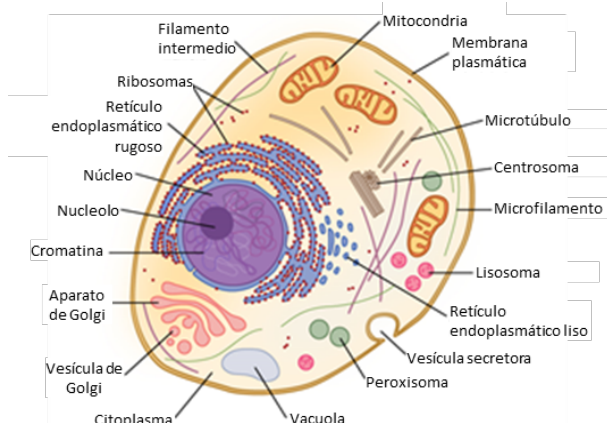


Edición del genoma con fines terapéuticos

Alex Mur Espinosa

Los seres humanos, como todos los organismos vivos, están formados por células, en nuestro caso billones de células. Todas las células de una persona contienen la misma información llamada ADN, puesto que todas ellas provienen de una única célula, el cigoto, que es el



Esquema de una célula animal con los principales orgánulos y estructuras internas. El núcleo es el orgánulo central de la célula, el cual contiene el ADN. Modificada de <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.25>.

resultado de la fertilización del ovocito por el espermatozoide. Cada célula tiene un núcleo, que es donde se almacena toda la información genética, utilizando únicamente cuatro moléculas diferentes llamadas nucleótidos. Es esta información la encargada de controlar todos los aspectos de la vida de la célula, desde su nacimiento, su función y su muerte. Las células humanas tienen alrededor de 20.000 genes, que son pequeñas secuencias de ADN (o no tan pequeñas) con distintas funciones; algunos son extremadamente importantes, mientras que otros no lo son tanto. Al conjunto de

todos estos genes se le llama genoma. Por esta razón, es muy importante que, durante la división de las células, que es el proceso en el que una célula se divide dando lugar a dos células hijas idénticas, no haya ningún error al copiar la información codificada en el genoma. Desafortunadamente, la maquinaria encargada de este proceso no es perfecta, y de vez en cuando introduce algún error (también llamados mutaciones), lo que implica que una de las células hijas no tendrá la información inicial. Estas mutaciones no son como las que aparecen en las películas o series de televisión que otorgan superpoderes. La gran mayoría de veces, estas mutaciones son inocuas, pero otras, pueden significar el inicio de una enfermedad, o la predisposición a padecer una enfermedad determinada, las cuales reciben el nombre de enfermedades genéticas. Hay un gran número de ejemplos de enfermedades originadas por una única mutación en el genoma (llamadas enfermedades monogénicas), y un mayor número de enfermedades causadas por una acumulación de estas mutaciones. Algunos casos de diabetes, enfermedad de Parkinson y Alzheimer están causados por una mutación, mientras que en el otro extremo se encuentra el cáncer, la cual acumula cientos de ellas. Durante muchos años, el tratamiento de estas enfermedades intentaba suplir de manera externa aquello que las células no eran capaces de producir, inhibir lo que no debería haber, y en el caso del cáncer, matar las células con sustancias muy dañinas. Lamentablemente, todos estos tratamientos tienen efectos secundarios con implicación en la calidad de vida del paciente. En 1972 apareció una nueva rama de la medicina llamada terapia génica, encargada de introducir genes en las células con el objetivo de compensar aquellos genes anormales.

