com agentes biológicos em 2011, na Universidade de UMEA na Suécia, buscava encontrar/desenvolver novos mecanismos que auxiliassem na formulação de novos antibióticos. Entretanto, fragmentos de material genético RNA advindo de um processo infeccioso foram os achados, logo destacou-se um segmento de RNA extenso denominado como CRISPR associado a proteína bacteriana identificada como Cas9. Todavia, houve dúvida em relação a como esse mecanismo promoveria a defesa imunológica. Sendo assim, Charpentier recorreu a Jennifer Doudna, para suporte e engajamento na pesquisa (GUIMARÃES, 2020).

Após toda dedicação Charpentier e Doudna, alcançaram resultados, os quais viabilizaram a reestruturação da “tesoura” molecular tornando-a mais precisa no alcance do ponto alvo do segmento, o novo mecanismo facilitou o processo uma vez que, permitia cortar ou introduzir segmentos de interesse no DNA, para alcance de

determinadas características estruturais e funções fisiológicas. Conforme publicado na Revista Science, as descobridoras de CRISPR-Cas9, foram as ganhadoras do Prêmio Nobel no ano de 2012 (GUIMARÃES, 2020).

Na fisiologia natural do organismo, o mecanismo de CRISPR-Cas9, intercorre por uma ligação entre crRNA (pequeno RNA codificado) com a fita complementar do DNA em seu ponto alvo, protegendo o fragmento PAM (protoespaçador motivo adjacente) sequência fundamental para o direcionamento da proteína nuclease Cas9, ao sítio alvo para seccionar o DNA do vírus invasor e não o bacteriano. Já tracrRNA (pequeno RNA codificado) uma extensa cadeia de bases a qual forma uma estrutura similar a uma alça ou gancho desempenha função heterogênea no crRNA-DNA alvo no sítio ativo da nuclease Cas9, conforme ilustrado na **Figura 1** (MARTINEZ-OLIVA, 2020).

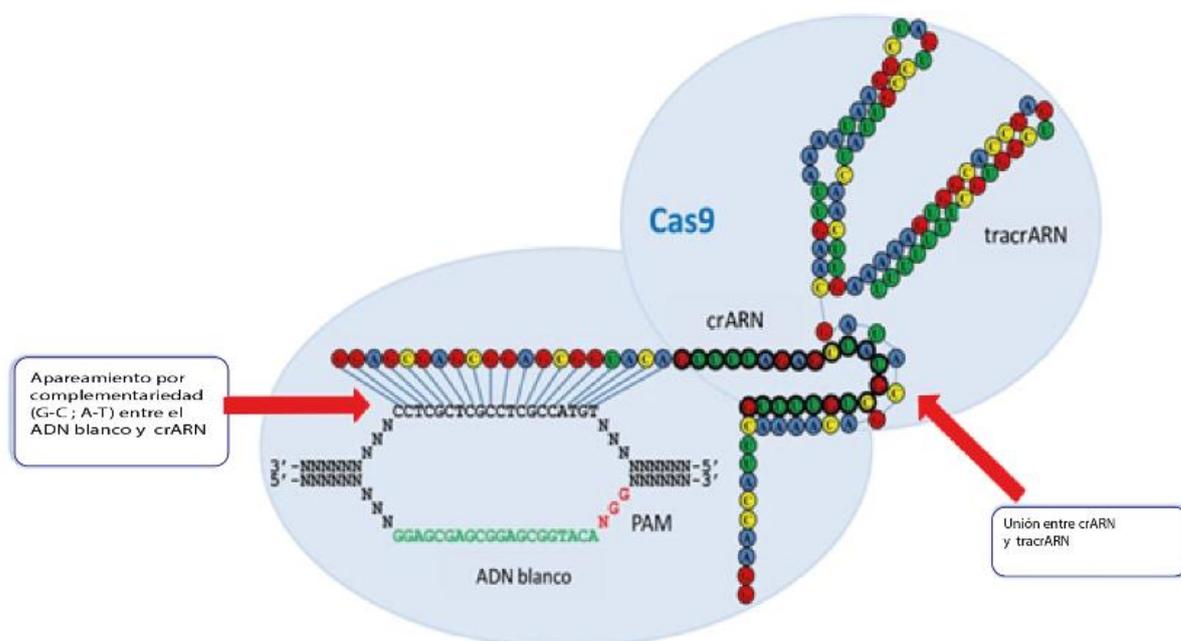


Figura 1: Representação esquemática de um complexo natural do sistema CRISPR-Cas9.

Fonte: Adaptado de CRISPR, uma ferramenta para edição de genomas.

Diante disso, Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier, também vencedoras do Prêmio Príncipe das Astúrias no ano de 2015, estruturaram a engenharia genética de CRISPR-Cas9 baseado na sistematização biomolecular natural (MARTINEZ-OLIVA, 2020).

Elas projetaram um sgRNA (RNA guia único ou RNA guia) que tem as mesmas características do tracrRNA e crRNA, este sgRNA direciona a nuclease para o DNA alvo com a mesma precisão que o crRNA e o tracrRNA de uma bactéria teriam, para obter um sgRNA com especificidade contra o alvo genômico de escolha, deve ser desenhado com complementaridade de bases, isto é, GA e CT (regras de Watson e Crick), então ao introduzir o

sgRNA e Cas9 no núcleo eucariótico onde o DNA alvo é encontrado (MARTINEZ-OLIVA, 2020).

A nomenclatura da ferramenta CRISPR-Cas9 é assim definida em virtude da disposição gênica observada em organismos procarióticos, os quais possuem material genético disperso no citoplasma celular, essa estruturação apresenta assim genes associados a repetições palindrômicas curtas regularmente espaçadas, tal organização, auxilia no processo de imunidade, uma vez que a proteína associada Cas9, efetua clivagens em sequências específicas dos ácidos nucleicos os quais se tornam alvo de agressores exógenos, promovendo desse modo a sua quebra (BARMAN; DEB; CHAKRABORTY, 2020).

