

Inovações em diagnósticos e tratamentos para combater a epidemia do HIV

Innovations in diagnostics and treatment to fight the HIV epidemic

Innovaciones en el diagnóstico y el tratamiento para luchar contra la epidemia del VIH

Recebido: 19/11/2021 | Revisado: 25/11/2021 | Aceito: 10/03/2022 | Publicado: 18/03/2022

Patrícia Magalhães Pinheiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3407-4273>
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil
E-mail: patriciamagalhaespinheiro@gmail.com

Caroline Florêncio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1841-3981>
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil
E-mail: carolforencio@gmail.com

Barbara Mariano

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5210-3218>
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil
E-mail: babimusical26@gmail.com

Felipe Donini Loureiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3933-5460>
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil
E-mail: felipedloureiro4@gmail.com

Daniele Gonçalves Castilho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6936-7674>
Universidade Anhembi Morumbi, Brasil
E-mail: daniele.unifesp@gmail.com

Resumo

O HIV é o vírus da imunodeficiência humana, esse ocasiona uma infecção sexualmente transmissível (IST) que ainda acomete uma grande parte da população, mesmo sendo uma infecção já conhecida a muito tempo. O objetivo do presente trabalho é reunir informações relacionadas às inovações de diagnóstico e de tratamento desta infecção, no qual seu índice de crescimento está diminuindo cada vez mais, porém ainda é uma questão muito preocupante de saúde pública em vários países. Utilizamos a metodologia de pesquisa qualitativa com uma revisão narrativa e descritiva com embasamento em artigos científicos publicados em plataformas como PubMed, Scielo e dados recolhidos do Ministério da Saúde, Organização Mundial da Saúde e UNAIDS. Infelizmente, nem sempre o diagnóstico é rápido devido a vários fatores, como o difícil acesso aos serviços de saúde, ou até mesmo a informação, contudo uma inovação muito comentada ultimamente foi o auto teste do HIV, onde pessoas podem se auto examinar através de um teste rápido, por fluido oral ou sangue, realizando o exame em sua própria residência. O auto teste é muito fácil de ser realizado além do fato de ser oferecido gratuitamente pelo SUS, e somente se der positivo a pessoa precisa procurar uma unidade básica de saúde ou um hospital para realizar o teste confirmatório (ELISA ou Western Blot) e realizar o acompanhamento do tratamento. O tratamento geralmente é feito com uma mistura de medicações, conhecidos como antirretrovirais, porém um novo tratamento está sendo pesquisado e propõe muitas melhorias nessa área, que é a terapia gênica, com a CRISPR/CAS9 somada a utilização do LASER ART, que consiste em nanopartículas de antirretrovirais de liberação lenta e prolongada, aumentando a efetividade dos fármacos e diminuindo a toxicidade fora do alvo. Concluímos que existem diversos fatores englobados a essas inovações apresentadas, com o autoteste é possível atingir populações que antes não eram alcançadas e criar maiores campanhas para levar informações necessárias quanto a importância do diagnóstico o quanto antes e de realizar o teste para acompanhar a evolução. Quanto a terapia gênica com CRISPR/CAS9 e o LASER ART podem chegar a resultados antes não alcançados como a cura do HIV, que quando as duas técnicas combinadas foram possíveis erradicar o vírus dos camundongos testados, todavia, deve ser traçado limites a técnica, para não infringir as questões éticas e morais que pode vir a oferecer.

Palavras-chave: CRISPR/CAS9; Autoteste; HIV; Diagnóstico; Tratamento.

Abstract

HIV is the human immunodeficiency virus, which causes a sexually transmitted infection (STI) that still affects a large part of the population, despite being an infection that has been known for a long time. The objective of the present work is to gather information related to innovations in diagnosis and treatment of this infection, in which its growth rate is decreasing more and more, but it is still a very worrying public health issue in several countries. We used the qualitative research methodology with a narrative and descriptive review based on scientific articles published on platforms such as PubMed, Scielo and data collected from the Ministry of Health, World Health Organization and UNAIDS. Unfortunately, diagnosis is not always quick due to various factors, such as difficult access to health services, or even

information, however a much talked about innovation lately was the HIV self-test, where people can self-examine themselves through a rapid test, by oral fluid or blood, performing the exam in your own home. The self-test is very easy to be performed, in addition to the fact that it is offered free of charge by the SUS, and only if it is positive does the person need to look for a basic health unit or a hospital to perform the confirmatory test (ELISA or Western Blot) and perform the follow-up treatment. Treatment is usually done with a mixture of medications, known as antiretrovirals, but a new treatment is being researched and proposes many improvements in this area, which is gene therapy, with CRISPR/CAS9 added to the use of LASER ART, which consists of slow and prolonged release antiretroviral nanoparticles, increasing the effectiveness of drugs and decreasing off-target toxicity. We conclude that there are several factors involved in these innovations presented, with the self-test it is possible to reach populations that were not reached before and create larger campaigns to bring necessary information about the importance of the diagnosis as soon as possible and of carrying out the test to follow the evolution. As for gene therapy with CRISPR/CAS9 and LASER ART, results that were not achieved before, such as the cure for HIV, when the two techniques combined it was possible to eradicate the virus from the tested mice, however, limits must be drawn to the technique, to not infringe on the ethical and moral issues that it may offer.

Keywords: CRISPR/CAS9; Self-test; HIV; Diagnosis; Treatment.