A finales del siglo XX, unos investigadores descubrieron un método para manipular el genoma de las células en el laboratorio, lo que se conoce como edición del genoma. Editar el genoma es la habilidad de modificar con precisión la información codificada en el genoma, y una de las aplicaciones que tiene es corregir aquella información errónea que es responsable de enfermedades, corrigiendo el problema inicial. Por lo tanto, esta aproximación es un ejemplo de terapia génica. Este método, llamado nucleasas con dedos de zinc (ZFN, de sus siglas en inglés), fue el primero de su clase, el cual abrió la puerta al tratamiento de aquellas enfermedades donde un solo gen está mutado. Los dos principales problemas eran su elevado coste (alrededor de 5.000\$) y la dificultad de diseñarlo. Unos años más tarde, investigadores descubrieron una segunda técnica para editar el genoma, la cual fue llamada nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción (TALEN, de sus siglas en inglés), la cual incrementaba la especificidad y la eficiencia de la técnica anterior. Actualmente hay algunas estrategias terapéuticas basadas en la edición del genoma en fases clínicas con el objetivo de ser aprobadas en su uso en pacientes reales con determinadas enfermedades como la hemofilia.

Estos descubrimientos significaron un avance en la medicina terapéutica, pero gracias a un descubrimiento posterior hecho en bacterias, un método más sencillo, económico y efectivo, revolucionó el mundo científico, al cual se le denominó CRISPR/Cas9. Se descubrió como un mecanismo de inmunidad que algunas bacterias tienen para luchar contra infecciones víricas.

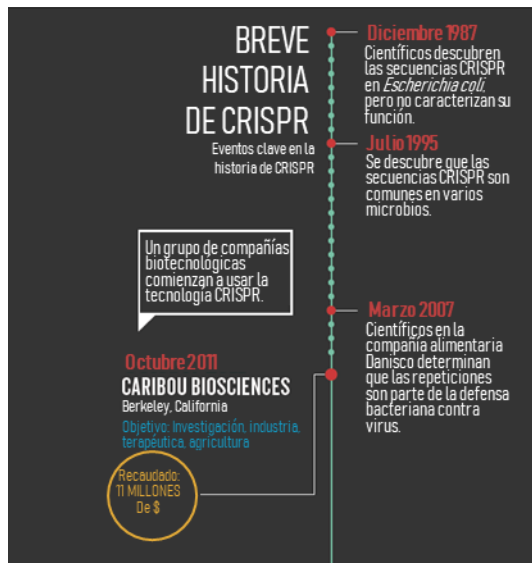
Cuando un virus ataca a una bacteria, el virus introduce su genoma y hace copias de él mismo utilizando la maquinaria de la propia bacteria, lo cual acaba matando al microorganismo infectado. Algunas bacterias poseen un mecanismo para evitar que el virus la termine matando, que es gracias al sistema CRISPR/Cas9, que reconoce el genoma viral con una molécula de ARN, y la Cas9 la corta, inactivando el genoma viral, de manera que

“Somos capaces de tener bisturíes moleculares para el genoma”