Então, CRISPR é um nome dado a um locus (posição fixa e específica em um cromossomo, onde está localizado determinado gene) bacteriano, por meio desses deu-se origem a poderosa ferramenta que permite a manipulação do DNA de qualquer organismo (MARTINEZ-OLIVA, 2020).

Esse sistema de edição, é parte do sistema imune, pois desempenha papel de defesa contra ácidos nucleicos invasores. O RNA guia direcionado identifica qual a sequência alvo no genoma celular, e a nuclease Cas9 atua como tesoura para seccionar sequências “chave” nas duplas fitas de DNA, conforme demonstração da **Figura 2** (LIU, 2017).

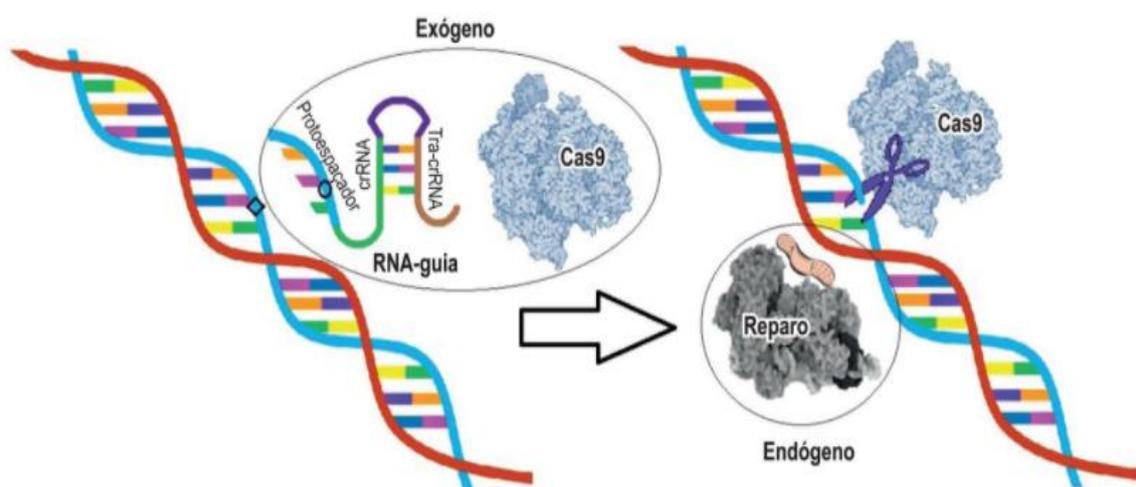


Figura 2: Sistema de CRISPR-Cas9.

Fonte: Adaptado de o sistema CRISPR/Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para a Cardiologia.

O sistema CRISPR-Cas9, é destinado na edição de genomas e vem sendo reconhecida por sua especificidade em atingir o gene nocaute do inglês *knock-out* nas células (GUPTA *et al.*, 2019).

Embora muitas questões mecanísticas sejam deixadas para trás e o sistema ainda não seja à prova de falhas, ou seja, uma série de desafios ainda precisam ser resolvidos, o emprego de tecnologias de engenharia de genoma baseadas em CRISPR-Cas9 aumentará nossa compreensão dos processos de doenças e seu tratamento no futuro próximo (GUPTA *et al.*, 2019).

Segundo Bannikov; Lavrov (2017) CRISPR-Cas9, uma técnica eficaz e com resultados seguros na edição genética proporcionou através de sua descoberta esperança.

A inovadora técnica tem despertado grande interesse para aplicações terapêuticas, uma vez, que pode ser utilizada para correção de mutações genéticas responsáveis por causar doenças (LIU, 2017).

Em frente a evolução científica Conill Sancho, expressou quanto a necessidade de evidenciar reflexões e medidas que possam valorizar a importância que os avanços da ciência reservam, assim como, apontar um direcionamento consciente a sua influência (BARRETTO; LAUXEN, 2017).

4.2 O Vírus da Imunodeficiência Humana

A infecção pelo vírus HIV afeta milhões de pessoas no mundo, em meados da década de 80 nos Estados Unidos da América (EUA) o vírus se tornou conhecido como uma nova condição de saúde (DEEKS *et al.*, 2015).

Existem duas linhagens ou tipos principais de HIV, sendo, HIV-1 e HIV-2. As relações sequenciais do HIV-1 e HIV-2 são decorrentes de transmissão entre espécies do vírus da imunodeficiência símia (SIV) dos macacos chimpanzés e mangabei pertencente a espécie *Cercocebus atys*. O HIV-1 é mais prevalente e patógeno comparado ao HIV-2 tornando-se responsável por grande parte da pandemia global (DEEKS *et al.*, 2015).

Em busca por respostas epidemiológicas pesquisadores identificaram em população de chimpanzés o SIV que possui familiaridade a linhagem pandêmica do HIV-1. Pelas características semelhantes dos vírus, é de maior compreensão transmissões entre

espécies de SIV para humanos homens por meio da caça de primatas e alimentação de sua carne, assim como contato com sangue infectado (FARIA *et al.*, 2014).

A infecção por SIV em seu hospedeiro natural é menos patogênico do que a infecção pelo HIV-1 em humanos. Tendo em consideração que SIV não causa enfermidade em mangabei, mas é demasiadamente molesto quando transferido para macaca mulata. A patogenicidade do HIV-2 em humanos encontra-se entre a do SIV em macacos mangabei e macaca mulata. Acredita-se que a baixa patogenética do HIV-2 em humanos deve-se a insuficiência replicação do vírus, possivelmente pela inadequação inconclusa do SIV ao hospedeiro humano com carga viral plasmática menor em HIV-1, refletindo a queda da incidência da infecção pelo HIV-2 associada a pouca carga viral (DEEKS *et al.*, 2015).

