



## Edición genómica: ciencia y ética

### Genome Editing: Science and Ethics



**Autor**

**Juan-Ramón Lacadena**

Profesor Emérito Universidad Complutense

E-mail: [jrlgbucm@bio.ucm.es](mailto:jrlgbucm@bio.ucm.es)



 **Resumen**

La edición genómica cuenta con una nueva herramienta –la técnica CRISPR-Cas9– de enorme eficacia. Se analiza su posible utilización en la terapia génica, considerando diversos aspectos éticos y legales de enorme relevancia.

 **Abstract**

*Genome editing boasts a new tool: the extremely efficient CRISPR-Cas9 technique. This article analyzes the possible use of gene therapy, considering the various relevant ethical and legal aspects.*

 **Keywords**

Edición genómica, CRISPR-Cas9, terapia génica.

*Genome editing, CRISPR-Cas9, gene therapy.*

 **Fechas**

Recibido: 7/4/2016. Aceptado: 21/12/2016



Por *edición genómica* se entiende un tipo de ingeniería genética en la que el ADN es insertado, eliminado o reemplazado en el genoma de un organismo utilizando enzimas del tipo nucleasas (denominadas “tijeras moleculares”). Las nucleasas producen roturas de doble cadena (*DSB*) en lugares precisos del genoma y las dobles roturas del ADN pueden ser reparadas por mecanismos de unión de extremos no homólogos (*NHEJ*) o mediante reparación dirigida por homología (*HDR*), dando lugar a mutaciones controladas (*edición*). La edición genómica se denomina coloquialmente como la técnica de “corta y pega”. En la actualidad se dispone especialmente de cuatro tipos de nucleasas: *meganucleasas*, *nucleasas de dedo de zinc* (*ZF nuclease*), *Talen* (*Transcription Activator-Like Effector-based Nuclease*) y el sistema *CRISPR-Cas* (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, repeticiones palindrómicas cortas interespaciadas regularmente agrupadas) y *Cas* (*CRISPR associated*, asociada a *CRISPR*).

Por *edición genómica* se entiende un tipo de ingeniería genética en la que el ADN es insertado, eliminado o reemplazado en el genoma de un organismo utilizando enzimas del tipo nucleasas.

Con la llegada de la técnica *CRISPR-Cas9* puede decirse que se ha popularizado o “democratizado” el “tiro al blanco génico” (*gene target*). En efecto, mientras que la utilización de las *meganucleasas* necesitan 4-5 años de trabajo y un costo de 6.000 € para llevar a cabo una investigación de edición, las *ZF nucleasas* implican un costo 30.000 €, las *TALEN* implican un tiempo de 3-4 meses y un costo de 10.000 €, con la *CRISPR-Cas9* se necesitan solamente 2-3 semanas de trabajo y un coste de 20-30 €.

## 1. Regla de oro de la investigación

La regla de oro de la investigación biológica descansa en tres puntos fundamentales: plantear una pregunta importante, tratar de contestarla en un *material biológico* idóneo y utilizar una *técnica* metodológica o instrumental adecuada.

Entre las técnicas genéticas cabe destacar que en varias ocasiones los Premios Nobel han premiado las investigaciones que desembocaron en la puesta a punto de diversas técnicas, como por ejemplo:

- Endonucleasas de restricción (W. Arber, H. O. Smith y D. Nathans, Premios Nobel 1978).
- Secuenciación del ADN (W. Gilbert y F. Sanger, Premios Nobel 1980).
- Moléculas de ADN recombinante (P. Berg, Premio Nobel 1980).
- Anticuerpos monoclonales (G. J. F. Köhler y C. Milstein, Premios Nobel 1984).
- Reacción en cadena de la polimerasa, *PCR* (K. B. Mullis, Premio Nobel 1993).
- Tecnología *knock-out* (M. R. Capecchi, M. J. Evans y O. Smithies. Premios Nobel 2007).
- Proteína fluorescente verde, *GFP* (O. Shimomura, M. Chalfie y R. Y. Tsien. Premios Nobel 2008).



- Finalmente, habría que incluir en esta relación a la técnica *CRISPR-Cas9* de edición genómica, objeto del presente artículo, que les valdrá antes o después el Premio Nobel a Jennifer A. Doudna y Emmanuelle Charpentier acompañadas, quizá, por algún otro investigador que, ojalá, fuera el científico español Francisco Juan Martínez Mojica por su investigación pionera en las secuencias CRISPR que han dado el nombre a la técnica y sin cuyo descubrimiento básico no hubiera sido posible llegar a la técnica perfeccionada por las mencionadas investigadoras. El mérito de Doudna y Charpentier fue darse cuenta de que el mecanismo de defensa inmune utilizado por las bacterias desde hace miles de millones de años podría ser transformado en un sistema de corrección o edición génica utilizable en la investigación biomédica.

