

**Aplicación de Tecnología de Edición de Genes como  
Alternativa de Tratamiento en Pacientes con VIH**

**Application of Gene Editing Technology as a Treatment  
Alternative for HIV Patients**

Paola Alexandra Cabrera-Ávila<sup>1</sup>  
Universidad Católica de Cuenca  
paocabrera360@gmail.com

Freddy Damian Castillo-Solano<sup>2</sup>  
Universidad Católica de Cuenca  
fdcastillos@ucacue.edu.ec

Carlos Enrique Flores-Montesinos<sup>3</sup>  
Universidad Católica de Cuenca  
cflores@ucacue.edu.ec

[doi.org/10.33386/593dp.2023.5.2001](https://doi.org/10.33386/593dp.2023.5.2001)

V8-N5 (sep-oct) 2023, pp. 96-109 | Recibido: 1 de julio de 2023 - Aceptado: 8 de agosto de 2023 (2 ronda rev.)

<sup>1</sup> Nace en Gualaceo, un cantón de la provincia de Azuay, Ecuador. Tengo 23 años es estudiante del último año de medicina en la Universidad Católica de Cuenca. Durante dos años pertenecí a la Asociación de estudiantes de medicina para proyectos e intercambios (AEMPPPI) desempeñando cargos de oficial local de educación médica y oficial local de derechos humanos y paz.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9162-2064>

<sup>2</sup> Freddy Castillo Solano, nace en la ciudad de Loja, Ecuador, realizó sus estudios de pregrado en la Universidad Técnica Particular de Loja obtiene el título de Bioquímico Farmacéutico, los estudios de postgrado los hace en la Universidad Estatal de Guayaquil obtiene el título de Magister en Biotecnología Molecular, realiza la investigación "Perfil de Genes de Virulencia en Pseudomonas aeruginosa", hace una pasantía profesional en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja. Ha trabajado en el Ministerio de Salud Pública como técnico del Departamento de Control y Vigilancia Sanitaria, tiene experiencia en el área de laboratorio de Diagnóstico Clínico de Seguro Social Campesino del IESS y Representante Técnico de Laboratorio de Biología Molecular para Diagnóstico de SARS. Colaborador en el Proyecto PCA3 como Marcador de Cáncer Próstata -UCACUE, Actualmente es docente de la Cátedra de Biología Molecular y Genética en la Universidad Católica de Cuenca.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8069-6161>

<sup>3</sup> Médico cirujano graduado de la Facultad de medicina de la Universidad Católica de Cuenca, especialista en medicina interna y enfermedades infecciosas de la universidad de Chile - Chile. Especialista en docencia universitaria UCACUE. Experto en ABP en la Universidad Leicester- Inglaterra. He sido catedrático de la UCACUE en la carrera de medicina durante 21 años. Soy médico tratante de un hospital privado, en el área de Medicina interna e infectología desde hace 30 años.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2528-8069>

Descargar para Mendeley y Zotero

## RESUMEN

El virus de inmunodeficiencia humana se caracteriza por dañar progresivamente el sistema inmune, es por eso que a lo largo de los años se han creado métodos terapéuticos que tratan de abolir los síntomas que presentan los pacientes, sin embargo, estos no erradican la enfermedad. La terapia genética es una buena alternativa en cuanto a erradicación del virus se habla ya que propone la edición del gen para eliminar el virus de la célula.

Actualmente se exploran nuevas estrategias terapéuticas, como el uso de la tecnología de edición de genes, para reducir la replicación viral y eliminar el VIH del genoma humano.

Es importante mejorar la adherencia al tratamiento antirretroviral (TAR) y se revisa el impacto de los efectos secundarios en la adherencia. El conocimiento sobre la TAR puede moderar la relación entre los efectos secundarios y la adherencia.

En general, los hallazgos de esta revisión sugieren que la investigación continua es necesaria para encontrar una alternativa de tratamiento para el VIH y mejorar la calidad de vida de las personas que viven con esta enfermedad. Las nuevas estrategias terapéuticas pueden ser prometedoras, pero se necesitan más estudios para evaluar su seguridad y eficacia. La mejora de la adherencia al ART sigue siendo un desafío importante y se necesitan intervenciones efectivas para mejorar la adherencia y prevenir la resistencia a los medicamentos.

Finalmente, los hallazgos sugieren que las terapias génicas tienen un gran potencial para mejorar la calidad de vida de las personas que viven con VIH/SIDA y mejorar la eficacia del tratamiento antirretroviral.

**Palabras clave:** antirretroviral, edición, genética, terapéutica, VIH.

## ABSTRACT

Human immunodeficiency virus (HIV) is characterized by progressively damaging the immune system, which is why therapeutic methods have been developed over the years to alleviate the symptoms presented by patients. However, these methods do not eradicate the disease. Gene therapy is a promising alternative when it comes to virus eradication, as it proposes gene editing to eliminate the virus from the cell.

Currently, new therapeutic strategies are being explored, such as the use of gene editing technology, to reduce viral replication and eliminate HIV from the human genome.

Improving adherence to antiretroviral treatment (ART) is important, and the impact of side effects on adherence is being reviewed. Knowledge about ART can moderate the relationship between side effects and adherence.

In general, the findings of this review suggest that continuous research is necessary to find alternative HIV treatments and improve the quality of life for people living with this disease. The new therapeutic strategies show promise, but further studies are needed to evaluate their safety and efficacy. Improving adherence to ART remains a significant challenge, and effective interventions are needed to enhance adherence and prevent drug resistance.

In conclusion, the findings suggest that gene therapies have great potential to improve the quality of life for people living with HIV/AIDS and enhance the effectiveness of antiretroviral treatment.

**Key words:** antiretroviral, editing, genetics, therapeutic, HIV.

## Introducción

La OMS ha definido el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como la infección de células del sistema inmune que altera o anula su función, produciendo el deterioro progresivo del mismo (*VIH/SIDA - OPS/OMS | Organización Panamericana de La Salud*, n.d.).