O HIV-1 trata-se de um retrovírus sendo capaz de incorporar seu DNA ao genoma do hospedeiro tornando o vírus complexo mediante as terapias atualmente empregadas. O vírus detém uma quantidade de proteínas e logo após sua entrada em uma célula, o RNA de fita simples é transcrito reversamente em DNA do HIV-1, e integra-se ao genoma do hospedeiro para sempre. Os fármacos atuam nessas etapas através de inibidores de transcriptase reversa, inibidores da transferência da cadeia da integrase e inibidores de protease (DEEKS *et al.*, 2015).

A transmissão do vírus entre humanos ocorre por várias maneiras, como em relações sexuais sem o uso de preservativos; transmissão vertical que se dá através da mãe soropositivo para o filho durante o parto ou aleitamento e transmissão horizontal que pode ocorrer em um transplante de órgãos, transfusão sanguínea ou por materiais perfurocortantes infectados (MOURA *et al.*, 2020).

A entrada do vírus em suas células-alvo o linfócito T ocorre por meio do receptor CD4 e do receptor 5 da quimiocina CC (CCR5) através da integração com a glicoproteína do envelope (ENV) proporcionando a fusão entre o envelope viral e a membrana plasmática da célula, integrando o interior da partícula viral com o citoplasma celular. Então o DNA do HIV será transcrito pela enzima transcriptase reversa e, posteriormente por ação da enzima integrase será exportado para o núcleo celular, onde ocorre a clivagem do DNA inserindo o genoma viral no interior do genoma da célula. A partir desse momento a célula hospedeira passa a transcrever os genes do vírus HIV, em sequência, decorre a tradução propiciando produzir proteínas virais e,

consequentemente vírions maduros. Os medicamentos antirretrovirais têm como alvo de ação as etapas do ciclo de vida do HIV, na tentativa de inibição de sua propagação no organismo conforme apresentado na **Figura 3** (DEEKS *et al.*, 2015).

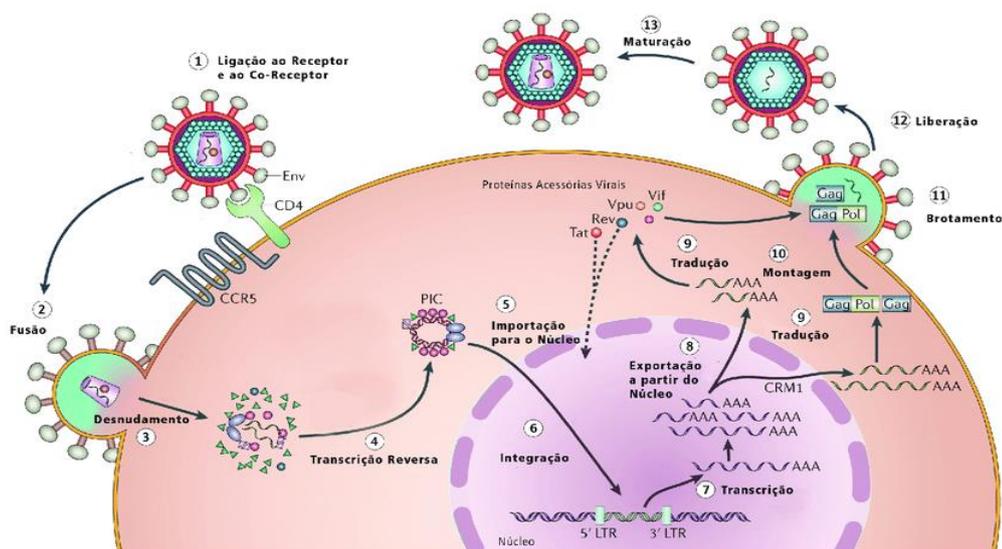


Figura 3: Ciclo replicativo do HIV-1.

Fonte: Adaptado Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV.

Uma vez que instalada a epidemia de HIV a ausência de teste foi uma preocupação inicial para constatar os portadores do vírus. O diagnóstico inicial de HIV em humanos é realizado principalmente pelo método de ensaio imunoenzimático (ELISA) fundamentado em um imunoensaio de combinação antígeno / anticorpo em tempo real que comumente identifica os anticorpos HIV-1 ou HIV-2 (ALEXANDER, 2016).

Os testes passaram por um processo evolutivo até chegar ao ensaio BioPlex 2200 a quinta geração em 2015, o teste de HIV de quinta geração fornece resultados separados de antígenos e anticorpos e exigirá outro algoritmo, pois não se faz necessário um novo ensaio de diferenciação de HIV-1/2 adicional a amostras positivas para anticorpos, visto que, o teste também fornece resultados separados para os anticorpos de HIV-1 e HIV-2. A infecção por HIV agora pode ser detectada aproximadamente 2 semanas após a exposição, com um número reduzido de resultados falso-positivos. Foi realizado uma análise do ensaio BioPlex 2200 de quinta geração por Salmona *et al.* E encontraram 100% de sensibilidade e 99,5% de especificidade em um estudo com amostragem de 1.505 pacientes. (ALEXANDER, 2016).

Testes rápidos (TR) são imunoensaio (IE) que conseguem apresentar resultados em um prazo de até 30 minutos. A disponibilidade de TR para o diagnóstico do HIV no tempo atual pode ser realizada em ambientes laboratoriais e não laboratoriais, dispondo o acesso ao diagnóstico. Encontra-se no mercado alguns modelos de TR, os constantemente utilizados são: dispositivos (ou tiras) de imunocromatografia de fluxo lateral *(A), imunocromatografia de dupla migração (DPP) *(B), dispositivos de imunoconcentração *(C) e fase sólida *(D), conforme **Figura 4** (FERREIRA *et al.*,2014).