Resumen

El VIH es el virus de la inmunodeficiencia humana, que provoca una infección de transmisión sexual (ITS) que aún afecta a gran parte de la población, a pesar de ser una infección que se conoce desde hace mucho tiempo. El objetivo del presente trabajo es recopilar información relacionada con las innovaciones en el diagnóstico y tratamiento de esta infección, en la que su tasa de crecimiento está disminuyendo cada vez más, pero sigue siendo un tema de salud pública muy preocupante en varios países. Utilizamos la metodología de investigación cualitativa con una revisión narrativa y descriptiva basada en artículos científicos publicados en plataformas como PubMed, Scielo y datos recolectados del Ministerio de Salud, Organización Mundial de la Salud y ONUSIDA. Desafortunadamente, el diagnóstico no siempre es rápido debido a varios factores, como el difícil acceso a los servicios de salud, o incluso a la información, sin embargo, una innovación muy comentada últimamente fue la autoprueba del VIH, donde las personas pueden autoexaminarse a través de una prueba rápida. por vía oral o sangre, realizando el examen en su propia casa. El autodiagnóstico es muy fácil de realizar, además de que el SUS lo ofrece de forma gratuita, y solo si es positivo, la persona necesita buscar una unidad básica de salud o un hospital para realizar la prueba. prueba confirmatoria (ELISA o Western Blot) y realizar el tratamiento de seguimiento. El tratamiento se suele realizar con una mezcla de medicamentos, conocidos como antirretrovirales, pero se está investigando un nuevo tratamiento que propone muchas mejoras en esta área, que es la terapia génica, con CRISPR / CAS9 sumado al uso de LASER ART, que consiste en y nanopartículas antirretrovirales de liberación prolongada, que aumentan la eficacia de los fármacos y reducen la toxicidad fuera del objetivo. Concluimos que son varios los factores que intervienen en estas innovaciones presentadas, con el autodiagnóstico es posible llegar a poblaciones que antes no fueron alcanzadas y crear campañas más amplias para traer la información necesaria sobre la importancia del diagnóstico lo antes posible y de llevar a cabo salga de la prueba para seguir la evolución. En cuanto a la terapia génica con CRISPR / CAS9 y LASER ART, resultados que antes no se lograban, como la cura del VIH, cuando las dos técnicas combinadas fue posible erradicar el virus de los ratones probados, sin embargo, se deben poner límites a la técnica, para no infringir las cuestiones éticas y morales que pueda ofrecer.

Palabras clave: CRISPR / CAS9; Autoprueba; VIH; Diagnóstico; Tratamiento.

1. Introdução

A partir de dados coletados em 2020, havia cerca de 37,6 milhões de pessoas infectadas no mundo e 920 mil pessoas vivendo com HIV no Brasil, das quais 89% foram diagnosticadas. Atualmente existem diferentes formas de realizar diagnósticos graças a utilização da testagem rápida, que não precisa necessariamente da utilização de um espaço de saúde ou até mesmo de profissionais da saúde pela praticidade e facilidade da execução do teste (Ministério da Saúde, 2020). Usualmente, o padrão ouro de diagnóstico é o teste imunoenzimático ELISA, se positivado é necessário a realização de um teste confirmatório, o Western Blot (UFMG, 2004).

A maior dificuldade em realizar o diagnóstico em massa, principalmente em países como o Brasil, é que há muita desigualdade social e grupos prioritários. Grupos esses que foram denominados pelo Ministério da Saúde (MS) e são aquelas que “apresentam prevalências desproporcionalmente altas de infecções pelo HIV quando comparados à população geral e que tem suas vulnerabilidades aumentadas por fatores estruturantes da sociedade” (Brasil, 2020). O autoteste é uma medida adicional em que ajudará abranger pessoas que antes não tinham acesso a esses testes, assim fazendo jus aos princípios do SUS, em que o

define em três palavras: universalidade, equidade e integralidade (PROADI-SUS, 2020).

Em junho de 2021, completou 40 anos em que foi notificado o primeiro caso de HIV no mundo, em 1981, nos Estados Unidos. É uma pandemia de um vírus que não possui cura, e sim tratamento. Por durar tanto tempo, existem muitas informações sobre essa infecção, e muitos estudos que estão sendo realizados, principalmente para diagnósticos e tratamentos.

Um estudo que está em andamento sobre mais uma forma de tratamento, é a utilização da técnica de CRISPR/CAS9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats Associated Protein 9), uma terapia gênica, que consiste na edição de genes a partir do conhecimento de sequências palindrômicas, sequências essas que, independentemente do sentido que é lido permanece o mesmo significado com intenção de eliminar o vírus do HIV das células infectadas (Batista & Nunes, 2019).

Em um estudo dirigido pelo Ministério da Saúde a partir de dados que se iniciaram em 2006, há uma diminuição significativa no uso de preservativos entre jovens da faixa etária de 15 a 24 anos, por conta de um redirecionamento da preocupação para uma possível gravidez adotando a utilização da pílula anticoncepcional, ao invés de somar ao risco de contrair uma infecção, já que a cerca de 30 anos atrás, a descoberta de sorologia positiva para o HIV era considerada uma declaração de morte (OMS, 2019)

Hoje, a forma mais comum de diagnóstico, são por métodos sorológicos, geralmente em unidades de atenção primária à saúde (UAPS), pronto atendimento ou hospitais, mas com essa nova proposta do auto teste, muitas pessoas que possuem difícil acesso a esses locais de saúde ou que têm vergonha de estar passando por essa situação, podem obter o diagnóstico em sua própria casa, estando sozinhas ou com alguém que confie. Essa inovação pode diminuir os casos de óbito por HIV/aids devido ao diagnóstico precoce e aumentar os índices de sobrevivência de pessoas que vivem com HIV, gerando avanços contra o HIV, além de auxiliar no planejamento quanto às medicações e controle epidemiológico (UNAIDS, 2020).