Según los datos publicados en 2021 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que 38.4 millones de personas viven con VIH, con alrededor de 1.5 millones de personas recién infectadas (*HIV*, n.d.). Curiosamente, solo el 59% de las personas infectadas recibieron terapia antirretroviral de gran actividad. (TARGA) (*HIV*, n.d.; Xiao et al., 2019).

Desafortunadamente a pesar de los esfuerzos de las organizaciones de salud pública tanto nacionales como internacionales no han sido suficientes, ya que en el África Subsahariana casi 1 de cada 25 adultos vive con VIH, representando así alrededor del 70% de PVV (*HIV*, n.d.).

En Latinoamérica la ONUSIDA y la OMS estiman que existen 2,4 millones de personas que viven con VIH. El 81% de estas personas estaban diagnosticadas, de estas un 65% recibía tratamiento y el 60% tenía la carga viral suprimida (*La OPS/OMS y ONUSIDA Instan a Poner Fin a Las Desigualdades Para Eliminar El Sida - OPS/OMS | Organización Panamericana de La Salud*, n.d.).

Desde 2010 ha habido una disminución de 27% de las muertes a causa del SIDA y el porcentaje de pacientes que fueron diagnosticados en una etapa avanzada se redujo del 33% en 2016 al 25% en 2020 (*La OPS/OMS y ONUSIDA Instan a Poner Fin a Las Desigualdades Para Eliminar El Sida - OPS/OMS | Organización Panamericana de La Salud*, n.d.).

En Ecuador, según los datos publicados por la ONUSIDA en 2021 hay 47000 personas que viven con sida y 2000 personas recién infectadas. La información difundida por esta organización estipula que 35.000 personas que

viven con VIH reciben terapia antirretroviral (TAR), de las cuales 31.000 tienen cargas virales suprimidas (*Ecuador | ONUSIDA*, n.d.).

Aun cuando los intentos de prevenir y tratar la enfermedad son arduos, el VIH continúa siendo uno de los principales contribuyentes de morbilidad a nivel mundial (Kwarteng et al., 2017).

La TAR puede abolir la replicación viral a niveles indetectables, mejorando la calidad de vida de las personas que tienen esta patología. Sin embargo, actualmente esta terapia no es capaz de erradicar la infección, debido a que ya se ha establecido un reservorio latente en las células infectadas del VIH y este no se puede suprimir una vez establecido. Por ende, TAR no se considera como una solución permanente ya que es incapaz de eliminar el virus (Castro-Gonzalez et al., 2018; Xun et al., 2021).

Además de ser medicamentos que llegan a ser costosos, a largo plazo se presentan efectos secundarios importantes que se presentan en los pacientes que toman TAR, estos incluyen síntomas gastrointestinales temporales como náuseas, vomito y diarrea. También manifestaciones crónicas, como daño hepático, renal o pancreático (G. Zhou et al., 2017).

Usualmente se menciona que la infección por VIH puede ser controlada mediante terapia antirretroviral, pero no ser curada, es por eso que resultan prometedores los estudios que sugieren una posible erradicación del virus mediante terapia génica (*Can Gene Therapy Cure AIDS? | Science | AAAS*, n.d.).

Posiblemente estos problemas puedan ser solucionados mediante la aplicación de nuevos métodos terapéuticos, como lo son las terapias génicas, que mediante la implantación de un gen sano en la célula infectada da como resultado que el gen de ARN mutante se reprima y corrija, exprese un gen normal y de este modo la célula se vuelva saludable nuevamente (Gonçalves & Paiva, 2017).

Usando esta tecnología, la terapia de edición de genes pudiese agregar un gen terapéutico en una zona en concreto del genoma (Maeder & Gersbach, 2016a). Otro mecanismo de edición génica es la eliminación de genes, debido a que este mecanismo da la posibilidad de disminuir la expresión de genes objetivo (Cox et al., 2015).

## Metodología

Diseño del estudio: Revisión bibliográfica tipo narrativa

Identificación: Se realizó una búsqueda basándose en los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) y MeSH utilizando los términos: CRISPR/Cas9, Genome Editing, HIV, Therapeutics, Antiretroviral Therapy.

Se establecieron las siguientes estrategias de búsqueda, incluyendo booleanos “HIV AND Theraphy”, “HIV AND Genome Editing”, “HIV AND CRISPR/Cas9” “HIV AND Gene Editing AND Therapeutics” “HIV AND Antiretroviral Therapy”; en las bases de datos de: “Scopus”, “SpringerLink”, “PubMed”, “Elsevier”, “BioMed Central”, “Science Direct”.

Tamización: Se aplicaron los criterios de inclusión de tener los términos de búsqueda, en resumen, título o palabras claves; publicaciones en inglés y español; artículos originales y que tuvo como objetivo tratamiento y nuevas alternativas de terapia para personas que viven con VIH.

Se analizaron los estudios encontrados para descartar artículos duplicados. Algunas sintaxis empleadas para la búsqueda fueron: en Scopus “(TITLE-ABS-KEY (HIV AND Therapeutics AND Gene Editing) AND ABS (CRISPR/Cas9))”, en Pubmed “(Gene Editing) AND (HIV)”.

Elección: Se aplicaron los criterios de exclusión como los estudios: Monografías, tesis, de reporte de caso, pruebas diagnósticas y carta al editor; además, se excluyó estudios no disponibles en la base de datos consultadas, al igual que artículos de pago.

Inclusión: Se incluyeron las investigaciones que cumplieron con los requisitos, se analizaron las variables de forma cualitativa: autor, año, título, nombre de la revista, diseño de estudio y conclusiones.

Limitaciones: Las limitaciones del trabajo se debieron al idioma, acceso restringido en ciertos artículos científicos.

## Desarrollo

El virus de inmunodeficiencia humana pertenece a la familia Retroviridae y se caracteriza principalmente por irrumpir el sistema inmune, este daño se presenta mediante la destrucción de linfocitos TCD4 provocando a largo plazo susceptibilidad para enfermedades oportunistas (Rosas et al., 2013).