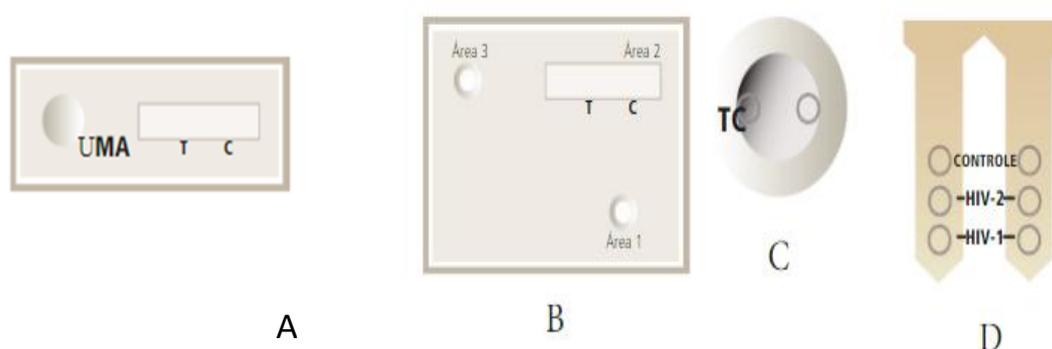


Figura 4: Exemplos de Testes Rápidos (TR) para HIV.

Fonte: Adaptado de Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV.

Os métodos para realizar o teste do HIV objetiva-se em melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção pelo vírus, provido de uma base racional para possibilitar que o diagnóstico seja efetuado o mais antecipadamente possível, de modo seguro e rápido em sua conclusão (BRASIL, 2021).

Apesar de todos os avanços em pesquisas e tecnologias de saúde, a expressão de maior significado em tratamento de pacientes para o HIV-1 e HIV-2 agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é a terapia antirretroviral (TARV) que utiliza agentes farmacológicos específicos possibilitando suprimir a replicação do HIV a nível intracelular, o uso da TARV tornou o HIV uma doença com possibilidade ao tratamento, porém crônica (ARTS; HAZUDA, 2012).

4.3 A técnica aplicada a terapêutica do HIV

Atualmente os indivíduos infectados pelo vírus da Imunodeficiência Humana em tratamento paliativo, empregam a TARV, na qual vários medicamentos antirretrovirais são combinados e reduz efetivamente a carga viral nos pacientes prevenindo a

progressão da doença, entretanto não possuem ação de cura (LIMSIRICHAJ; GAJ; SCHAFFER, 2016).

Essas drogas têm como alvo o reservatório viral latente que é estabelecido logo após a infecção e que consiste em DNA proviral de HIV inativo em células T (BLANKSON *et al.*, 2002, SILICIANO *et al.*, 2003 apud WANG *et al.*, 2018).

O vírus HIV, possui uma particularidade pois consegue se manter por muito tempo, em estado de latência, ou seja, sem que o hospedeiro apresente manifestações do processo de infecção, isso decorre em virtude da não replicação do vírus, uma vez que, permanece inativo na célula hospedeira. Sendo assim, o vírus se caracteriza como resistente a qualquer ação de combate do organismo, levando conseqüentemente a um monitoramento imunológico contínuo com uso de medicamentos retrovirais (LIMSIRICHAJ; GAJ; SCHAFFER, 2016).

Com intuito de melhorar as estratégias antivirais contra o HIV, testes inovadores têm sido desenvolvidos, para garantia de uma edição gênica ágil, eficaz e com perspectivas de cura (WANG *et al.*, 2018).

A técnica CRISPR-Cas9 nos últimos anos tem sido aplicada em pesquisas experimentais relacionadas a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana, trata-se de uma ferramenta com grande potencial, capaz de induzir a expressão latente do HIV-1 através de ação direta de proteínas ativadoras de dedo de zinco (ZFAs) que se infiltram nas células hospedeiras, possibilitando o reconhecimento de seu promotor LTR e a ativação da transcrição viral (MORAIS; PAIVA; NASSER, 2021).

O sistema de CRISPR-Cas9 se apresentou eficiente no HIV-1, ao utilizar gRNAs (RNAs guia), programados para o direcionamento à região LTR como também a gag, principal proteína estrutural. No entanto, o DNA do vírus por apresentar variedade de seqüências nos locais alvo, dificulta o processo de clivagem, todavia, a região com menos variação localiza-se no elemento TAR do LTR, facilitando o direcionamento dos gRNAs que demonstraram redução significativa na transcrição do vírus, ao clivar o sequenciamento que se situa próximo a região responsável por esse processo (MORAIS; PAIVA; NASSER, 2021).

A transcrição do vírus HIV-1 é controlada através da associação entre elementos da região LTR. Vale ressaltar que existem dois LTR's, sendo cada um localizado em uma extremidade do provírus. Cada LTR é dividido em 3 regiões denominadas como: U3, R, U5A, que possuem como finalidade geral a potencialização da transcrição viral conforme demonstração da **Figura 5** (SILVA, 2016).