O uso da técnica gênica, com a utilização da CRISPR/CAS9 pode diminuir gradativamente os riscos de pacientes que utilizam antirretrovirais de sofrer com a toxicidade de fármacos, além da capacidade de conseguir reverter o quadro do paciente, devido a modificação/exclusão genética do gene do HIV. Outro benefício é a melhoria nas relações sociais e amorosas, uma vez que esse tratamento pode levar a cura do paciente, além de tirar a visão distorcida que muitas pessoas tem sobre esse vírus, consequentemente diminuindo as questões de discriminação que ainda acontecem com muita frequência com aqueles que testam positivos para essa infecção.

Baseado nessas informações, a proposta do trabalho é identificar na literatura as evidências científicas disponíveis sobre inovações em diagnósticos e tratamentos para combater a epidemia do HIV.

2. Metodologia

Para a eficiência da pesquisa foi utilizado o método de pesquisa qualitativa e descritiva através de revisões narrativas, onde os recursos utilizados foram artigos retirados de plataformas como Google Acadêmico, Scielo, Pubmed; Capítulos de livros; Publicações de revistas e jornais tal como a ScienceDirect, além de dados coletados do Ministério da Saúde, da Organização Mundial da Saúde, OPAS e UNAIDS, recorridos por palavras-chaves como: Infecções Sexualmente Transmissíveis, HIV, testes inovadores, biologia molecular, CRISPR, Autoteste, entre outras.

Foram pesquisados artigos que têm maior confiabilidade e segurança sobre o diagnóstico de HIV, com publicações entre os anos 2000 e 2021 para um contexto mais atualizado.

3. Revisão de Literatura

3.1 Sobre o HIV

Na década de 80, casos de uma infecção desconhecida surgiram na população mundial, e dezenas de pessoas vieram a óbito ao longo dos anos. Os principais sintomas estavam relacionados principalmente à depressão do sistema imune e sua

etiologia continuava uma incógnita, embora já fosse chamada de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS).

A evolução da pesquisa permitiu, em 1983, a descoberta e relação do HIV à AIDS, além da diferenciação através do sequenciamento molecular de dois tipos: HIV-1, o mais prevalente entre todos os casos e o HIV-2, mais comum nas populações XX e YY. Sua transmissão foi relacionada principalmente a relações sexuais desprotegidas e ao compartilhamento de agulhas.

O HIV é transmitido principalmente por contato sexual, e por outras formas menos comuns como transmissão vertical, transfusão sanguínea e por objetos perfurocortantes. Uma vez que o indivíduo se infecta, o vírus começa a atacar as células imunes, os linfócitos TCD4 de modo que surjam infecções oportunistas, como síndromes gripais, tuberculose, entre outros até chegar no estágio mais avançado, a AIDS.

3.2 Dados Epidemiológicos

De acordo com dados reunidos do Programa das Nações Unidas, UNAIDS, que tem como objetivo alertar a população sobre a pandemia de AIDS, cerca de 37,6 milhões de pessoas vivem com HIV no mundo em 2020, sendo mundialmente distribuídos como demonstrado no Quadro 1 (Ministério da Saúde, 2020).

Quadro 1 – Infecções de HIV 2020.

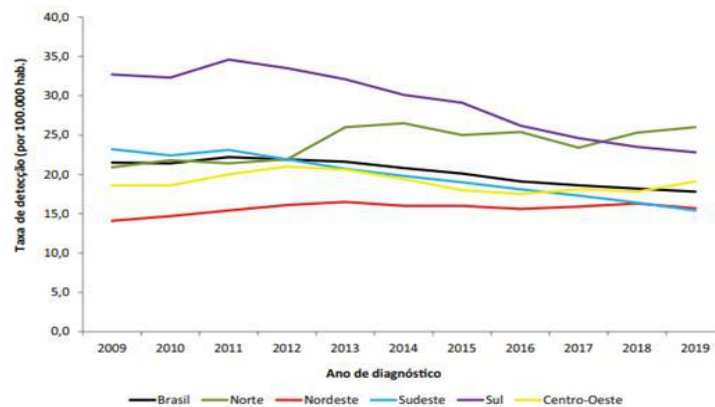
INFECCÕES DE HIV 2020						
REGIÃO	MÉDIA DE PESSOAS QUE VIVEM COM HIV 2020	NOVAS INFECCÕES EM 2020	AATÉ 14 ANOS	MAIS DE 15 ANOS	MORTES RELACIONADAS À AIDS 2020	PESSOAS COM ACESSO AO TRATAMENTO 2020
ÁFRICA ORIENTAL E MERIDIONAL	20,6 milhões	670 mil	75 mil	600 mil	310 mil	16 milhões
ÁSIA E PACÍFICO	5,7 milhões	280 mil	13 mil	270 mil	140 mil	3,6 milhões
ÁFRICA OCIDENTAL E CENTRAL	4,7 milhões	200 mil	55 mil	150 mil	150 mil	3,5 milhões
AMÉRICA LATINA	2,1 milhões	110 mil	4.600	100 mil	32 mil	1,4 milhões
CARIBE	330 mil	13 mil	1.200	12 mil	6 mil	220 mil
ORIENTE MÉDIO E NORTE DA ÁFRICA	230 mil	16 mil	1.400	15 mil	7.900 mil	93 mil
EUROPA ORIENTAL E ÁSIA CENTRAL	1,6 milhões	140 mil	-*	130 mil	35 mil	870 mil
EUROPA OCIDENTAL E CENTRAL E AMÉRICA DO NORTE	2,2 milhões	67 mil	-*	66 mil	13 mil	1,9 milhões
TOTAIS MUNDIAIS	37,6 milhões	1,5 milhão	160 mil	1,3 milhão	690 mil	27,4 milhões

Fonte: UNAIDS (2021).