El VIH se clasifica en dos tipos: (VIH-1) y (VIH-2), este último se originó en una especie de primate llamada mangabey negro, mientras que el VIH-1 se originó en gorilas y chimpancés (Sheikhhasan et al., 2021).

La etapa final de la infección, cuando el virus ha causado un daño importante al sistema inmunitario, se denomina síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Las personas infectadas con VIH tienen un alto riesgo de desarrollar diversos síndromes relacionados con el SIDA; en especial distintos tipos de neoplasias malignas de tipo hematológico como el linfoma no Hodgkin (LNH), mieloma múltiple, linfoma de Hodgkin y leucemia (Soundararajan et al., 2022).

Posterior al descubrimiento del VIH en 1981, diversas terapias farmacológicas se introdujeron para tratar el virus, lamentablemente su uso no resultó ser eficaz. Algunos años después, en 1995 se optó por introducir un tratamiento farmacológico combinado que se conoció como terapia antirretroviral combinatoria (cTAR) o terapia antirretroviral (TAR) (Arts & Hazuda, 2012). Esta terapia reduce el riesgo de transmisión del VIH, previniendo la progresión del virus y mejorando el sistema inmune, esto se traduce en una significativa mejoría en la supervivencia

de los pacientes. Estudios demostraron que el uso de TAR tenía la capacidad de convertir una infección mortal en una enfermedad crónica que puede ser tratada (Sheykhasan et al., 2021).

En la etapa más temprana de la infección por VIH se establecen los reservorios latentes, en consecuencia, el genoma del virus se une al genoma de las células infectadas, pero es transcripcionalmente silencioso, por esta razón el sistema inmunitario no logra reconocerlo (Saez-Cirion & Müller-Trutwin, 2019). El reservorio de VIH latente abarca aproximadamente uno en un millón de células TCD4 en reposo, en personas tratadas de manera oportuna (Dai et al., 2022), el número total de estas células podría ser mucho mayor, pero depende de la duración de la infección y de que tan pronto se inicie con la terapia antirretroviral (Rasmussen et al., 2022).

Diversas investigaciones han descrito una intensificación viral luego de interrumpir o retirar la terapia antirretroviral, dando como resultado un incremento en la morbilidad y mortalidad de los pacientes con antecedentes de interrupción del tratamiento (Shao et al., 2022). Por otro lado, estudios proponen que la inactividad del VIH-1 está mediada por vías epigenéticas complejas, así como también por interferencias transcripcionales de factores virales y del huésped (Cary et al., 2016).

La estrategia de edición genética como tratamiento para VIH se planteó por primera vez en 1988, en la ciudad de Baltimore (Baltimore, 1988).

Tiene como finalidad transferir a la célula un agente terapéutico como las proteínas diana, ARN o ADN, con el propósito de inhibir la expresión génica del VIH (Khan et al., 2016). El genoma del VIH contiene nueve genes, que actúan en el ciclo replicativo viral a través de diversos procesos (Bobbin et al., 2015). Estos genes están involucrados en el paso del virus hacia las células y en la replicación del virus dentro de las mismas (Douek, 2018).

La clave para superar las barreras que comprende el VIH-1 es la erradicación de la

infección, hay propuestas de métodos que se encuentran en desarrollo, pero prometen ser estrategias que logran atacar el VIH-1 latente (Rana et al., 2021). Generalmente estos métodos se basan en la estrategia denominada como choque y muerte que consiste en despertar los reservorios virales, lo que los hace susceptibles a ser eliminados por el sistema inmunitario del huésped o por agentes terapéuticos como TAR (Marin et al., 2009).

Estos enfoques proponen una cura funcional, buscando combatir la infección por VIH y otras infecciones oportunistas que afloran a medida que la enfermedad avanza mediante la potenciación de defensas inmunitarias del huésped (Chun et al., 2015).

A partir de un experimento llamado “paciente de Berlín” las investigaciones con respecto a la terapia génica se han intensificado, ya que en dicho estudio científicos consiguieron erradicar el VIH del organismo del paciente tras recibir un trasplante de médula ósea (Nguyen et al., 2021).

Las principales técnicas de edición genética contienen esencialmente ARN de interferencia (ARN de interferencia pequeño y ARN de horquilla corta) (Chao et al., 2019a); edición programable basada en nucleasas, tales como las nucleasas con dedos de zinc (ZFN) (Maeder & Gersbach, 2016b); nucleasas efectoras semejantes a los activadores de transcripción (TAL) (TALEN) (Shi et al., 2017) y repeticiones palindrómicas cortas interespaciadas reguladoras agrupadas (CRISPR) (Wei et al., 2020); y enzimas recombinantes in vitro, estos consiguen ser los métodos más avanzados en la actualidad aptos para la inactivación o erradicación de los genomas del VIH (R et al., 2016).

#### ARNi

El ARN es una molécula presente en las células que tiene un papel fundamental en la síntesis de proteínas. En el caso del VIH, el ARN es el material genético del virus y es esencial para su replicación y propagación en el cuerpo humano. El ARN también puede ser utilizado

como herramienta terapéutica para controlar la infección por VIH. El ARN de interferencia (ARNi) es un mecanismo celular endógeno desencadenado por el ARN de doble cadena (dsRNA), que conduce a la degradación de los ARN homólogos (Choi et al., 2015).

Cuando los genes exógenos, como los genes virales, se integran aleatoriamente en el genoma de la célula huésped y se transcriben, a menudo se genera dsRNA. Este dsRNA es reconocido por una enzima llamada Dicer, que lo escinde en pequeños ARN de interferencia (siRNA), que pueden dirigirse específicamente a los ARN virales y degradarlos. Los siRNA también se pueden expresar en las células utilizando una plantilla de ADN para transcribir los ARN de interferencia cortos (shRNA) (J. Zhou et al., 2018).