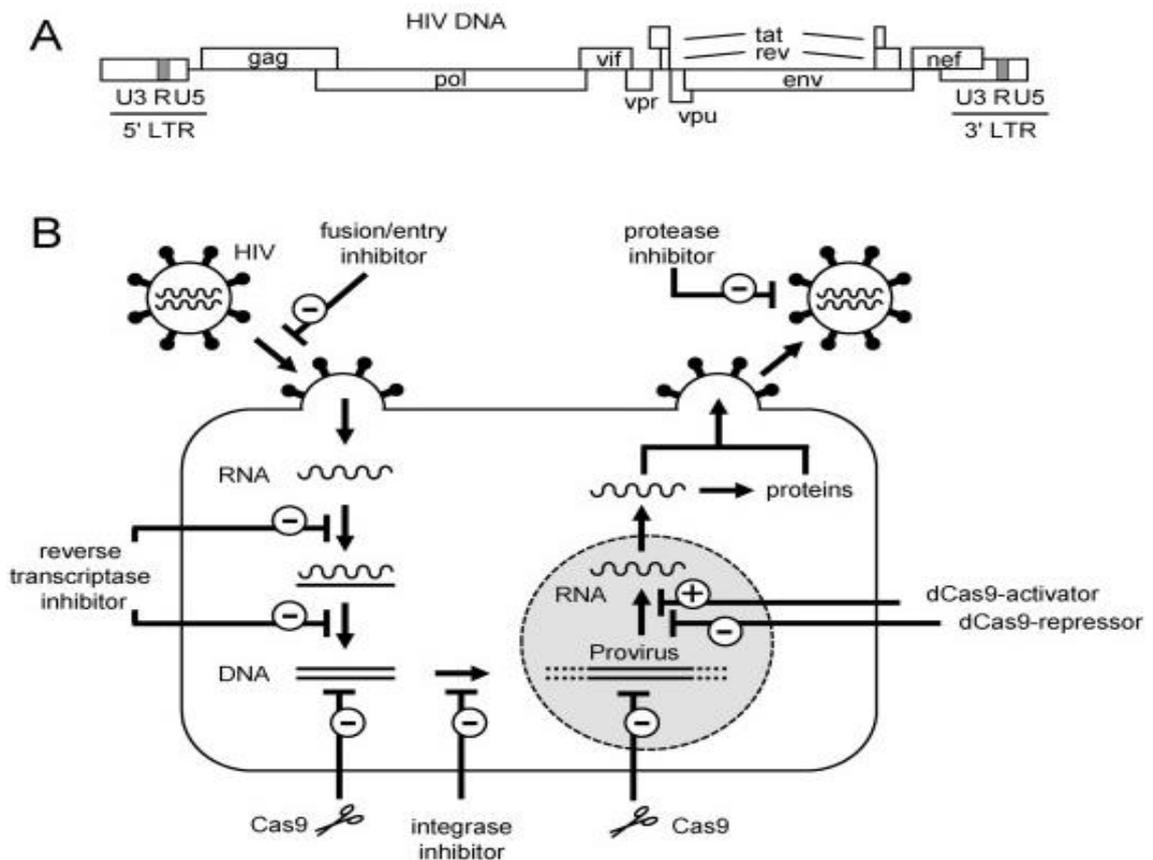


Figura 5: Ciclo de replicação do HIV-1 e terapia antiviral.

Fonte: Adaptado de Estratégias antivirais baseadas em CRISPR-Cas contra HIV1.

A internalização da ZFA em linfócitos T infectados em latência, demonstrou eficácia no estímulo da manifestação viral, baseado em novos estudos da biotecnologia, que busca eficácia terapêutica (MORAIS; PAIVA; NASSER, 2021).

Para erradicar os reservatórios latentes do HIV-1, é necessário reativar o vírus letárgico nas células hospedeiras e induzir a morte celular por HAART (Terapia Anti-retroviral Altamente Ativa), ocorrendo a ativação de respostas imunes antivirais. Esta estratégia é conhecida como “choque e morte”. Porém, esta abordagem pode não ser

capaz de atingir uma quantidade relevante dos reservatórios virais e portanto, pode não ser muito eficiente (XIAO; GUO; CHEN, 2019).

Como inovação, a tecnologia CRISPR-Cas9 associada ao uso de antirretrovirais HAART poderá ser uma ferramenta de grande potencial para a ativação de reservatórios virais latentes de HIV-1 (XIAO; GUO; CHEN, 2019).

A CRISPR-Cas9 encontra-se em fase de estudos, sendo constantemente avaliada através de testes que podem acentuar sua especificidade, eficácia e aplicabilidade. Os testes vem sendo manipulados *in vivo* (camundongos) e *in vitro*, e demonstram bons resultados, impulsionando estudiosos a realizar experimentos em humanos, como por exemplo a EBT-101 CRISPR que trata-se da primeira terapia genética em desenvolvimento, para o tratamento do Vírus da Imunodeficiência Humana, desenvolvida pela empresa *Excision BioTherapeutics*, a ser testada em humanos com HIV crônico (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

A *Excision BioTherapeutics* é uma empresa de biotecnologia que desenvolve técnicas terapêuticas baseadas em CRISPR, com objetivo de curar doenças infecciosas virais, assim como, melhorar a qualidade de vida de pacientes com doenças crônicas por meio da excisão de genomas virais de indivíduos infectados (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

O EBT-101 utiliza um vírus adeno-associado (AAV) para administrar um tratamento exclusivo com finalidade de curar funcionalmente as infecções por HIV. O programa de investigação emprega CRISPR-Cas9 e dois RNAs guia que têm como alvo três locais dentro do genoma do HIV (U3, R, U5A), retirando assim grandes porções do gene viral e minimizando o seu potencial escape (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

O ensaio clínico da terapia EBT-101 fase I/II possui previsão de início para dezembro de 2021. A mesma objetiva analisar a eficácia, segurança e tolerabilidade em indivíduos que convivem com o Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

A solicitação dessa investigação foi aceita pela *Food and Drug Administration* (FDA), Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos. Segundo Daniel Dornbusch, CEO da *Excision*, a aprovação representou um

marco muito importante para a empresa, assim como para os pacientes que há anos aguardam uma terapia que apresente eficácia satisfatória e que permita dissipar totalmente o vírus HIV, conduzindo a expectativa de cura para os portadores (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

Os estudos pré-clínicos apresentaram capacidade de exterminar o DNA proviral do Vírus da Imunodeficiência Humana em diversas linhagens de células: células primárias humanas (*in vitro*), vários modelos animais (*in vivo*), incluindo primatas não humanos (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

O EBT-101 consiste em uma evolução terapêutica baseado em CRISPR *in vivo* projetado para eliminar o DNA do HIV, trata-se de uma terapia gênica única na histórica da CRISPR (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

