

## El Sistema Crispr/Cas9 ¿Cambiará el genoma de la humanidad?

*Con el conocimiento se acrecientan las dudas.*

Goethe (1749-1832)

Todavía recordamos la sensación de sorpresa y cierto temor por lo desconocido cuando nos enteramos que se había concebido el primer bebé probeta en 1978<sup>1</sup>. Y nos seguimos sorprendiendo cuando se clonó la oveja Dolly a partir de una célula adulta diferenciada en 1996. La profecía de Aldous Huxley descrita en *Un Mundo Feliz* parecía cercana poblando el mundo de seres perfectos, o de tropas militares clonadas. Es así como los miedos se alimentan con cada avance científico, aunque la realidad después de tantos años no parece ser escalofriante.

La tecnología *CRISPR/Cas9* da un paso adelante<sup>2</sup>. Ahora podremos corregir genes defectuosos en personas enfermas, y quizás también en embriones, con lo cual las mutaciones invalidantes no serían transferidas a las siguientes generaciones. Con esta tecnología es posible alterar o eliminar cualquier secuencia o letra en un genoma de billones de nucleótidos. Una enzima llamada Cas9 funciona como el cursor del editor de texto de Microsoft Word. Se posiciona sobre un fragmento de texto genético y marca un corte, casi como corregir un error tipográfico. Para ello es guiada por *CRISPR*, una secuencia ribonucleotídica que está diseñada para encontrar por apareamiento la secuencia que queremos cortar. Esta guía acomoda a la enzima Cas9 para que actúe y rompa la hebra de ADN en el lugar diseñado por el investigador o tecnólogo. Luego, utilizando los mecanismos normales de reparación de ADN que tienen las células se puede insertar la secuencia corregida del gen. Esto, que parece ciencia ficción, es posible y relativamente sencillo con programas bioinformáticos, secuenciación y síntesis de oligonucleótidos específicos, y técnicas de biología molecular.

La herramienta permite modificar el genoma con una precisión sin precedentes, y de forma mucho más sencilla y barata que cualquier otro método biotecnológico. De hecho, solo siete meses después de la publicación de la técnica ya había numerosos trabajos aplicándola en moscas, levaduras, gusanos y plantas, entre otros. Se prevé la generación de cerdos genéticamente modificados como donantes de órganos humanos, mamuts lanudos y unicornios. En el área biomédica cabría esperar más resultados a corto plazo en: a) infecciones virales (ya se han hecho ensayos para *delecionar* el virus HIV de células humanas y roedores); b) en cáncer, modificando células hematopoyéticas para incrementar la respuesta inmune, y c) fundamentalmente en enfermedades genéticas, con especial énfasis en aquellas con una mutación invalidante, tales como la anemia de células falciformes, fibrosis quística y corea de Huntington, entre muchas otras. La edición genética trae promesas de salvación a miles de individuos que sufren de condiciones incurables, quienes no solo estarían libres de la enfermedad, sino que además no la transmitirían a sus hijos.

Por ahora, entre los logros ya obtenidos se encuentran el de retardar la maduración de frutas (tomates), la obtención de ganado con mayor masa muscular (cerdos), la generación de órganos de animales libres de infecciones y seguros para el trasplante humano, y la aplicación en mosquitos para que no transfieran la malaria al hombre.

En agosto de 2017 un equipo internacional de investigadores anunció haber corregido el gen anómalo causante de la miocardiopatía hipertrófica hereditaria en embriones humanos portadores<sup>3</sup>. Esto movilizó la opinión científica y pública porque marca el comienzo de la edición de embriones humanos.

Es razonable esperar que los primeros ensayos que utilicen la técnica de *CRISPR/Cas9* correspondan a situaciones en las que los componentes de *CRISPR* puedan ser inyectados o administrados directamente en los tejidos blancos o en los que las células afectadas puedan ser recolectadas del cuerpo, editadas y luego reintroducidas. De hecho, el sitio *clinicaltrials.gov* de EE.UU. registra al día de la fecha 10 ensayos clínicos que utilizan la tecnología *CRISPR/Cas9* para la edición de genes, la mayoría basados en la modificación de células del sistema inmune-hematopoyético para el tratamiento de leucemia, cáncer de esófago, pulmón, vejiga, próstata y renal, y neoplasias asociadas a HPV o HIV. Nueve de ellos se realizan o realizarán en China y uno solo en Estados Unidos.