Los enfoques terapéuticos basados en ARN están emergiendo rápidamente como métodos de tratamiento complementarios para controlar el VIH. Los siRNA también se pueden expresar en las células utilizando una plantilla de ADN para transcribir los ARN de interferencia cortos (shRNA) (Ronsard et al., 2019). En 2019, Chao et al. demostraron que las células transfectadas con siRNA podían silenciar selectivamente los genes correspondientes en células de mamíferos, lo que proporcionó nuevas herramientas para explorar las funciones genéticas del VIH en células de mamíferos y para terapias específicas de genes (Chao et al., 2019b). Además, se ha demostrado que el silenciamiento del ARN no codificante largo potenciado por el VIH-1 mediante el uso de ARNi previene el recrudescimiento del VIH en las células T y la microglía tras la interrupción del tratamiento con azidotimidina in vitro (Chao et al., 2019b).

#### ZFN/TALEN

Los ZFN y TALEN son nucleasas de diseño que se utilizan para editar el genoma y reducir la replicación del VIH. Los ZFN son endonucleasas de restricción diseñadas para apuntar a secuencias de ADN específicas dentro del genoma. Están compuestos por una matriz programable de dedos de zinc y el dominio de

nucleasa de Fok I, que están unidos entre sí por un péptido conector (Chatlong et al., 2018). Los TALEN son similares a los ZFN debido a la presencia de repeticiones de aminoácidos que son capaces de unirse al ADN y al uso de FokI como efector de nucleasa. Los TALEN representan nucleasas de diseño de segunda generación que reducen significativamente los efectos fuera del objetivo y, por lo tanto, disminuyen la citotoxicidad en comparación con los ZFN (Ji et al., 2018).

Los ZFN y TALEN se utilizan para editar el genoma del VIH y reducir su replicación. Se ha demostrado que la entrega mediada por AAV de TALEN permite editar el gen CCR5 en células T humanas primarias (Liu et al., 2018). Además, se ha demostrado que la entrega de TALEN a menudo se logra utilizando vectores virales recombinantes seleccionados, como vectores adenovirales, vectores de virus adenoasociados (AAV) y vectores lentivirales, para experimentos in vivo. Los ZFN también se han utilizado para editar el gen CCR5 y se ha demostrado que la eliminación de CCR5 en células T CD4+ confiere resistencia al VIH-1 en ratones humanizados. En general, los ZFN y TALEN son herramientas valiosas para la edición del genoma y la reducción de la replicación del VIH (Nerys-Junior et al., 2018).

#### CRISPR/Cas9

El sistema CRISPR/Cas9 es una herramienta de edición genética que se deriva de un sistema de defensa adaptativo que se encuentra en la mayoría de las bacterias (Xu et al., 2017). El sistema CRISPR/Cas9 bacteriano se compone de dos elementos: la proteína nucleasa Cas9, que corta el ADN de doble cadena, y una molécula de ARN guía única (sgRNA) que guía la proteína Cas9 a una secuencia de ADN específica (C. Yin et al., 2017). En el tratamiento del VIH, el sistema CRISPR/Cas9 se ha utilizado para identificar los objetivos específicos de la escisión completa y la integración del genoma anterior al VIH, lo que conduce a la inactivación de la expresión génica viral y la replicación en células infectadas de forma latente por el VIH. Además, se ha utilizado para eliminar el correceptor CCR5 en

CD4 + células T, haciéndolas resistentes al VIH-1(Gaj et al., 2017). En resumen, el sistema CRISPR/Cas9 es una herramienta prometedora en el tratamiento del VIH, ya que puede identificar y eliminar específicamente el material genético del virus en las células infectadas.

**Resultados**

ARNi

**Tabla 1**  
*Terapia de ARNi para pacientes que viven con VIH. ZFN/TALEN*

AUTOR	AÑO DE INVESTIGACIÓN	GEN OBJETIVO	TIPOS DE CÉLULAS U ORGANISMOS
Choi JG, Bharaj P, Abraham S, Ma H, Yi G, Ye C, et al (Choi et al., 2015)	2015	CCR5 y seis regiones en el genoma viral	Modelo de ratón Hu-PBL
Zhou J, Lazar D, Li H, Xia X, Satheesan S, Charlins P, et al. (J. Zhou et al., 2018)	2018	La repetición terminal larga de 5' (LTR)	Línea de células CEM linfoblastoides T infectadas y células T CD4+ humanas primarias
Ronsard L, Yousif AS, Ramesh J, Sumi N, Gorman M, Ramachandran VG, et al. (Ronsard et al., 2019)	2019	Subtipos Tat del VIH-1	Células HEK293T y células T2M-bl
Chao TC, Zhang Q, Li Z, Tiwari SK, Qin Y, Yau E, et al.(Chao et al., 2019b)	2019	ARNinc mejorado con VIH-1 (HEAL)	Células MT4 y H9 y células E4 Jurkat
Ayala-Suárez R, Díez-Fuertes F, Calonge E, Tarazona HEDLT, de Alda MGR, Capa L, et al. (Ayala-Suárez et al., 2020)	2020	EC-LTNP o LTNP	Células mononucleares de sangre periférica (PBMC)
Suryawanshi GW, Kha-maikawin W, Wen J, Shimizu S, Arokium H, Xie Y, et al (Suryawanshi et al., 2020)	2020	Secuenciación del sitio de integración mediada por indexación de repetición terminal larga (LTRi-Seq)	HSPC CD34+ humanos y timo fetal humano e hígados fetales
Kong W, Biswas A, Zhou D, Fiches G, Fujinaga K, Santoso N, et al.(Kong et al., 2020)	2020	NOP2	Línea de células T infectadas por el VIH J89GFP y THP89GFP Líneas de células de latencia del VIH-1 Células T CD4+ MAGI-HeLa, T2M-bl y células renales fembrionarias HEK293T