4.4 Vantagens e Desvantagens

Ao passar dos anos ficou nítido a importância da ciência e suas tecnologias para a saúde humana, e através da técnica CRISPR-Cas9 surgiu mais uma esperança que permite possíveis modificações genéticas, o que também acarretou debates sobre a forma com que a técnica seria empregada e se seria utilizada preservando a dignidade humana (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

A comunidade científica mundial, em 26 de novembro de 2018, sentiu temor após o pesquisador chinês He Jiankui anunciar através das redes sociais o seu novo experimento em embriões geneticamente modificados pela técnica CRISPR-Cas9 e implantados em uma mulher que deu à luz a gêmeas no mesmo mês em que tal feito foi anunciado. Após esse acontecimento houve uma grande repercussão entre a comunidade científica, que acusaram He Jiankui de tentar se vangloriar com sua experiência (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

Jennifer Doudna, Bioquímica da Universidade da Califórnia, uma das cientistas que idealizou a técnica de CRISPR-Cas9, em entrevista a *Associated press*, afirmou, “Esse anúncio confirma a existência de um limite internacional para a conduta ética e científica para ajudar a garantir que esse tipo de trabalho – radical e desnecessário do ponto de visto médico e negligente – não volte a ocorrer.” (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

O pesquisador He Jiankui por sua vez na 'Conferência internacional sobre edição de genes', em Hong Kong (27 de novembro de 2018), afirmou que utilizou a técnica para criar uma geração com característica de resistência ao vírus da Aids (HIV), e não para curar ou prevenir doenças hereditárias (SGANZERLA; PESSINI, 2020).

O que colocou em análise as questões éticas que envolvem a descoberta dessa técnica, uma vez que, a mesma pode trazer benefícios, como também pode expor a integridade Humana a médio ou longo prazo, devido aos perigos e riscos que a manipulação do DNA pode proporcionar. Sendo que, essa técnica pode propiciar o poder de não somente tratar doenças, mas possivelmente intensificar habilidades humanas que envolvam como por exemplo a força física e cognição, o que torna preocupante e questionável quais os limites que serão empregados (FURTADO, 2019).

Segundo Sganzerla; Pessini (2020), mediante as incertezas dos efeitos que podem ocorrer com a aplicação da técnica, é cabível ressaltar as vantagens que trará para saúde humana, assim como, para as vidas geradas por mães soropositivas que conforme He Jiankui, podem desenvolver resistência imune ao vírus, bloqueando a transmissão vertical, sendo a técnica utilizada atendendo os parâmetros legais e científicos a fim de prevenir e curar patologias que afetam a população mundial, respeitando os limites éticos (BERGEL, 2017).

A possibilidade de editar um gene tanto em células afetadas, quanto diretamente nos óvulos é de grande valia, não proporcionando somente benefícios fisiológicos, mas também a saúde mental de pessoas que convivem diariamente com uma doença devastadora, como o HIV, visto que, a sociedade não possui conhecimento/instruções suficientes e julgam de forma a fazer com que os portadores do vírus se isolem, causando um comprometimento na vida social e mental. Sendo assim, frente aos julgamentos a técnica torna-se entre seus vários benefícios, uma esperança quanto qualidade de vida para todos que passam por este sofrimento (ALMEIDA; LABRONIC, 2007).

4.5 Atualizações e Perspectivas

Por ser uma técnica inovadora, fica evidente a necessidade de estudos para o aprimoramento e comprovação da sua eficácia, o que já está em análise em alguns

países, tendo como por exemplo os Estados Unidos, em que a FDA consentiu, a aprovação do ensaio clínico EBT-101 que ocorreu no dia 15 de setembro de 2021, sendo recebida como um grande marco para a empresa de Biotecnologia e uma grande expectativa para a ciência. Os testes têm previsão de início para o final deste ano. De acordo com Daniel Dornbusch, CEO da Excisão (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

“A liberação de nosso aplicativo IND para EBT-101 representa um marco importante para a excisão e é o resultado de anos de compromisso com o desenvolvimento de uma cura funcional para indivíduos que vivem com HIV”, disse Daniel Dornbusch, CEO da Excisão. “Embora os tratamentos antivirais possam controlar a infecção pelo HIV, eles exigem tratamento para toda a vida, causam efeitos colaterais e não oferecem a possibilidade de cura funcional. Somos gratos pela revisão e aceitação do IND para EBT-101 pelo FDA e esperamos iniciar o ensaio clínico de Fase ½ ainda este ano.” (GLOBE NEWSWIRE, 2021).

Embora exista um tratamento para o HIV através do uso de antirretrovirais, os mesmos não possuem a eficácia de curar ou eliminar o vírus do organismo, além de demandarem um tratamento contínuo, com efeitos colaterais, o que torna a vida do indivíduo soropositivo mais delicada. No entanto, a técnica CRISPR-Cas9 trouxe uma expectativa para essas pessoas, possibilitando que o vírus que envolve o DNA das células seja eliminado, trazendo assim a esperança que a muito tempo aguardavam (PARKINS, 2021).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A evolução e as perspectivas promovidas pela ciência, proporcionam constantemente expectativas enquanto melhorias para quadros patológicos e modificações fisiológicas executadas de modo a promover qualidade de vida. Sendo assim, dentre essas, se destaca a Técnica de CRISPR-Cas9, que conforme abordado nesse artigo vem sendo planejada e aprimorada através de testes *in vitro* e em animais que conforme estudos apontaram bons resultados. Ainda esse ano, mediante interesse dos cientistas e aprovação dos órgãos competentes a implicação deve ser realizada em humanos. A técnica tem como principal finalidade, permitir com que os indivíduos infectados pelo vírus da Imunodeficiência Humana, disponham de um novo recurso para tratamento e cura, que possibilite através de modificações genéticas diretamente aplicadas na molécula de DNA do vírus HIV, a inibição da proliferação dessas células virais. A utilização da ferramenta CRISPR-Cas9 pode ser vantajosa, pois propicia vantagens a saúde fisiológica e mental, uma vez que, a replicação do vírus pode além de impactar a saúde mental, em decorrência dos julgamentos meio a sociedade, desencadear,

sintomatologias ao portador da AIDS. Vale ressaltar que o indivíduo, a partir do momento da infecção (soropositivo) já se torna um transmissor do vírus, caso não sejam submetidos aos cuidados e cautelas necessários. Portanto, a técnica ainda em estudo visa, transformar essa realidade respeitando os limites éticos e ressaltando os benefícios terapêuticos.