Através de meios informativos, como o SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), SISCEL (Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral do HIV) e o SIM

(Sistema Informativo de Mortalidade), pode-se observar como os casos de HIV são distribuídos regionalmente no Brasil, detecção por 100.000 mil habitantes demonstrado no gráfico 01 (Ministério da Saúde, 2020). As taxas de detecção de HIV vêm diminuindo com os anos, sendo que entre os anos de 2008 e 2018 houve uma queda de 17,6% de casos por 100.000 habitantes, 2008 teve 21,6 casos por 100.000 habitantes e 2018 teve 17,8 casos por 100.000. As regiões com mais queda nas taxas de detecção no período entre 2008 e 2018 foram as regiões Sudeste com 22,8 e Sul com 35,7 em 2008, já em 2018 as taxas decaíram para 16,0 e 22,8 casos por 100.000 habitantes, queda de 29,8% e 36,1%, respectivamente. A região Centro-Oeste exibiu queda de 4,4% neste período. Enquanto isso, as regiões Norte e Nordeste mostraram tendência de crescimento na detecção: em 2008 as taxas registradas dessas regiões foram de 20,6 no Norte e 13,5 casos no Nordeste por 100.000 habitantes, enquanto em 2018 foram de 25,1 no Norte e 15,8 no Nordeste, representando aumentos de 21,8% (Norte) e 17,0% (Nordeste) como demonstra no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Taxa de detecção de AIDS segundo região de residência por ano de diagnóstico.



Fonte: SINAN & SISCEL até 30/06/2020, SIM de 2009 a 2019.

3.3 Diagnóstico de HIV com ênfase no Autoteste

Para que o indivíduo seja diagnosticado como portador do HIV, é necessário que tenha realizado ao menos dois testes após o tempo de janela imunológica, ou seja, o intervalo de tempo do contato com o vírus até a produção de anticorpos, geralmente de 30 dias, podendo variar para cada indivíduo, para que evite resultados falsos negativos (UNAIDS; UNESCO, 2021). Como triagem, é realizado um teste rápido imunocromatográfico, e seu resultado sai no máximo em 30 minutos. Caso o resultado seja reagente, é necessário realizar um teste confirmatório, nesse caso existem dois padrões ouro, o Western Blot e o ELISA (Carvalho et al., 2004).

O HIV continua sendo um grave problema de saúde pública. Somado às dificuldades de acesso, ainda há um grande estigma social que oriunda essa infecção e os portadores dela, gerando exclusão social, discriminação, julgamentos morais, e outros. Devido a pandemia de COVID-19, os números de testagem para HIV caíram comparado ao ano de 2019, tornando um empecilho ao tratamento das pessoas sorologia positiva (UNAIDS, 2020).

Por essa razão e outras, foi criado o projeto de autoteste de HIV, onde o paciente não precisa de um espaço público de saúde para realizar o teste, pois o próprio pode realizá-lo e interpretá-lo em casa sozinho ou com alguém de sua confiança. O objetivo da inserção desse autoteste é a descentralização do diagnóstico do HIV, para ir além de espaços públicos de saúde (Ministério da Saúde, 2020). No Brasil, graças ao Sistema Único de Saúde, são distribuídos para um público direcionado: aqueles que possuem dificuldades de acesso à uma unidade de saúde, para quem é vulnerável à infecção pelo HIV e para aqueles que usam o PrEP (tratamento de pré-exposição).

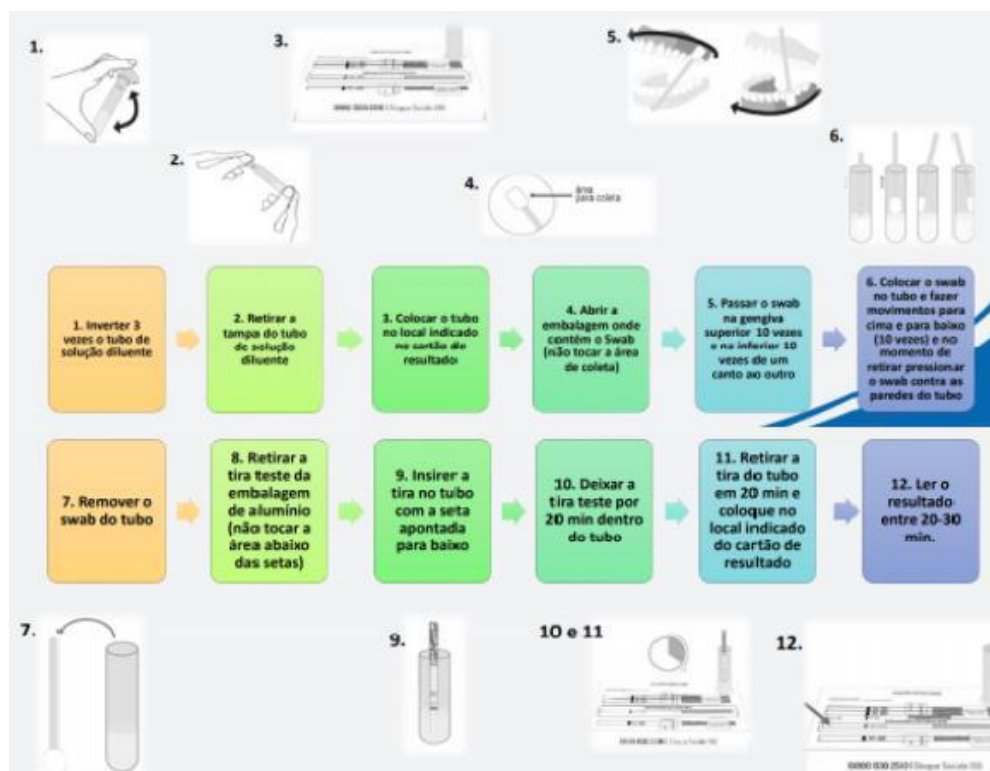
Existem dois tipos de autoteste, ambos os Kits vêm com um manual ilustrativo para uso, um sendo por fluído oral (HIV

detect) tendo o resultado após 20 minutos e o outro com amostra de sangue (Action!) tendo o resultado no mínimo em 10 minutos. Após o exame ser realizado, o próprio paciente consegue interpretar o resultado, onde no próprio dispositivo de teste aparece uma fita vermelha ou duas, então no papel explicativo aparecerá “reagente” ou “não reagente”. Se caso o resultado for positivo, ele deve procurar um serviço de saúde para realizar um teste de confirmação de resultado, através do Western Blot ou ELISA, como citados anteriormente.