**Tabla 2**  
*Terapia de ZFN/TALEN para pacientes que viven con VIH*

CRISPR/Cas9

AUTOR	AÑO DE INVESTIGACIÓN	GEN OBJETIVO	TIPOS DE CÉLULAS U ORGANISMOS
Chattong S, Chaikomom K, Chai-ya T, Tangkosakul T, Palavutitotai N, Anusornvongchai T, et al. (Chattong et al., 2018)	2018	El tercer exón de CCR5	Células CD34+ nucleadas
Liu X, Wang M, Qin Y, Shi X, Cong P, Chen Y, et al. (Liu et al., 2018)	2018	Gen CCR5 humano	Células HeLa o células HEK293T
Ji H, Lu P, Liu B, Qu X, Wang Y, Jiang Z, et al.(Ji et al., 2018)	2018	Repeticiones terminales largas (LTR)	Células HEK293T
Nerys-Junior A, Braga-Dias LP, Pezzuto P, Cotta-de-Almeida V, Tanuri A.(Nerys-Junior et al., 2018)	2018	CCR5	Células HEK293T

**Tabla 3**  
*Terapia con CRISPR/Cas9 para pacientes que viven con VIH*

AUTOR	AÑO DE INVESTIGACIÓN	GEN OBJETIVO	TIPOS DE CÉLULAS U ORGANISMOS
Xu L, Yang H, Gao Y, Chen Z, Xie L, Liu Y, et al. (Xu et al., 2017)	2017	Locus CCR5 humano en linfocitos periféricos de ratones reconstituidos a largo plazo	Células humanas CD34+
Yin C, Zhang T, Qu X, Zhang Y, Putatunda R, Xiao X, et al. (C. Yin et al., 2017)	2017	Cuatro sitios diferentes de la repetición terminal larga (LTR) del VIH-1	Células HEK293T en ratones humanizados de médula ósea/hígado/timo (BLT) con infección crónica por VIH-1
Gaj T, Staahl BT, Rodrigues GMC, Limsirichai P, Ekman FK, Doudna JA, et al. (Gaj et al., 2017)	2017	Corrección de genes y activación de genes informadores en los genes nestina de rata y DARPP-32 humano	Riñón embrionario humano (HEK) 293T y células U2OS, células C6 y fibroblastos dérmicos adultos humanos
Rupp LJ, Schumann K, Roybal KT, Gate RE, Ye CJ, Lim WA, et al. (Rupp et al., 2017)	2017	Alteración genética de Pcd1 en células CAR T	Células T humanas primarias Células T CD4+ o CD8+ humanas purificadas
Yin H, Song CQ, Suresh S, Wu Q, Walsh S, Rhym LH, et al. (H. Yin et al., 2017)	2017	Pcsk9 nativo, 5' y 3' y e-sgRNA dirigidos a fumarilacetato hidrolasa (Fah) de ratón y loci ROSA26	Células HEK293 en humanos
Wu Y, Zeng J, Roscoe BP, Liu P, Yao Q, Lazzarotto CR, et al.(Wu et al., 2019)	2019	Donante HDR de ADN monocatenario corto	Células de mamífero: CD34+ HSPC

## Discusión

### ARNi

En la Tabla 1 se evidencia que los abordajes terapéuticos que se basan en el ARN, han emergido como opciones de tratamiento complementarias para el manejo del VIH, con un rápido crecimiento en su uso. Choi et al (Choi et al., 2015) En el año 2015 llevó a cabo un estudio en el que se analizaron células de mamíferos transfectadas con ARN interferente pequeño (siRNA) para lograr silenciar de forma selectiva los genes asociados con el VIH. Los resultados obtenidos en dicha investigación ofrecieron nuevas herramientas para la exploración de las funciones genéticas del VIH en células de mamíferos, así como para el desarrollo de terapias dirigidas específicamente a los genes involucrados.

Además, Zhou et al así como Ronsard et al (Ronsard et al., 2019; J. Zhou et al., 2018) diseñaron seis dsRNA largos que contenían los genes gag y env del VIH-1 para estudiar la edición de genes mediada por ARNi en células infectadas por el VIH-1; encontraron que todos estos dsRNA podían suprimir la replicación del VIH-1. Chao et al.(Chao et al., 2019b) también demostraron que el silenciamiento del ARN no codificante largo potenciado por el VIH-1 mediante el uso de iARN previno el recrudescimiento del VIH en las células T y la microglía tras la interrupción del tratamiento con azidotimidina in vitro.

### ZFN/TALEN

En la actualidad, hay numerosos estudios han evaluado la aplicación de ZFN y TALEN para editar CCR5 y otros genes en un intento por detener la infección por VIH-1 (Chattong et al., 2018), se muestra así en la Tabla 2. En estos estudios, los investigadores han utilizado NHEJ significado para eliminar genes en terapia celular autóloga ex vivo, y las células somáticas se aíslan, modifican y vuelven a introducir en el cuerpo, algunos de ellos utilizaron ZFN modificados para interrumpir el gen CCR5 en HSC humanas (human stem cells) a una frecuencia media del 17 % del total de alelos en una población y

demonstraron la retención de la capacidad de injertar ratones nulos NOD/SCID/IL2ry (un modelo eficaz de VIH/SIDA). (Ji et al., 2018; Liu et al., 2018) Los ratones trasplantados con HSC modificadas con ZFN recibieron una selección rápida de células negativas para CCR5 y se demostró que tenían niveles significativamente más bajos de VIH-1 con preservación de células humanas en todos sus tejidos (Nerys-Junior et al., 2018).

### CRISPR/Cas9

Las herramientas CRISPR se derivan de un sistema de defensa adaptativo que se encuentra en la mayoría de las bacterias.

(Xu et al., 2017) suprimió con éxito la expresión del gen del VIH-1 en células Jurkat al atacar el LTR del VIH-1 con CRISPR/cas9 por primera vez en 2013. Posteriormente, el sistema CRISPR/cas9 se ha utilizado en la exploración de tratamientos contra el VIH (Tabla 3).