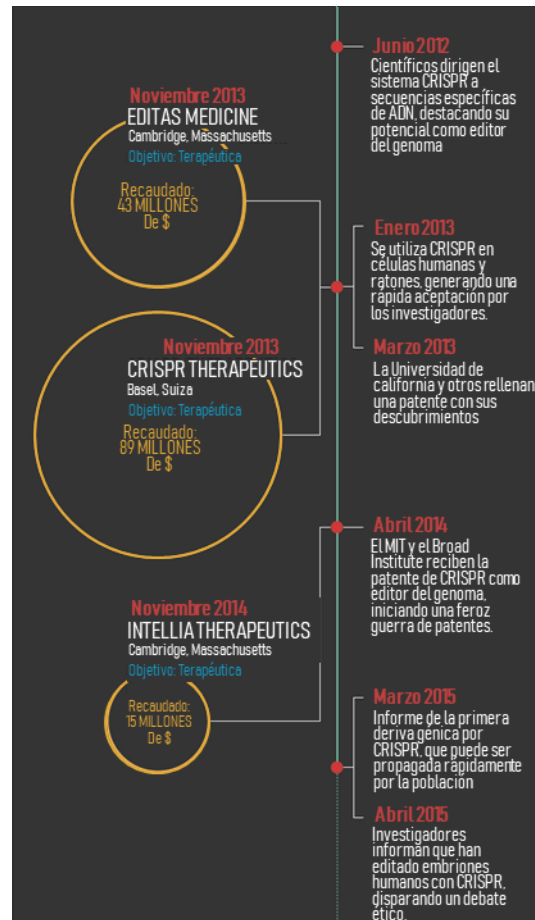
Jennifer Douda

el virus no pueda hacer más copias suyas. A parte de su función como mecanismo de inmunidad en bacterias, los investigadores rápidamente encontraron una aplicación clínica a este sistema como método de edición del genoma. Editar genes a voluntad se basa en la habilidad de cortar el ADN en lugares específicos, de manera que la célula intenta reparar la molécula de ADN tan pronto como sea posible. La reparación puede ser aleatoria, donde la maquinaria introduce o elimina nucleótidos aleatoriamente, o puede usar otra molécula de ADN como molde para copiar la información. Este molde puede añadirse de manera exógena, y tiene que tener unos extremos idénticos a la secuencia que esté siendo reparada, pero puede tener una secuencia interna diferente. De esta manera, la edición del genoma tiene el potencial de curar enfermedades eliminar aquellos genes causantes de enfermedades, corrigiendo las mutaciones causantes de enfermedades, o insertando nuevos genes con funciones protectoras. Esto sería relativamente sencillo y muy útil en el tratamiento de enfermedades monogénicas como la fibrosis quística o algunos casos de esterilidad, y comparando con el primer mecanismo de edición del genoma, el método CRISPR/Cas9 tiene un coste total de aproximadamente 30\$. A más a más, este sistema puede ser modificado para activar o silenciar genes alterados en enfermedad, en vez de producir cortes en el genoma. Comparada con las otras dos técnicas, este método es extremadamente específico, con una

elevada eficiencia de corte y versatilidad. Aunque el método CRISPR/Cas9 puede acelerar los avances en el campo de la terapia génica, aún está lejos de su venta en el mercado.



Breve historia de CRISPR. Eventos clave en la historia de CRISPR. Modificado de: Ledford H. (2015). CRISPR, the disruptor. Nature 522: 20-24.