No autoteste que necessita de fluído oral é de suma importância que o paciente não coma e nem fume por 30 minutos antes de realizar o teste. É importante que seja feita uma limpeza oral antes de colher o fluído. Possui especificidade e sensibilidade >99,9%. Na Figura 1 é possível visualizar o passo a passo de como realizar o teste por fluído oral.

No autoteste com a utilização de amostra sanguínea, é necessário primeiro retirar o teste de alumínio da caixa e colocar numa superfície plana. Limpar o dedo com álcool e esperar secar. Pegar a lanceta e retirar sua tampa delicadamente. Furar o dedo com a ponta da lanceta e pressionar o tubo capilar na saída do sangue, reduzir a pressão do tubo até o sangue chegar na marca azul. Despejar o sangue do tubo dentro do poço de amostra do dispositivo de teste e então adicionar 3 gotas de solução tampão no mesmo poço de amostra. Após 10 minutos no mínimo, ler o resultado, se aparecer apenas um risco o paciente não possui HIV, se aparecer dois riscos, o paciente pode possuir sorologia positiva e é necessário a confirmação do resultado em uma unidade de saúde (Brasil, 2021).

Figura 1 - Autoteste Fluído Oral HIV Detect – Procedimentos.



Fonte: Saúde (2021).

O teste detecta os anticorpos que o organismo produz para combater o vírus, e não o vírus em si, podendo detectar sua presença 30 dias após a contaminação por conta da janela imunológica, como já explicado anteriormente. Este teste utiliza o método de imunocromatografia que detecta anticorpos anti-HIV utilizando proteínas recombinantes com a finalidade de identificar indivíduos com sorologia positiva (Labnet, 2019).

Em 2016, o Brasil junto com outros países, se comprometeu com as metas chamadas 90-90-90. Com objetivo de

diagnosticar 90% da população com HIV, oferecer tratamento a 90% deles e manter 90% das PVHIV com carga viral indetectável até 2020, porém não foi possível o cumprimento dessa meta. O auto teste pode ser um aliado nessa luta contra HIV/aids, oferecendo praticidade para diagnóstico, abranger a população que antes não foi alcançada, ter uma periodicidade para aqueles que possuem o HIV, para casais que fazem o tratamento pós-exposição, e auxiliaria em cenários como a pandemia do COVID-19 (UNAIDS, 2015).

3.4 Tratamento

No tratamento do HIV, é utilizado antirretrovirais, com a combinação de no mínimo 3 medicamentos, podendo ser combinado em um único comprimido ou em mais. Ainda não existe cura, mas sim tratamento para que haja um refreamento da ação do vírus e assim oferecer um estilo de vida melhor para as PVHIV, sendo esse tratamento ofertado pelo Sistema Único de Saúde. Existem 6 classes de medicamento como demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2 - Medicamentos Anti-HIV.

Antirretrovirais	Funções	Exemplos
Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa	Atuam na enzima Transcriptase Reversa, impedindo que o vírus se multiplique.	Abacavir (ABC), Didanosina (DDL), Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF), Zidovudina (AZT).
Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa	Atuam na enzima Transcriptase Reversa, impedindo que o vírus se multiplique.	Efavirenz (EFZ), Nevirapina (NVP), Etravirina (ETR).
Inibidores de Protease	Inibe as enzimas que são responsáveis pela produção das cópias do vírus	Atazanavir (ATV), Darunavir (DRV), Fosamprenavir (FPV), Lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV), Ritonavir (RTV), Saquinavir (SQV), Tipranavir (TPV).
Inibidores de Fusão	Impede a entrada do vírus nas células de defesa	Enfuvirtida (T20)
Inibidores da Integrase	Inibe as enzimas que são responsáveis pela inserção do material genético viral no DNA humano	Dolutegravir (DTG) e Raltegravir (RAL).
Inibidores de Entrada	Atuam bloqueando os receptores de entrada que o HIV utiliza para entrar na célula.	Maraviroc (MRV)Z

Fonte: VIDA (2021).

Outras formas de tratamento estão sendo pesquisadas e testadas, e algo muito promissor na ciência atual é a utilização da terapia gênica, isto é, a utilização da técnica de CRISPR/CAS9 para modificação dos genes.

3.4.1 Terapia Gênica

Técnica que foi digna de Prêmio Nobel de Química em 2020, das cientistas Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna, o CRISPR/CAS9 é uma ferramenta na qual permite que seja editado o genoma a partir de uma molécula proveniente da bactéria.

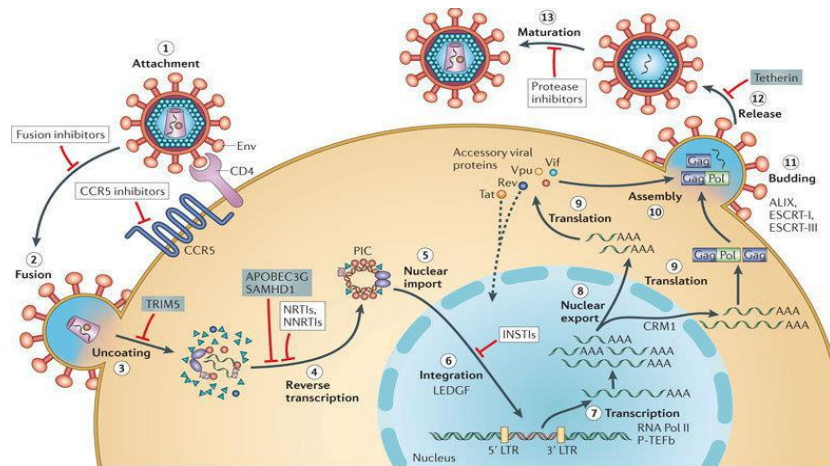
As maiores limitações para um tratamento definitivo contra o HIV devem-se dar pela variabilidade genética e por se tratar de um retrovírus, tem capacidade, através das enzimas integrases, de integrar seu material genético nas células humanas e replicá-los.