Pero el horizonte se ve ensombrecido con la posibilidad de que la modificación genética se aplique no solo con fines curativos, sino eugenésicos o de diseño de seres humanos. Cuando la tecnología progresa y se vuelve más sofisticada la gente argumentará que lo no ético sería no usar modificación genética, porque estaríamos negando una cura posible. Y la tentación hacia la perfección también puede aflorar. ¿Haremos a nuestros hijos inmunes al Alzheimer? ¿Y por qué no con un metabolismo aumentado, o una visión perfecta? ¿Y si fueran altos y resistentes a la calvicie? Pensando un poco más, dotarlos de una inteligencia extraordinaria no estaría mal... Finalmente, en algún momento se podría luchar contra la vejez. Hay animales como la langosta, el *Turritopsis nutricula* y la planaria que tienen genes de regeneración o inmortalidad. Quizás podríamos tomar prestados estos genes e incorporarlos...

Todos estos procesos pueden ser lentos, o no suceder, pero la nueva tecnología nos provee una hipotética opción para llevarlos a cabo. Y como la edición genética se puede hacer en células reproductivas o embriones, un gradual e irreversible cambio en el *pool* genético humano se asoma en el horizonte. Podemos pensar que quizás esto sea parte de la evolución, porque el hombre que aprendió a usar el fuego se reprodujo mejor, y quizás aquellos que aprendan a manejar sus genes también logren ventajas evolutivas...

El panorama puede ser alentador, como la cura de enfermedades genéticas, infecciones o el cáncer, pero puede ser también sombrío según lo presentan los medios o las mentes agoreras y catastróficas. ¿Algún país con una regulación flexible podría aumentar su poder por edición genética de su población? ¿Se podría crear un ejército de súper soldados? ¿Se podrían crear humanos mejor adaptados para viajes espaciales y que puedan soportar condiciones distintas en planetas vecinos?

La sociedad prevé diversos problemas éticos que surgen de la aplicación de esta tecnología, y la resolución variará de acuerdo a las reglamentaciones de cada país. Por ejemplo, en varios países se aprueba el diagnóstico preimplantacional de embriones, que permite descartar los defectuosos, con lo cual no existiría la necesidad de editar los mismos. Sin embargo, la edición del genoma podría complementar el diagnóstico preimplantacional en situaciones de fertilidad baja o comprometida, como en el caso de mutaciones heredadas, tales como el *BRCA1*. Por otro lado, se podría pensar que la edición del genoma es más ética que la del diagnóstico preimplantacional ya que implica la reparación y no la destrucción del embrión, aunque para llegar a su correcta implementación millares de embriones son, y serán descartados. Pero además, ¿cuán ético es generar humanos perfectos? ¿Todos podrían acceder? Demás está decir que el dilema involucra una desigualdad social, que ya estamos viviendo en la medicina de un modo u otro.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que, por ahora, en el terreno de la clínica la técnica se enfrenta a ciertas limitaciones. Se presentan desafíos en cuanto a la eficiencia y precisión de los cortes generados por Cas9, la eliminación y/o reducción de cortes *off-target* y su detección, la reparación correcta de los cortes, la obtención de mosaicos, y se suman dificultades en la vía de administración de los componentes del sistema: la nucleasa Cas9 y el ARN guía. Sin embargo, como para otros descubrimientos, las deliberaciones éticas y legales deberían comenzar ya, si bien hoy el método no puede ser aún implementado sin asumir riesgos. El avance científico tiene que ir de la mano de la concientización y participación de la sociedad, logrando una interdependencia entre la ciencia, la ética y la consulta pública. En Inglaterra los Consejos de Bioética ya están trabajando en un documento sobre la ética de la edición del genoma<sup>4</sup>. Se apunta a una implementación controlada escrupulosamente.

Como todo gran avance tecnológico el *CRISPR/Cas9* desencadenó una guerra de patentes y multimillonarias inversiones de los laboratorios para explotarla. Hay una disputa por los derechos de la patente entre los laboratorios de las Dras. Douda y Charpentier, investigadoras que abrieron el camino a la edición genómica, y el del Dr. Zhang en el MIT, quien diseñó la forma de usarla en humanos. Están en juego miles de millones de dólares.