Por ejemplo, (C. Yin et al., 2017) descubrió que el sistema CRISPR/Cas9 se puede utilizar para identificar los objetivos específicos de la escisión completa y la integración del genoma anterior al VIH, lo que conduce a la inactivación de la expresión génica viral y la replicación en células infectadas de forma latente por el VIH; lo cual es un avance terapéutico potencial para eliminar las barreras de todos los pro-virus en personas infectadas por el VIH-1. Además del provirus del VIH, otros investigadores se han centrado en el receptor del VIH. De hecho, Gaj et al.(Gaj et al., 2017) utilizó un lentivirus que expresaba CCR5-sgRNA y Cas9 para inactivar el correceptor CCR5 en las células T CD4 +, haciéndolas resistentes al VIH-1.

El equipo de Rupp et al.(Rupp et al., 2017) diseñó dos combinaciones diferentes de gRNA dirigidas tanto a CXCR4 como a CCR5. El sistema CRISPR-sgRNA-Cas9 indujo con éxito la edición de genes CXCR4 y CCR5 en varias líneas celulares y células T CD4 + primarias, lo que indica que este enfoque CRISPR/Cas9 podría tener aplicaciones en la cura funcional del

VIH/SIDA según los estudios de Yin et al y Wu et al.(Wu et al., 2019; H. Yin et al., 2017)

## Conclusiones

Esta revisión se ha basado en describir los enfoques terapéuticos basados en edición genética, estos pueden contribuir al tratamiento del VIH mediante la aplicación de métodos como ARNi, TALEN, ZFN y CRISPR. Cada una de estas estrategias puede resultar como una gran alternativa, pero hasta la fecha ninguna puede erradicar el reservorio viral latente de esta enfermedad. Si bien es cierto la aplicación de la terapia génica en el tratamiento del VIH sigue enfrentando algunas limitaciones, los estudios extensos y en curso pueden ayudar a superar muchos de estos desafíos.

## Referencias Bibliográficas

- Arts, E. J., & Hazuda, D. J. (2012). HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(4). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A007161>
- Ayala-Suárez, R., Díez-Fuertes, F., Calonge, E., Tarazona, H. E. D. L. T., de Alda, M. G. R., Capa, L., & Alcamí, J. (2020). Insight in miRNome of Long-Term Non-Progressors and Elite Controllers Exposes Potential RNAi Role in Restraining HIV-1 Infection. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 1–20. <https://doi.org/10.3390/JCM9082452>
- Baltimore, D. (1988). Intracellular immunization. *Nature* 1988 335:6189, 335(6189), 395–396. <https://doi.org/10.1038/335395a0>
- Bobbin, M. L., Burnett, J. C., & Rossi, J. J. (2015). RNA interference approaches for treatment of HIV-1 infection. *Genome Medicine*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/S13073-015-0174-Y>
- Can Gene Therapy Cure AIDS? | *Science | AAAS*. (n.d.). Retrieved December 6, 2022, from <https://www.science.org/content/article/can-gene-therapy-cure-aids>
- Cary, D. C., Fujinaga, K., & Peterlin, B. M. (2016). Molecular mechanisms of HIV

latency. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(2), 448. <https://doi.org/10.1172/JCI80565>

- Castro-Gonzalez, S., Colomer-Lluch, M., & Serra-Moreno, R. (2018). Barriers for HIV Cure: The Latent Reservoir. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 34(9), 739–759. <https://doi.org/10.1089/AID.2018.0118>
- Chao, T. C., Zhang, Q., Li, Z., Tiwari, S. K., Qin, Y., Yau, E., Sanchez, A., Singh, G., Chang, K., Kaul, M., Karris, M. A. Y., & Ranaa, T. M. (2019a). The Long Noncoding RNA HEAL Regulates HIV-1 Replication through Epigenetic Regulation of the HIV-1 Promoter. *MBio*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/MBIO.02016-19>
- Chao, T. C., Zhang, Q., Li, Z., Tiwari, S. K., Qin, Y., Yau, E., Sanchez, A., Singh, G., Chang, K., Kaul, M., Karris, M. A. Y., & Ranaa, T. M. (2019b). The Long Noncoding RNA HEAL Regulates HIV-1 Replication through Epigenetic Regulation of the HIV-1 Promoter. *MBio*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/MBIO.02016-19>
- Chattong, S., Chaikomom, K., Chaiya, T., Tangkosakul, T., Palavutitotai, N., Anusornvongchai, T., & Manotham, K. (2018). Efficient ZFN-Mediated Stop Codon Integration into the CCR5 Locus in Hematopoietic Stem Cells: A Possible Source for Intrabone Marrow Cell Transplantation. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 34(7), 575–579. <https://doi.org/10.1089/AID.2018.0007>
- Choi, J. G., Bharaj, P., Abraham, S., Ma, H., Yi, G., Ye, C., Dang, Y., Manjunath, N., Wu, H., & Shankar, P. (2015). Multiplexing seven miRNA-Based shRNAs to suppress HIV replication. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 23(2), 310–320. <https://doi.org/10.1038/MT.2014.205>
- Chun, T. W., Moir, S., & Fauci, A. S. (2015). HIV reservoirs as obstacles and opportunities for an HIV cure. *Nature Im-*