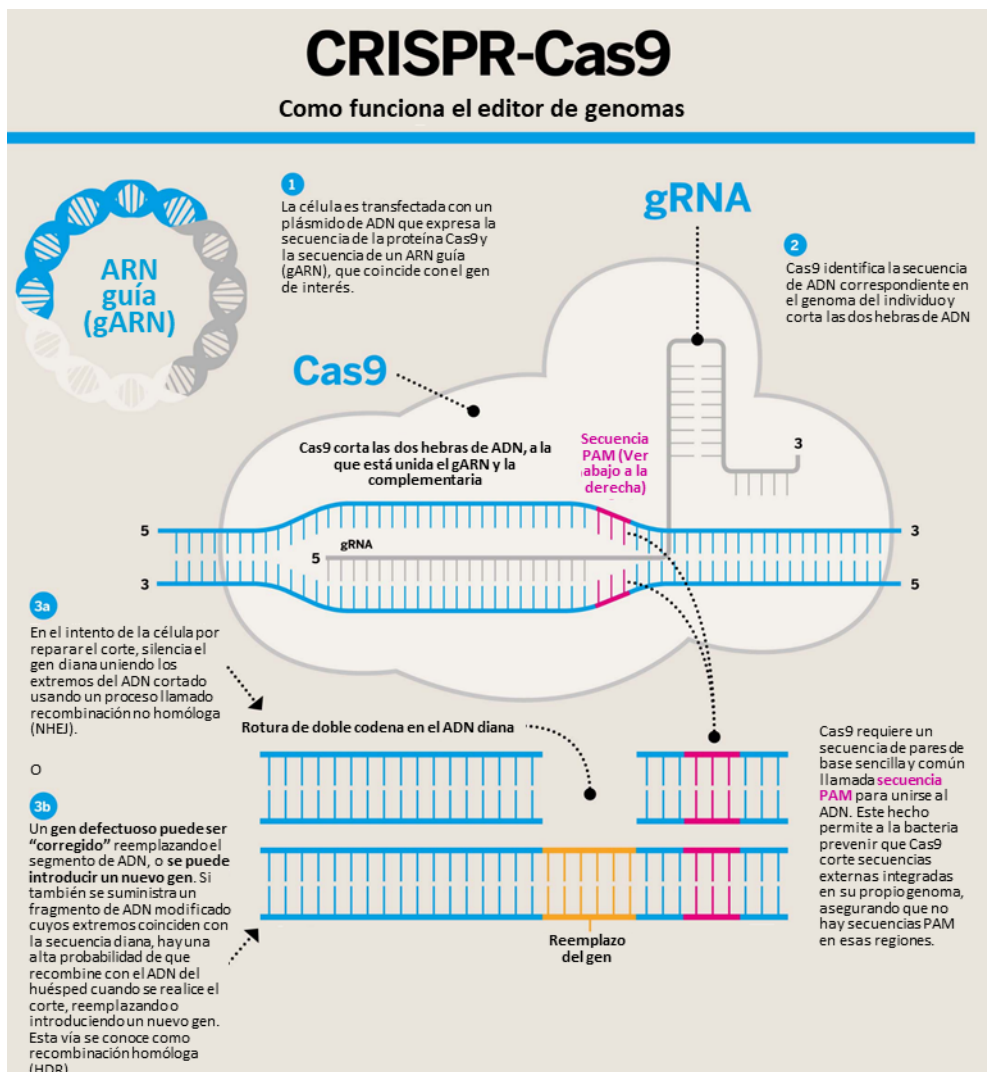
El sistema CRISPR tiene dos componentes. El primero es una proteína o endonucleasa llamada Cas9, que tiene la habilidad de producir un doble corte en el ADN, el que más adelante necesitará ser reparado. El segundo componente del sistema es una molécula de ARN que servirá de guía, que interactúa con la secuencia que se quiere cortar y acerca la proteína Cas9, acercando la endonucleasa a la secuencia diana.

“La principal preocupación en relación con la edición génica era si existen alternativas razonables”

Sheldon Krinsky

tirosinemia. El problema es que el método que usaron no se considera viable en humanos, y solo un pequeño porcentaje de células corrigieron la mutación. Desde entonces, ya se ha tratado de aplicar CRISPR en animales para tratar muchas otras enfermedades. Por ejemplo, se ha demostrado que utilizando dicha tecnología, se ha eliminado el VIH en animales vivos,

puesto que este método puede dirigirse directamente al virus para prevenir la infección, o eliminar el genoma viral ya integrado en las células.