O tratamento feito pelos ARTs (antirretrovirais), possui eficiência para a redução da carga viral, mas não o suficiente para eliminar o vírus completamente das células que ele tem tropismo. O vírus tem tropismo por alguns tipos de células que fazem parte do sistema imunológico. Inicialmente o vírus tem tropismo por linfócitos e células dendríticas e quando a infecção

está em curso o tropismo dele é exclusivo para o linfócito T CD4. (Batista & Nunes, 2019).

O vírus da imunodeficiência humana age nas células que fazem parte do sistema imunológico, especificamente macrófagos, células dendríticas e linfócitos T CD4, no perfil inicial da infecção. No perfil tardio da infecção, tem uma entrada exclusiva de linfócitos TCD4. Na Figura 2 é possível visualizar o ciclo infinito da replicação.

Figura 2 - Ciclo do HIV.



Fonte: NIAID (2018).

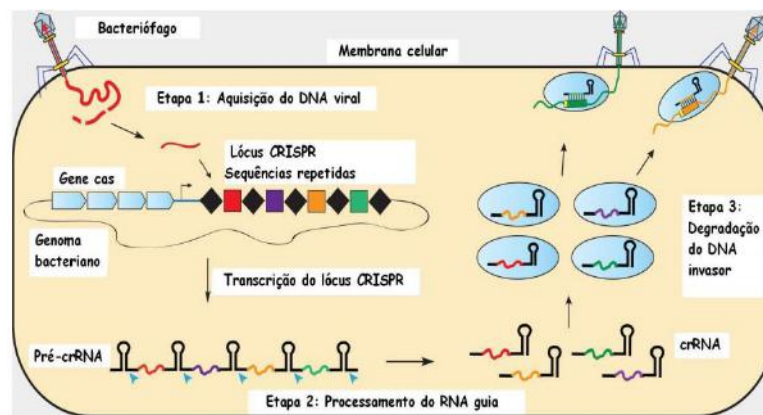
3.4.2 CRISPR/CAS9

Não é possível começar a falar sobre CRISPR antes de comentar sobre o estudo do sistema imunológico das bactérias realizado pelo Francisco Mojica. O seu estudo de doutorado estava relacionado aos micróbios da família *arquea*, e quando resolveu analisar certos fragmentos, notou que havia uma sequência quase palindrômica com 30 bases separadas por espaçadores de mais ou menos 36 bases (LANDER, 2016). Ao longo do tempo, foi evoluindo esse estudo por outros cientistas.

Em 2012, Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna descobriram a função do gene CAS, que corresponde às nucleases. A CAS9 cliva uma região específica definida pelo RNA guia. Em 2013, Feng Zhang começou a focar na utilização da CAS nas edições de genomas humanos.

O CRISPR funciona de modo que o bacteriófago infecta a bactéria e, eventualmente, alguns pedaços são integrados ao genoma bacteriano no locus CRISPR, conhecido como espaçadores, e gera memória imunológica. Posteriormente, quando o fago for infectado novamente, é sintetizado um RNA do pré-CRISPR, que contém uma sequência homóloga a sequência do bacteriófago, e a enzima CAS9, lisa o DNA viral. Está exemplificado conforme a Figura 3. (Ran et al., 2013).

Figura 3 – Sistema CRISPR/CAS9.



Fonte: Adaptado de The Doudna Lab (2012).

3.4.3 CRISPR/CAS9 EM HIV

Sabe-se que o HIV entra nas células de defesa como macrófagos, células dendríticas e linfócitos T por co-receptores, sendo dois principais, o CCR5 nos macrófagos e o CXCR4 nos linfócitos (Bitante & Filho, 2017). Com a técnica de CRISPR também é possível editar o gene, para que a produção dessas proteínas seja diferente de modo que o vírus do HIV não consiga interagir com os receptores (Morais et al., 2021).