- munology*, 16(6), 584–589. <https://doi.org/10.1038/NI.3152>
- Cox, D. B. T., Platt, R. J., & Zhang, F. (2015). Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nature Medicine* 2015 21:2, 21(2), 121–131. <https://doi.org/10.1038/nm.3793>
- Dai, W., Wu, F., McMyn, N., Song, B., Walker-Sperling, V. E., Varriale, J., Zhang, H., Barouch, D. H., Siliciano, J. D., Li, W., & Siliciano, R. F. (2022). Genome-wide CRISPR screens identify combinations of candidate latency reversing agents for targeting the latent HIV-1 reservoir. *Science Translational Medicine*, 14(667), eabh3351. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ABH3351>
- Douek, D. C. (2018). HIV Infection: Advances Toward a Cure. *Topics in Antiviral Medicine*, 25(4), 121. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35935215/>
- Ecuador | ONUSIDA. (n.d.). Retrieved November 11, 2022, from <https://www.unaids.org/es/regionscountries/countries/ecuador>
- Gaj, T., Staahl, B. T., Rodrigues, G. M. C., Limsirichai, P., Ekman, F. K., Doudna, J. A., & Schaffer, D. V. (2017). Targeted gene knock-in by homology-directed genome editing using Cas9 ribonucleoprotein and AAV donor delivery. *Nucleic Acids Research*, 45(11). <https://doi.org/10.1093/NAR/GKX154>
- Gonçalves, G. A. R., & Paiva, R. de M. A. (2017). Gene therapy: advances, challenges and perspectives. *Einstein (São Paulo)*, 15(3), 369–375. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082017RB4024>
- HIV. (n.d.). Retrieved November 11, 2022, from <https://www.who.int/data/gho/data/themes/hiv-aids>
- Ji, H., Lu, P., Liu, B., Qu, X., Wang, Y., Jiang, Z., Yang, X., Zhong, Y., Yang, H., Pan, H., Zhao, L., Xu, J., Lu, H., & Zhu, H. (2018). Zinc-Finger Nucleases Induced by HIV-1 Tat Excise HIV-1 from the Host Genome in Infected and Latently Infected Cells. *Molecular Therapy*, 26(12), 2817–2827. <https://doi.org/10.1016/j.mthe.2018.09.008>
- Nucleic Acids*, 12, 67–74. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2018.04.014>
- Khan, S., Ullah, M. W., Siddique, R., Nabi, G., Manan, S., Yousaf, M., & Hou, H. (2016). Role of recombinant DNA technology to improve life. *International Journal of Genomics*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2405954>
- Kong, W., Biswas, A., Zhou, D., Fiches, G., Fujinaga, K., Santoso, N., & Zhu, J. (2020). Nucleolar protein NOP2/NSUN1 suppresses HIV-1 transcription and promotes viral latency by competing with Tat for TAR binding and methylation. *PLoS Pathogens*, 16(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1008430>
- Kwarteng, A., Ahuno, S. T., & Kwakye-Nuako, G. (2017). The therapeutic landscape of HIV-1 via genome editing. *AIDS Research and Therapy* 2017 14:1, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S12981-017-0157-8>
- La OPS/OMS y ONUSIDA instan a poner fin a las desigualdades para eliminar el sida - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. (n.d.). Retrieved November 13, 2022, from <https://www.paho.org/es/noticias/30-11-2021-opsoms-onusida-instan-poner-fin-desigualdades-para-eliminar-sida>
- Liu, X., Wang, M., Qin, Y., Shi, X., Cong, P., Chen, Y., & He, Z. (2018). Targeted integration in human cells through single crossover mediated by ZFN or CRISPR/Cas9. *BMC Biotechnology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12896-018-0474-6>
- Maeder, M. L., & Gersbach, C. A. (2016a). Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. *Molecular Therapy*, 24(3), 430–446. <https://doi.org/10.1038/MT.2016.10>
- Maeder, M. L., & Gersbach, C. A. (2016b). Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 24(3), 430–446. <https://doi.org/10.1038/MT.2016.10>
- Marin, B., Thiébaud, R., Bucher, H. C., Rondeau, V., Costagliola, D., Dorrucci, M., Hamouda, O., Prins, M., Walker, S., Porter, K., Sabin, C., & Chêne, G. (2009). Non-AIDS-defining deaths and immunodeficiency in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)*, 23(13), 1743–1753. <https://doi.org/10.1097/QAD.0B013E32832E9B78>
- Nerys-Junior, A., Braga-Dias, L. P., Pezzuto, P., Cotta-de-Almeida, V., & Tanuri, A. (2018). Comparison of the editing patterns and editing efficiencies of TALEN and CRISPR-Cas9 when targeting the human CCR5 gene. *Genetics and Molecular Biology*, 41(1), 167–179. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2017-0065>
- Nguyen, H., Wilson, H., Jayakumar, S., Kulkarni, V., & Kulkarni, S. (2021). Efficient Inhibition of HIV Using CRISPR/Cas13d Nuclease System. *Viruses*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/V13091850>
- Rana, U., Driedger, M., Sereda, P., Pan, S., Ding, E., Wong, A., Walmsley, S., Klein, M., Kelly, D., Loutfy, M., Thomas, R., Sanche, S., Kroch, A., Machouf, N., Roy-Gagnon, M. H., Hogg, R., & Cooper, C. L. (2021). Clinical and demographic predictors of antiretroviral efficacy in HIV-HBV co-infected patients. *Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada = Journal Officiel de l'Association Pour La Microbiologie Medicale et l'infectiologie Canada*, 6(2), 137–148. <https://doi.org/10.3138/JAMMI-2020-0011>
- Rasmussen, T. A., Zerbato, J. M., Rhodes, A., Tumpach, C., Dantanarayana, A., McMahon, J. H., Lau, J. S. Y., Chang, J. J., Gubser, C., Brown, W., Hoh, R., Krone, M., Pascoe, R., Chiu, C. Y., Bramhall, M., Lee, H. J., Haque, A., Fromentin, R., Chomont, N., ... Lewin, S. R. (2022). Memory CD4+ T cells that co-express PD1 and CTLA4 have reduced response to activating stimuli facilitating HIV latency. *Cell Reports. Medicine*, 3(10), 100766. <https://doi.org/10.1016/J.XCRM.2022.100766>
- R, K., Y, C., T, F., E, T., A, N., Y, Z., J, K., W, H., & K, K. (2016). Corrigendum: Elimination of HIV-1 Genomes from Human T-lymphoid Cells by CRISPR/Cas9 Gene Editing. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/SREP28213>
- Ronsard, L., Yousif, A. S., Ramesh, J., Sumi, N., Gorman, M., Ramachandran, V. G., & Banerjee, A. C. (2019). In-Vitro Subtype-Specific Modulation of HIV-1 Trans-Activator of Transcription (Tat) on RNAi Silencing Suppressor Activity and Cell Death. *Viruses*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/V11110976>
- Rosas, A., Hernández, P., & Nájara, I. (2013). Características estructurales y funcionales del Virus de la Inmunodeficiencia Humana. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiológicas* (4th ed., Vol. 33, pp. 163–168). <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2013/ei134f.pdf>
- Rupp, L. J., Schumann, K., Roybal, K. T., Gate, R. E., Ye, C. J., Lim, W. A., & Marson, A. (2017). CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-017-00462-8>
- Saez-Cirion, A., & Müller-Trutwin, M. (2019). The Yellow Brick Road towards HIV Eradication. *Trends in Immunology*, 40(6), 465–467. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2019.04.006>
- Shao, Y., Xun, J., Chen, J., & Lu, H. (2022). Significance of initiating antiretroviral therapy in the early stage of HIV infection. *Zhejiang Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban = Journal of Zhejiang University. Medical Sciences*, 51(3), 373–379. <https://doi.org/10.3724/ZDX-BYXB-2022-0052>
- Sheykhasan, M., Foroutan, A., Manoochehri, H., Khoei, S. G., Poondla, N., & Saidi-