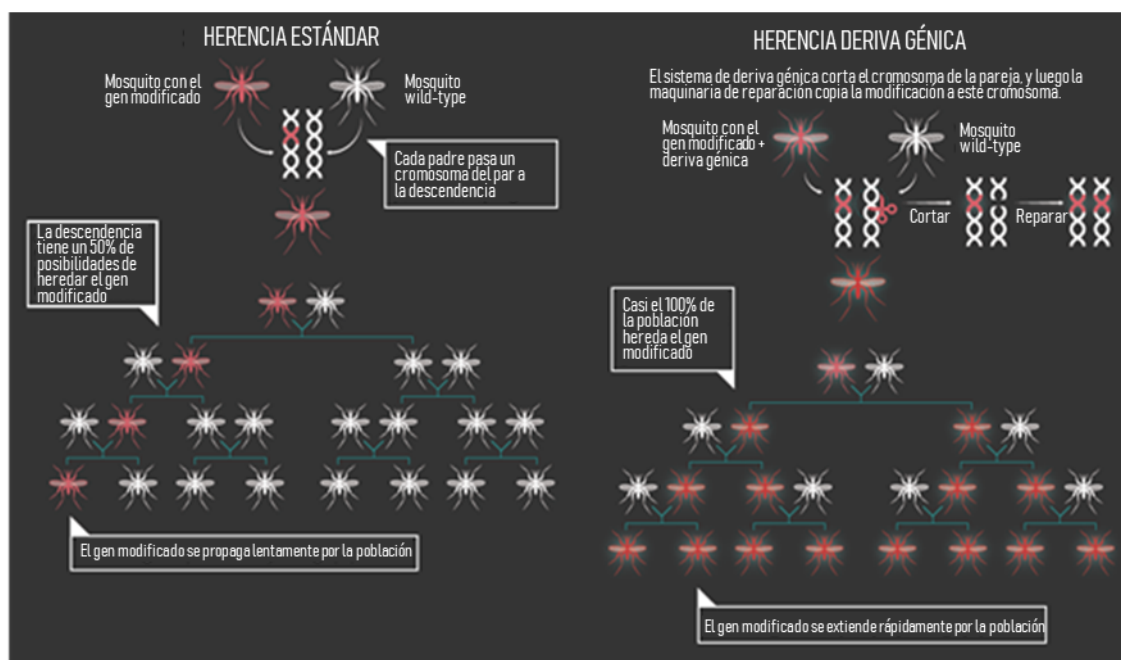


Mecanismo de acción de CRISPR/Cas9, un método de edición del genoma que podría ofrecer una nueva herramienta para curar enfermedades genéticas. Editado de: Focus on Gene Editing. The Biologist 63: 32-33.

Como hemos comentado antes, es un sistema muy versátil, y no tiene únicamente aplicaciones en biomedicina, algunos ejemplos donde también es muy útil son en la investigación, para mejorar el cultivo de plantas, generar modelos animales o mejorar la nutrición. Por ejemplo, científicos están estudiando cómo mejorar las cosechas y el ganado usando edición del genoma. Antes de la llegada de las herramientas de edición del genoma, generalmente esto se hacía insertando un gen en una posición aleatoria usando secuencias de bacterias o virus. El problema es que este proceso no es muy eficiente, y ha sido muy criticado por mezclar ADN de diferentes especies. En los últimos años, investigadores han sido capaces de crear cultivos resistentes a plagas, así como cabras resistentes a determinadas enfermedades y naranjas enriquecidas en vitaminas.

Otros investigadores están estudiando cómo se puede utilizar CRISPR en organismos salvajes. La atención se ha centrado en un método llamado deriva génica, que permitiría extender un

gen editado por toda la población de la misma especie. Esta técnica podría utilizarse para erradicar enfermedades desde sus reservorios o propagar cultivos resistentes a herbicidas. Generalmente, un cambio genético en un organismo requiere un largo periodo de tiempo para propagarse por toda la población, ya que la mutación en uno de los pares de cromosomas es heredada únicamente por la mitad de la descendencia. La deriva génica permite que una mutación realizada por CRISPR en uno de los cromosomas, se copie a sí misma en el cromosoma complementario, haciendo que toda la descendencia posea la mutación. Un ejemplo de esto es que científicos de la Universidad de California presentaron mosquitos genéticamente modificados incapaces de transmitir la malaria a humanos. La idea sería aprovechar la deriva génica para erradicar la malaria, liberando estos mosquitos capaces de transmitir la resistencia a la enfermedad al resto de la población de mosquitos.



Comparación entre herencia estándar y deriva génica en una población de mosquitos. Modificado de: Ledford H. (2015). CRISPR, the disruptor. Nature 522: 20-24.

Otro ejemplo sería un grupo de científicos de la Universidad De Harvard que ya han sido capaces de eliminar aquellos genes del cerdo que provocan una respuesta inmunológica en humanos con el objetivo de realizar trasplantes sin las complicaciones asociadas al rechazo por parte del sistema inmune del paciente. El sistema CRISPR también ha sido ampliamente usado en la creación de modelos animales en investigación para imitar enfermedades humanas y para estudiar el desarrollo embrionario mutando o silenciando genes, o incluso para modificar levaduras con el objetivo de producir biocombustibles.