AGRADECIMENTOS

A nossa orientadora, Professora Suellen Martins e Coorientadora, Cristina Souza que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos nossos colegas de classe pela rica troca de experiências.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta construção.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, T. S. Human immunodeficiency virus diagnostic test: 30 years of evolution. **Clinical and Vaccinal Immunology**, ASM Journals, vol. 23, ed. 4, 4 Apr. 2016. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CVI.00053-16>. Acesso em: 03 nov. 2021.
- ALMEIDA, M. R. C. B., LABRONICI, L. M. A trajetória silenciosa de pessoas portadoras do HIV contada pela história oral. **Ciência. Saúde coletiva**. Vol. 12, n. 1, Curitiba Maio 2007. DOI:10.1590/S1413-81232007000100030. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/QSrNhTyZSkY87MjMSSNHprb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 out. 2021.
- AREND, M. C.; PEREIRA, J. O.; MARKOSKI, M. M. O Sistema CRISPR/Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para a Cardiologia. **Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC)**. Santana, Porto Alegre, RS. O CRISPR/Cas9 e a cardiologia, Ponto de vista, p. 81-83, 2017. DOI: 10.5935/abc.20160200. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/S7rhCRLnYjVmCDfTrdSYTDs/?lang=pt>. Acesso em: 12 out. 2021.
- ARTS, Eric J; HAZUDA, Daria J. Antiretroviral therapy for HIV-1. **Cold Spring Harb Perspect Medicini**, 25 jan. 2012. DOI: 10.1101 / cshperspect. A007161. Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/ropbox/2/4/a007161>. Acesso em: 14 out. 2021.
- BANNIKOV, AV.; LAVROV, AV. [CRISPR/CAS9, the King of Genome Editing Tools]. **Mol Biol (Mosk)**. 2017 Jul-Aug;51(4):582-594. Russian. doi: 10.7868/S0026898417040036. PMID: 28900076. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28900076/>. Acesso em: 06 nov. 2021.
- BARBOZA, C. M. S. A TÉCNICA DE CRISPR-Cas9 NA TERAPIA GÊNICA: uma revisão da literatura. **Revista Transformar**. 13(1), jan./jul. 2019. E-ISSN:2175-8255. Disponível em: <http://www.fsj.edu.br/transformar/index.php/transformar/article/view/348/234>. Acesso em: 09 nov. 2021.
- BARMAN, A.; DEB, B.; CHAKRABORTY, S. A glance at genome editing with CRISPR-Cas9 technology. **Curr Genet**. 2020 Jun;66(3):447-462. doi: 10.1007/s00294-019-01040-3. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31691023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31691023/>. Acesso em: 06 nov. 2021.
- BARRETO, V. P.; LAUXEN, E. C. U. O marco inicial da vida humana: perspectivas ético-jurídicas no contexto dos avanços biotecnológicos. **CSP Cadernos de Saúde pública**. Cad. Saúde Pública 2017; 33(6):e00071816. Doi: 10.1590/0102-311X00071816. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/wRZ5NSqv9P9QY6KWd8ytJ5m/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 06 nov. 2021.
- BERGEL, S. D. El impacto ético de las nuevas tecnologías de edición genética. **Revista Bioética**. Rev. Bioét. 25 (3) Sep-Dec 2017. Doi: <https://doi.org/10.1590/1983-80422017253202>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/sdjql69BjztwzyMJ39rv63K/?lang=es>. Acesso em: 20 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria sctie/ms nº 12, de 19 de abril de 2021.** Brasília, 2021. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Protocolos/20210429_PCDT-IST_588.pdf. Acesso em: 03 nov. 2021.

DEEKS, S. G.; OVERBAUGH, J.; PHILLIPS, A.; BUCHBINDER, S. HIV infection. **Nature Reviews Disease Primers**, n. 15035, 1 Oct. 2015. DOI: 10.1038 / nrdp.2015.35. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201535#Sec1>. Acesso em: 14 out. 2021.

FARIA, N. R.; RAMBAUT, A.; SUCHARD, M. A. S.; BAELE, G. B.; BEDFORD, T. B.; WARD, M. J. W.; TATEM, A. J. T.; SOUSA, J. D.; ARINAMINPATHY, N.; PEPIN, J.; POSADA, D.; PEETERS, M.; PYBUS, O. G.; LEMEY, P. HIV epidemiology. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. **Science**, v. 346, no. 6205, p. 56 - 61, 3 Oct. 2014. DOI: 10.1126/31ropbox.1256739. Disponível em: <https://www.science.org/lookup/doi/10.1126/31ropbox.1256739>. Acesso em: 14 out. 2021.

FERREIRA, O.; FRANCHINI, M.; BAZZO, M. L.; MOTTA, L.; VÉRAS, N.; WERSOM, E. **Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**, São Paulo, ed. 2, outubro de 2014. DOI- 10.13140/2.1.1915.1046. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268219760_Manual_Tecnico_para_o_Diagnostico_da_Infeccao_pelo_HIV. Acesso em: 03 nov. 2021.

FURTADO, R. N. Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano. **Revista Bioética** P. 223- 231 vol.27 no.2 Brasília Abr./jun. 2019. DOI: 10.1590/1983-80422019272304. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/jFptVvKR7RJHwXwmsKpZFrh/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 19 out. 2021.