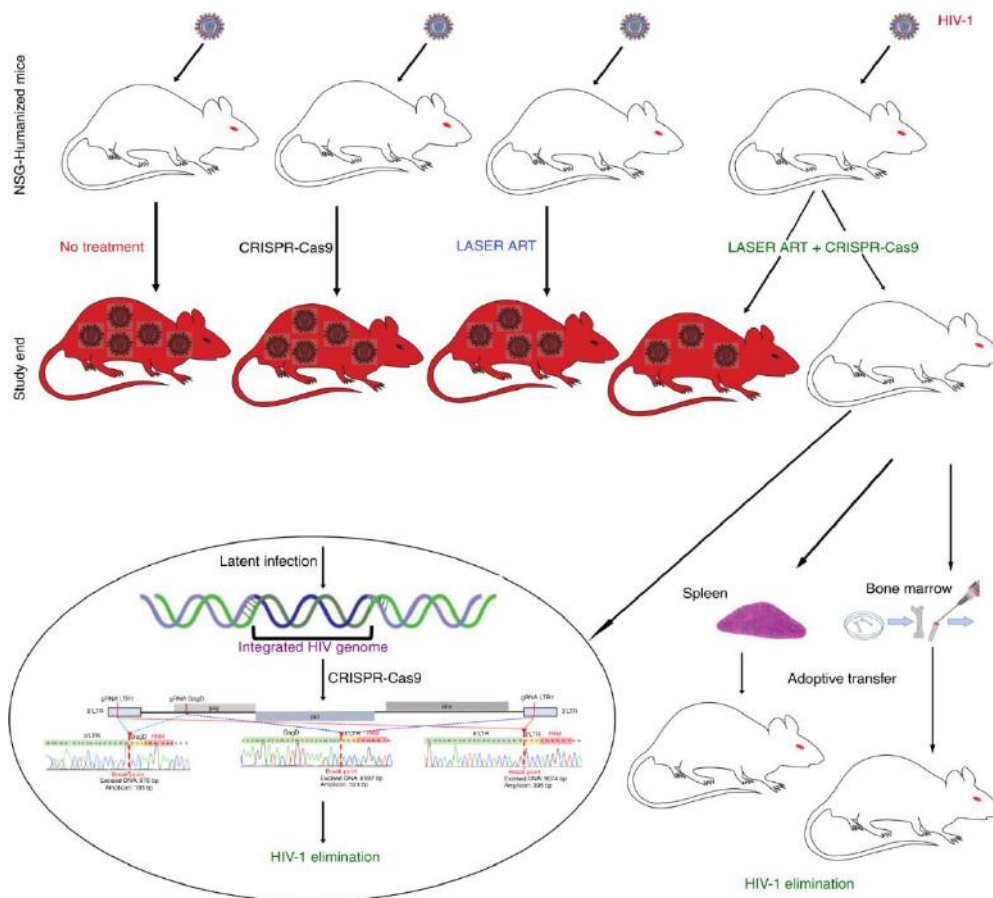
Em 2019, cientistas da Universidade de Temple em conjunto com a Universidade de Nebraska, eliminaram pela primeira vez DNA do vírus HIV-1 de genomas de animais vivos (Dash et al., 2019). Não houve evidências de efeitos adversos externos relevantes nesse estudo, mas concluíram-se que será necessária a utilização do ART em todas etapas para a eliminação do vírus.

Um dos maiores obstáculos para a cura efetiva do HIV se demonstra pelo período de latência que o vírus possui, o tempo que ele demora para aparecer no sangue. Comprova-se então, que é necessário que haja um tratamento através dos antirretrovirais antes mesmo que o vírus comece a se manifestar (Dash et al., 2019).

Diante a esse cenário, eles desenvolveram os Antirretrovirais de Liberação Lenta e Eficaz de Ação Prolongada (ART LASER) para atuar juntamente com o CRISPR. O ART LASER possui características como liberação lenta, lipofilicidade aumentada, melhor biodisponibilidade e menor toxicidade fora do alvo, pois reduz a administração dos ART's de diariamente a semanas. Foram combinados dolutegravir (DTG), lamivudina (3TC) e abacavir com ácido mirístico (ácido gordo de cadeia longa) Os macrófagos fagocitam os cristais de ART LASER, controlando a replicação viral (Dash et al., 2019).

A função do ART LASER neste estudo, foi conseguir tempo deixando o vírus latente, para que o CRISPR/CAS9 lissasse todas as células do DNA viral. Esse estudo foi testado em camundongos com células humanas com capacidade de se infectar pelo vírus HIV-1, demonstrando período de latência induzida pelo ART. Os camundongos foram infectados com o vírus, e o primeiro passo foi aplicar o ART LASER através de uma injeção intramuscular e logo após foram submetidos à técnica de CRISPR/CAS9. No final do estudo, foram isoladas as células da medula óssea dos camundongos infectados com HIV que receberam ou não tratamento com LASER ART e/ou CRISPR/CAS9, na qual foram inseridos em outros camundongos humanizados para examinar o potencial de rebote viral que possivelmente não tinha sido detectado pelo PCR. O vírus não foi detectado no plasma de animais que receberam células da medula óssea isoladas de animais tratados sequencialmente com LASER ART e CRISPR Cas9. Foi realizada depois do tratamento, a quantificação da Carga Viral, onde $\frac{1}{3}$ dos camundongos testados foi possível erradicar o vírus por completo de suas células conforme a Figura 4 (Medicine, 2019).

Figura 4 - Sequência do tratamento com as técnicas LASER ART + CRISPR.



Fonte: Dash et al. (2019).

3.4.4 Questões éticas e morais

A CRISPR já é muito estudada para a utilização na indústria agropecuária, onde os agricultores utilizam dessa técnica a seu favor, modificando os genes das plantas, diminuindo a vulnerabilidade a pragas e insetos, a sensibilidade ao calor, entre outros problemas que acabam gerando prejuízo. Esses mesmos estudos são impossibilitados quando se trata da genética humana, havendo então questões éticas, devido ao fato de que essa técnica pode causar mutações em fetos humanos (BJSCR, 2019).

A CRISPR/CAS9 é uma técnica eficiente e barata, contudo ainda é muito arriscada, devido a proporção de segmentos que ela pode atingir. A limitação maior é dada pelas questões éticas, morais e sociais.

Um caso de muita repercussão foi do cientista He Jiankui, em 2018, que utilizou a técnica de CRISPR/CAS9 em embriões, gerando as primeiras gêmeas geneticamente modificadas. Jiankui mutou o gene CCR5, um dos responsáveis pela entrada do vírus HIV nas células. Porém, esse mesmo gene tem papel importante na defesa de outras infecções, deixando as gêmeas mais suscetíveis a certas doenças e posteriormente mutações deletérias (FAPESP, 2018). Jiankui foi condenado em 3 anos de prisão com um adicional de uma multa de três milhões de yuanes equivalente a 1,73 milhões de reais.