Entre los laboratorios que ya están apostando fuertemente por la tecnología *CRISPR* se halla Bayer, con sede en Alemania que está invirtiendo US\$ 335 millones en una empresa conjunta con *CRISPR Therapeutics*. Estas empresas investigan tratamientos para trastornos de la sangre, la ceguera y las enfermedades del corazón en los bebés. Asimismo, *Regeneron Pharmaceuticals* de Tarrytown, Nueva York, invirtió 50 millones de dólares para la puesta en marcha y el pago de US\$ 75 millones a fin de licenciar *CRISPR* para desarrollar terapias a través de la edición de los genes en el hígado. También es millonaria la inversión de *Vertex* y *CRISPR Therapeutics* para el desarrollo de un tratamiento para la fibrosis quística<sup>5</sup>.

Finalmente, el capítulo de *CRISPR/Cas9* nos deja una gran enseñanza sobre el valor de la ciencia básica. La posibilidad que hoy existe de utilizar el sistema *CRISPR/Cas9* para la edición genómica y sus múltiples aplicaciones es el resultado de un esfuerzo colectivo que comienza en 1995 con la curiosidad suscitada por unas secuencias repetidas de función desconocida, encontradas en un microorganismo en la costa de Alicante en España<sup>6</sup>. El Dr. Mojica descubre un sistema inmune microbiano, cuya existencia ni siquiera se sospechaba. Mojica pasa años intrigado por esta serie de secuencias genéticas que se repetían a intervalos regulares en el genoma y a las que nombra *CRISPR* (por el acrónimo de *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, en español *repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas*). Y resuelve el misterio al darse cuenta de que entre esas secuencias repetidas hay fragmentos de ADN de virus, antiguos invasores de los microorganismos. Ese momento *eureka*—“el más feliz de mi vida científica”, ha dicho Mojica— reveló que el *CRISPR* microbiano viene a ser una vacuna contra antiguos enemigos, una memoria defensiva que además se transmite a la siguiente generación. Durante más de veinte años publica sobre este sistema de defensa microbiano teniendo dificultad para que sus trabajos sean aceptados, y con bajo índice de citación en un comienzo. El tema cobra relevancia recién en 2012 con la reconstrucción en un tubo de ensayo del sistema *CRISPR/Cas9* purificado en dos laboratorios independientes en EE.UU. con la sugerencia de que podría usarse para editar cualquier ADN. Ninguno de estos investigadores estudiaba enfermedades humanas, ni pretendía encontrar una técnica que permitiera corregirlas.

Todavía no sabemos el derrotero de esta historia de *CRISPR/Cas9*, historia de la excelencia de la ciencia básica, su aplicación, las patentes, las empresas, la sociedad, la evolución, la ética. El objetivo ético a seguir sería la prevención de enfermedades genéticas heredables. Hay unas 10 mil enfermedades producidas por deficiencias en un solo gen, y la edición genética podría corregir las mutaciones para que los padres portadores tuvieran una descendencia sana. Prohibir por temor nunca ha sido un buen camino. La historia debe seguir adelante tomando recaudos, con precaución, sabiduría, transparencia, responsabilidad y respeto.

Damasia Becú-Villalobos

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME),  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET),  
Buenos Aires, Argentina  
e-mail: dbecu@dna.uba.ar

1. Becu-Villalobos D. A treinta años del primer bebé de probeta. ¿Gattaca o Darwin? *Medicina (B Aires)* 2009; 69: 201-3.
2. Giono LE. CRISPR/Cas9 y la terapia génica. *Medicina (B Aires)* 2017; 77: 405-9.
3. Ma H, Marti-Gutierrez N, Park SW, et al. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature* 2017; 548: 413-9.
4. The Lancet. Genome editing: science, ethics, and public engagement). *Lancet* 2017; 390: 625.
5. Crispr-Cas9 and the Companies getting on board. En: *Wall Street Journal*, <https://blogs.wsj.com/briefly/2016/09/22/crispr-cas9/>; consultado octubre 2017.
6. Mojica FJ, Montoliu L. On the origin of CRISPR-Cas technology: From prokaryotes to mammals. *Trends Microbiol* 2016; 24: 811-20.