Aunque el sistema CRISPR tiene mucho que ofrecer, también acarrea algunas preocupaciones éticas y de seguridad. El debate se planteó en 2014, cuando las noticias anunciaron que científicos usaron el sistema CRISPR para modificar genéticamente embriones humanos, todo y que se realizó en embriones defectuosos y sin éxito real. Aunque estos embriones eran incapaces de conducir a un nacimiento, generó un debate por ver si debería, y cuando debería, utilizarse CRISPR para realizar cambios heredables en el genoma humano. La cuestión está en

que si a estos embriones enfermos con la mutación reparada se les permitiera nacer, no únicamente estarían sanos, sino que además, no transmitirían la enfermedad. A parte de crear embriones más sanos para la fertilización in vitro (FIV), también podría usarse cuando el cribado de embriones no sea una opción, o para reducir los duros ciclos de FIV en las mujeres. Generalmente, un aspecto importante en la investigación es el

balance entre riesgos y beneficios, donde los beneficios han de ser mayores que los riesgos. Aunque CRISPR tiene más especificidad que otros métodos, se han visto algunos efectos secundarios. De este modo, CRISPR podría cortar en secuencias de ADN no deseadas, causando nuevas mutaciones. Por esta razón, científicos han dedicado un gran esfuerzo para mejorar la especificidad, y solamente dos años después, han encontrado una variante sintética del sistema que tiene muy pocos cortes inespecíficos, lo que podría significar un punto clave en la traslación de la técnica a la clínica.

Hace unos meses se reabrió este gran debate, ya que He Jiankui, un científico de origen chino, afirmó haber creado los primeros bebés usando la tecnología CRISPR. En noviembre de 2018, dicho investigador anunció el nacimiento de dos gemelas con el ADN modificado, y en enero de 2019 anunció que había una segunda mujer gestando a otro bebé modificado genéticamente. He modificó los embriones antes de ser implantados en el útero de la madre introduciendo una mutación en el gen CCR5, la cual confiere resistencia a ser infectado por el HIV. El gobierno chino ha exigido la suspensión de sus actividades científicas, lo cual no ha evitado que He entrara en la lista de los diez investigadores que han marcado la diferencia en 2018 publicada por la prestigiosa revista británica Nature.

La edición en embriones, ovocitos o espermatozoides se conoce también como modificación de la línea germinal, y es de especial preocupación puesto que un individuo creado usando alguna de estas células tendría cambios genéticos sin su consentimiento, y los transferiría a futuras generaciones. Hay gente preocupada por que esta tecnología en las manos equivocadas pueda abrir el campo a intervenciones no terapéuticas para generar eugenesia o bebés a la carta. Esto podría significar que gente con recursos podría pagar para tener bebés con rasgos mejorados mientras que aquellos con discapacidades serían devaluados. Hay ciertos aspectos que poseen un componente genético a parte del ambiental, el cual podría ser intervenido con objetivos egoístas. De este modo, la edición genética ha abierto la puerta a fines médicos, pero también a fines apartados de la clínica. Por este motivo, la UNESCO propuso una prohibición temporal en la edición genética de la línea germinal humana (ovocitos y espermatozoides). Muchos países han prohibido totalmente la edición genética en embriones humanos, pero en otros casos, la legislación no está muy definida. Incluso cuando la hay, esas normas no suelen ser legalmente vinculantes, mientras que otros países únicamente tienen pautas. Un ejemplo es China, que prohíbe la edición genética de

“El sexo es más barato y divertido que la FIV, así que a menos que tengas una necesidad real, no vas a utilizarla”

Alta Charo

embriones, pero no aplica leyes similares para perseguir el uso de ultrasonidos para hacer selección de sexo ni para acabar con las clínicas no autorizadas de células madre.