Essa inovação ainda é experimental, é necessário que haja aprimoramento e conhecimento sobre os riscos, leis para ponderar até onde podem chegar, pois o caso do cientista He Jiankui é um exemplo vivo de que se deve impor limites éticos para essa técnica (DIAS; DIAS, 2018).

4. Conclusão

Concluimos que as inovações apresentadas neste trabalho serão de extrema importância no combate ao HIV. Com o

autoteste é possível alcançar aquelas pessoas que convivem com a infecção e que muitas vezes nem imaginam, ou até mesmo para aqueles que já tem conhecimento sobre. É muito importante saber do contágio pelo HIV precocemente para aumentar a expectativa de vida do soropositivo e aumentar sua qualidade de vida. Possibilita a testagem periodicamente auxiliando no combate à transmissão do vírus. O CRISPR/CAS9 é uma potência mundial no meio científico, com essa técnica será possível atingir curas que até hoje não foram descobertas a partir da edição genética, e com o auxílio do ART LASER as chances de chegarmos a cura do HIV são mais plausíveis diante a continuação do estudo, pois há limitações dos ARTs alcançarem certos reservatórios virais, como por exemplo no intestino, cérebro, baço, entre outros. Para que tenha sucesso além da eficácia da ferramenta, será necessária a elaboração de leis na qual limita esse feito científico, para que não ultrapasse as questões éticas e morais.

Referências

- Almeida, P. D. C., & Ribeiro, D. J. M. (2018). O sistema crispr/cas como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: Aplicações e implicações. *Revista Ambiente Acadêmico*, 4(1), 7–22.
- Batista, F. C. C. & Nunes, C. P. (2019). Crispr cas9: Atuais aplicações no tratamento do hiv. *Revista de Medicina de Família e Saúde Mental*, 1(1), 89–94.
- Carvalho, R. L. D., Krahe, C., Farina, G., Paula, D. d. O., Richetti, N., & Crossetti, T. (2004). Teste rápido para diagnóstico da infecção pelo HIV em parturientes. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 26(4), 325–328. <https://doi.org/10.1590/s0100-72032004000400010>.
- Dash, P. K., Kaminski, R., Bella, R., Su, H., Mathews, S., Ahooyi, T. M., Chen, C., Mancuso, P., Sariyer, R., Ferrante, P., Donadoni, M., Robinson, J. A., Sillman, B., Lin, Z., Hilaire, J. R., Banoub, M., Elango, M., Gautam, N., Mosley, R. L., & Gendelman, H. E. (2019). Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10366-y>.
- FAPESP. (2018). Chinês é suspenso por ter criado bebês com gene alterado. (2018). *Revista Pesquisa Fapesp*. <https://revistapesquisa.fapesp.br/chines-e-suspenso-por-ter-criado-bebes-com-gene-alterado/>.
- Freitas dos Santos, S. L., Silva Alves, H. H., Matos da Silva Prado, R., & Nogueira Torres Barros, K. B. (2016). CRISPR uma nova era na Biologia molecular. *Revista Biotecnologia & Ciência*, 5(2), 40–48.
- Home. (2020). Casos de aids diminuem no brasil | Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis. <http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/casos-de-aids-diminuem-no-brasil>
- Home. (2020). Guia Rápido de Testagem Focalizada para o HIV | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/guia-rapido-de-testagem-focalizada-para-o-hiv>.
- Home. (2020, 1 de julho). Boletim epidemiológico hiv/aids 2020 | Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis. <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hiv-aids-2020>
- Home. (2021, 13 de abril). Autoteste fluido oral HIV detect | Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis. <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2021/autoteste-fluido-oral-hiv-detect>.
- Lander, E. S. (2016). The Heroes of CRISPR. *Cell*, 164(1-2), 18–28. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.041>.
- Morais, P. B. d., Paiva, P. M. H., & Nasser, T. F. (2021). Terapia Gênica: nova perspectiva no avanço à cura da infecção pelo HIV / Gene therapy: a new perspective in the advance towards a cure for HIV infection. *Brazilian Journal of Development*, 7(6), 60983–60999. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-462>.
- Oliveira, B. J., & Rodrigues, F. O. (2017). Terapia genética: Nova perspectiva no avanço à cura da infecção pelo HIV. *Brazilian Journal of Development*, 7(6), 60983-60999.
- PROADI-SUS. (2021). Conheça os princípios do SUS, que garantem democratização da saúde brasileira. <https://hospitais.proadi-sus.org.br/noticias/130/conheca-os-principios-do-sus-que-garantem-democratizacao-da-saude-brasileira>.
- Ran, F. A., Hsu, P. D., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D. A., & Zhang, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature Protocols*, 8(11), 2281–2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>.
- Temple University. (2019). HIV eliminated from the genomes of living animals. (2019). Temple University Website. <https://medicine.temple.edu/news/hiv-eliminated-genomes-living-animals>.
- UNAIDS Brasil. (2015). Brasil avança no cumprimento da meta 90-90-90. (n.d.). <https://unaids.org.br/2015/03/brasil-avanca-no-cumprimento-da-meta-90-90-90/>.
- UNAIDS Brasil. (2016). Estatísticas Brasil. (n.d.) [https://unaids.org.br/estatisticas/#:~:text=77,5%20milhões%20\[54,at%20o%20final%20de%202020\)](https://unaids.org.br/estatisticas/#:~:text=77,5%20milhões%20[54,at%20o%20final%20de%202020)).
- UNAIDS. (2020). OPAS e UNAIDS lançam campanha para promover o autoteste de HIV em tempos de COVID-19. 2020. <https://unaids.org.br/2020/12/opas-e-unaids-lancam-campanha-para-promover-o-autoteste-de-hiv-em-tempos-de-covid-19/>
- Xiao, Q., Guo, D., & Chen, S. (2019). Application of CRISPR/Cas9-Based Gene Editing in HIV-1/AIDS Therapy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(1) 1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00069>.