GLOBE NEWSWIRE. Excision Receives FDA Clearance of IND for Phase 1/2 Trial of EBT-101 CRISPR-Based Therapeutic for Treatment of HIV. **Excision**. SAN FRANCISCO, September 15, 2021. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2021/09/15/2297456/0/em/Excision-Receives-FDA-Clearance-of-IND-for-Phase-1-2-Trial-of-EBT-101-CRISPR-Based-Therapeutic-for-Treatment-of-HIV.html>. Acesso em: 03 nov. 2021.

GUIMARÃES, M. Ferramenta para editar genes leva o Nobel de Química. **Revista Pesquisa FAPESP**. 7 out. 2020. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/ferramenta-para-editar-genes-leva-o-premio-de-quimica/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

GUPTA, D.; BHATTACHARJEE, O.; MANDAL, D.; SEM, M. K.; DEY, D.; DASGUPTA, A.; KAZI, T. A.; GUPTA, R.; SINHARROY, S.; ACHARYA, K.; CHATTOPADHYAY, D.; RAVICHANDIRAN, V.; ROY, S.; GHOSH, D. CRISPR-Cas9 system: A new-fangled dawn in gene editing. **Life Sci**. 2019 Sep. 1; 232:116636. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116636. Epub 2019 Jul 8. PMID: 31295471. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31295471/>. Acesso em: 06 nov. 2021.

JINEK, M. *et al.* A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. **Science**. 17 Aug 2012, Vol 337, Issue 6096 p. 816-821. DOI: 10.1126/science.1225829. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1225829>. Acesso em: 09 nov. 2021.

LIMSIRICHA, P.; GAJ, T.; SCHAFFER, D. Crispr-mediated Activation of Latent HIV-1 Expression. **Molecular Therapy**, Department of Chemical and Engineering, University of California, Berkeley, Vol.24 nº 499-507, march 2016. Doi: 10.1038/mt.2015.213. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525001616309674>. Acesso em: 11 out. 2021.

LIU, C.; ZHANG, L.; LIU, H.; CHENG, K. Delivery strategies of the CRISPR-Cas9 gene-editing system for therapeutic applications. **J Control Release**. 2017 Nov 28; 266:17-26. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.09.012. Epub 2017 Sep 11. PMID: 28911805; PMCID: PMC5723556. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28911805/>. Acesso em: 06 nov. 2021.

MARTINEZ-OLIVA, B. G. Crispr, una herramienta para editar genomas. julio - diciembre 2020 **Gac Med Bol** 2020; 43 (2): p. 179-180. DOI: <https://doi.org/10.47993/gmb.v43i2.66>. Disponível em: <http://www.scielo.org.bo/pdf/gmb/v43n2/v43n2a10.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2021.

MORAIS, P. B.; PAIVA, P. M. H.; NASSER, T. F. Terapia Gênica: nova perspectiva no avanço à cura da infecção pelo HIV. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.6, p. 60983-60999, jun. 2021. DOI:10.34117/bjdv7n6-462. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/31589/pdf>. Acesso em 27 nov. 2021.

MOURA, B. A. R. *et al.* Terapia gênica: perspectivas no tratamento da infecção por HIV. **E-Scientia**, Revista científica de saúde do centro universitário de Belo Horizonte (UNI BH), p. 1-21, 2020. ISSN: 1984-7688. Disponível em: <https://www.dropbox.com/s/r5t5ocppvpy0fme/26-11%20TCC%20%20TERAPIA%20G%C3%8ANICA%20%20PERSPECTIVAS%20NO%20TRATAMENTO%20DA%20INFEC%C3%87%C3%83%20PELO%20HIV%20%282%29.docx?dl=0>. Acesso em: 12 out. 2021.

PARKINS, K. FDA approves first trial investigating CRISPR gene editing as HIV cure. **Clinical Trials Arena**. 16 sep 2021. Disponível em: <https://www.clinicaltrialsarena.com/news/crispr-gene-editing-hiv-cure/>. Acesso em: 03 nov. 2021.

ROSA, J. R.; ROVERSI, F. M.; FEITOSA, L. S. R.; Edição genética através do CRISPR para tratamento de doenças. **Ciências Biológicas Campo Promissor em Pesquisa**, Organizadora Renata Mendes de Freitas. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, capítulo 11, p. 98-112, 2019. DOI 10.22533/at.ed.81919131111. Disponível em: <https://sistema.atenaeditora.com.br/index.php/admin/api/artigoPDF/23854>. Acesso em: 12 out. 2021.

SGANZERLA, A.; PESSINI, L. Edição de humanos por meio da técnica do CRISPR-Cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. **Saúde debate**. Ensaio, Rio de Janeiro, v. 44, n. 125, p. 527-540, abr/jun. 2020. DOI: 10.1590/0103-1104202012519. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sdeb/a/8z84LrTTPq6Xzr77D3jtWDG/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 12 out. 2021.

SILVA, L. M. P. C. T. Polimorfismo da long terminal repeat (ltr) do HIV-1 em amostras do sul do Brasil. **Repositório Institucional Universidade Federal de São Paulo**, january 2016. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/46991>. Acesso em: 22 nov. 2021.

WANG, G. *et al.* CRISPR-Cas Based Antiviral Strategies Against HIV-1. **Virus Research**. Laboratory of Experimental Virology, Department of Medical Microbiology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands, p. 321-332, jan. 2018. Doi: 10.1016/j.virusres.2017.07.020. Epub 2017 Jul 29. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.07.020>. Acesso em: 02 nov. 2021.

XIAO, Q.; GUO, D.; CHEN, S. Application of CRISPR/Cas9-Based Gene Editing in HIV-1/AIDS Therapy. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, School of Basic Medical Sciences, Institute of Medical Virology, Wuhan University, Wuhan, China, Laboratory of Medical Virology, School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China, Department of Veterinary Biosciences, Center for Retrovirus Research, Ohio State University, Columbus, OH, United States, 22 march 2019. Doi: 10.3389/fcimb.2019.00069. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00069>. Acesso em: 02 nov. 2021.