Panorama normativo internacional referente a la edición de embriones humanos en 39 países en el mundo. Modificado de: Araki M. and Ishii T. (2014). International regulatory landscape and integration of corrective genome editing into in vitro fertilization. REPROD BIOL ENDOCRIN 12:108.

La comunidad científica tiene opiniones enfrentadas sobre este tema: hay quien piensa que “debemos detener todo aquello que se aproxime a la edición de la línea germinal en embriones humanos” como dice Edward Lanphier, presidente de la Alianza para la Medicina Regenerativa en Washington DC, y aquellos que piensan que aunque se necesita una amplia discusión acerca de la seguridad y la ética referente a editar embriones, el potencial para

“Ya hay muchas clínicas de fertilidad dudosas alrededor del mundo”

Tetsuya Ishii

eliminar enfermedades hereditarias debería decantar la balanza a favor. En lo que ambos bandos están de acuerdo es que, con tantas preguntas sin respuestas, es importante mantener las expectativas de la tecnología CRISPR bajo control.

Modificar seres humanos no es el único aspecto que preocupa a la sociedad. Hay gente preocupada por una liberación accidental o intencionada al medioambiente de organismos modificados experimentales, lo que podría causar un desequilibrio ecológico, ya que podría tener consecuencias severas y/o desconocidas para el ecosistema. Por ejemplo, podría significar la aparición de nuevas plagas, o incluso afectar a depredadores y presas por encima y debajo de la cadena trófica respectivamente.

Entre aquellos que coinciden en utilizar la tecnología, también existen discrepancias. Desde el descubrimiento de la utilidad del sistema CRISPR, hay una guerra de patentes para averiguar quien debería poseer la patente del nuevo descubrimiento. El equipo de Jennifer Doudna en Berkeley y Emmanuelle Charpentier en la Universidad de Viena especificaron como CRISPR/Cas9 debería usarse para cortar de manera precisa el ADN, y solicitaron la patente. Por otro lado, Feng Zhang en el Broad Institute of Harvard y sus compañeros en el MIT demostraron como podía adaptarse este sistema para editar el ADN en otras células, tanto de plantas, de mamíferos, como de humanos. A pesar de que el MIT solicitó la patente siete meses más tarde, que la Universidad de Berkeley, al MIT se le otorgó antes la patente. Esto sucedió porque la patente de Zhang fue revisada más rápido que la de Jennifer, puesto que la solicitud de patente no se hace pública hasta 18 meses después de ser rellenadas. De manera que hay un conflicto de intereses, puesto que el propietario de la patente podría ganar

millones de dólares de las aplicaciones del sistema CRISPR/Cas9 en la industria y licenciando la patente original. Todo y que las solicitudes de patentes se hicieron en 2012, a día de hoy (principios de 2019) no hay un veredicto final, aunque con suerte, a lo largo de este año veremos un final a esta guerra entre Berkeley y el MIT de un modo u otro.

Lo que ya es un hecho es que algunas pequeñas compañías ya están usando la tecnología de CRISPR, y algunas ya han lanzado una exitosa terapia anticancer basada en este sistema, como Intellia Therapeutics y Editas Medicine. Las grandes farmacéuticas como Novartis y Bayer están cooperando con estas pequeñas empresas que poseen las patentes de estas aplicaciones. De manera que no queda mucho tiempo hasta que la edición del genoma se extienda como una herramienta clínica.

“CRISPR tiene el potencial de abrir una nueva rama de la medicina, edición del genoma para curar enfermedad”

Mark Fishman

Bibliografía:

Cyranoski D. (2015). Scientists sound alarm over DNA editing of human embryos. Nature.

Ledford H. (2015). CRISPR, the disruptor. Nature 522: 20-24.

Ledford H (2017). Why the CRISPR patent verdict isn't the end of the story. Nature.

Martín J. (2017). Qué es CRISPR y por qué es tan importante para nuestro futuro. Retrieved from <https://futurizable.com/crispr/>

Montoliu L. (2017). Editando genomas con las herramientas CRISPR. SEBBM DIVULGACIÓN.