- jam, M. (2021). Could gene therapy cure HIV? *Life Sciences*, 277. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2021.119451>
- Shi, B., Li, J., Shi, X., Jia, W., Wen, Y., Hu, X., Zhuang, F., Xi, J., & Zhang, L. (2017). TALEN-Mediated Knockout of CCR5 Confers Protection Against Infection of Human Immunodeficiency Virus. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)*, 74(2), 229–241. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001190>
- Soundararajan, D., Ramana, L. N., Shankaran, P., & Krishnan, U. M. (2022). Nanoparticle-based strategies to target HIV-infected cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 213, 112405. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2022.112405>
- Suryawanshi, G. W., Khamaikawin, W., Wen, J., Shimizu, S., Arokium, H., Xie, Y., Wang, E., Kim, S., Choi, H., Zhang, C., Yu, H., Presson, A. P., Kim, N., An, D. S., Chen, I. S. Y., & Kim, S. (2020). The clonal repopulation of HSPC gene modified with anti-HIV-1 RNAi is not affected by preexisting HIV-1 infection. *Science Advances*, 6(30). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.AAY9206>
- VIH/SIDA - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. (n.d.). Retrieved December 7, 2022, from <https://www.paho.org/es/temas/vihsida>
- Wei, T., Cheng, Q., Min, Y. L., Olson, E. N., & Siegwart, D. J. (2020). Systemic nanoparticle delivery of CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins for effective tissue specific genome editing. *Nature Communications* 2020 11:1, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17029-3>
- Wu, Y., Zeng, J., Roscoe, B. P., Liu, P., Yao, Q., Lazzarotto, C. R., Clement, K., Cole, M. A., Luk, K., Baricordi, C., Shen, A. H., Ren, C., Esrick, E. B., Manis, J. P., Dorfman, D. M., Williams, D. A., Biffi, A., Brugnara, C., Biasco, L., ... Bauer, D. E. (2019). Highly efficient therapeutic gene editing of human hematopoietic stem cells. *Nature Medicine*, 25(5), 776–783. <https://doi.org/10.1038/S41591-019-0401-Y>
- 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(MAR), 69. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2019.00069/BIBTEX>
- Xu, L., Yang, H., Gao, Y., Chen, Z., Xie, L., Liu, Y., Liu, Y., Wang, X., Li, H., Lai, W., He, Y., Yao, A., Ma, L., Shao, Y., Zhang, B., Wang, C., Chen, H., & Deng, H. (2017). CRISPR/Cas9-Mediated CCR5 Ablation in Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Confers HIV-1 Resistance In Vivo. *Molecular Therapy : The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 25(8), 1782–1789. <https://doi.org/10.1016/J.YMTHE.2017.04.027>
- Xun, J., Zhang, X., Guo, S., Lu, H., & Chen, J. (2021). Editing out HIV: application of gene editing technology to achieve functional cure. *Retrovirology*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12977-021-00581-1/TABLES/3>
- Yin, C., Zhang, T., Qu, X., Zhang, Y., Putatunda, R., Xiao, X., Li, F., Xiao, W., Zhao, H., Dai, S., Qin, X., Mo, X., Young, W. Bin, Khalili, K., & Hu, W. (2017). In Vivo Excision of HIV-1 Provirus by saCas9 and Multiplex Single-Guide RNAs in Animal Models. *Molecular Therapy : The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 25(5), 1168–1186. <https://doi.org/10.1016/J.YMTHE.2017.03.012>
- Yin, H., Song, C. Q., Suresh, S., Wu, Q., Walsh, S., Rhym, L. H., Mintzer, E., Bolukbasi, M. F., Zhu, L. J., Kauffman, K., Mou, H., Oberholzer, A., Ding, J., Kwan, S. Y., Bogorad, R. L., Zatsepin, T., Koteliansky, V., Wolfe, S. A., Xue, W., ... Anderson, D. G. (2017). Structure-guided chemical modification of guide RNA enables potent non-viral in vivo genome editing. *Nature Biotechnology*, 35(12), 1179–1187. <https://doi.org/10.1038/NBT.4005>
- Zhou, G., Li, X., Qiao, S., Shen, Z., & Zhou, Y. (2017). Influence of Side Effects on ART Adherence Among PLWH in China: The Moderator Role of ART-Related Knowledge. *AIDS and Behavior* 2017 22:3, 22(3), 961–970. <https://doi.org/10.1007/S10461-017-1791-9>
- Zhou, J., Lazar, D., Li, H., Xia, X., Satheesan, S., Charlins, P., O’Mealy, D., Akkina, R., Saayman, S., Weinberg, M. S., Rossi, J. J., & Morris, K. V. (2018). Receptor-targeted aptamer-siRNA conjugate-directed transcriptional regulation of HIV-1. *Theranostics*, 8(6), 1575–1590. <https://doi.org/10.7150/THNO.23085>