## 2. Consideraciones éticas previas

Antes de desarrollar algunos aspectos de la edición genómica, me parece oportuno hacer algunas consideraciones generales sobre la ética de la ciencia enunciando algunos pensamientos: la afirmación de que “la Ciencia es imparable” tiene una doble lectura:

No debemos olvidar que las técnicas son éticamente neutras, depende del uso que se haga de ellas.

la primera, constatar que el progreso científico es continuo; la segunda, que los científicos no están dispuestos a parar, lo cual puede llevar emparejados problemas bioéticos. Se dice que querer detener el progreso científico es como querer poner puertas al campo, es decir, un imposible porque todo lo que se pueda hacer, se hará. Más aún, todo lo que se pueda hacer, hay que hacerlo: lo cual implica un *imperativo tecnológico*. Como decía Hans Jonas en su obra *El Principio de Responsabilidad*<sup>1</sup>, “la tesis de partida de este libro es que la promesa de la técnica moderna se ha convertido en una amenaza, o que la amenaza ha queda-

do indisolublemente asociada a la promesa... Lo que hoy puede hacer el hombre –y después, en el ejercicio insoslayable de ese poder, tiene que seguir haciendo– carece de parangón en la experiencia pasada”. Me parece oportuno recordar aquello de que “cuando no podíamos hacerlo, era fácil decir que no deberíamos hacerlo”<sup>2</sup>.

Finalmente, aunque sea una obviedad, no debemos olvidar que las técnicas son éticamente neutras, depende del uso que se haga de ellas.

1 Jonas, H. (1995). *El Principio de responsabilidad. Ensayo de una ética para la civilización tecnológica*. Barcelona: Herder.

2 Travis, J. (2015). Making the cut. *Science*, 350, 1456.



### 3. Una breve historia de CRISPR-Cas9<sup>3</sup>

Aunque la primera descripción de la existencia de las secuencias CRISPR en el genoma de las bacterias se hizo en 1987 por un grupo japonés<sup>4</sup>, sin embargo se debe principalmente a los trabajos del investigador español Francisco Juan Martínez Mojica<sup>5</sup> en los años 1993, 2000 y 2005 el estudio de unas secuencias de ADN repetidas (las secuencias CRISPR) descubiertas en bacterias y en arqueas –que posteriormente se descubrió su relación con el sistema inmunitario de la bacteria para defenderse de los

La característica más relevante que diferencia a los métodos de corrección del ADN por transgénesis es que el transgén se integre al azar en el genoma o que se produzca el reemplazamiento del gen original.

ataques de los virus que las atacan– se han convertido en una de las herramientas biotecnológicas más eficaces para modificar el genoma (edición genómica) de cualquier clase de organismo. Sin embargo, fueron Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna quienes se dieron cuenta que este sistema ancestral de defensa de las bacterias contra la infección por virus podía convertirse en una herramienta para la modificación dirigida del material genético de otros seres vivos<sup>6</sup>.

La característica más relevante que diferencia a los métodos de corrección del ADN por transgénesis es que el transgén se integre al azar en el genoma o que se produzca el reemplazamiento del gen original. Por otro lado, una vez producida la doble rotura en la molécula de ADN puede haber dos rutas para fijar la rotura de la doble hélice: la NHEJ (unión de extremos no homólogos)

que produce la disrupción génica (INDEL, inserciones o deleciones) y la HDR (reparación dirigida por homología) que da lugar a la reparación génica y a la edición.

- 3 Basado en Montoliu, L. (2015). Las herramientas CRISPR: un regalo inesperado de las bacterias que ha revolucionado la biotecnología animal. Recuperado de <http://www.comunicabiotec.org>  
Serrugia, D., Montoliu, L. (2014). The new CRISPR-Cas system: RNA-guided genome engineering to efficiently produce any desired genetic alteration in animals. *Transgenic Res*, 23, 707-716.  
Revisiones del tema realizadas por: Hsu, P. D., Lander, E. S.; Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, 157, 1262-1278.  
Charpentier, E., Doudna, J. A. (2013). Biotechnology: rewriting a genome. *Nature*, 495, 50-51.  
Stenberg, S. H., Doudna, J. A. (2015). Expanding the biologist's toolkit with CRISPR-Cas9. *Mol. Cell*, 58, 568-574.  
Wright, A. V., Kames, K., Nuñez, J. K., Doudna, J. A. (2016). Biology and applications of CRISPR systems: Harnessing nature's toolbox for genome engineering. *Cell*, 164, 29-44.  
Jinek, M., Jiang, F., Taylor, D. W., Sternberg, S. H., Kaya, E., Ma, E., Anders, C., Hauer, M., Zhou, K., Lin, S., Kaplan, M., Iavarone, A. T., Charpentier, E., Nogales, E., Doudna, J. A. (2014). Structures of Cas9 endonucleases reveal RNA-mediated conformational activation. *Science*, 343.
- 4 Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., Nakata, A. (1987). Nucleotide sequence of the *iap* gen, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gen product. *J. Bacteriol*, 169, 5429-5433.
- 5 Mojica, F. J. M., Juez, G., Rodríguez-Valera, F. (1993). Transcription at different salinities of *Haloflex mediterranei* sequences adjacent to partially modified *PatI* sites. *Mol. Microbiol*, 9, 613-621.  
Mojica, F. J., Díez-Villaseñor, C., Soria, E., Juez, G. (2000). Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Mol. Microbiol*, 36, 244-246.  
Mojica, F. J., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., Soria, E. (2005). Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J. Mol. Evol.*, 60, 174-184.
- 6 Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337, 816-821.



El sistema CRISPR-Cas9 consta de dos elementos: una pequeña molécula de ARN (la parte CRISPR) que contiene una secuencia complementaria con la secuencia diana contra la que se dirige en el ADN, y una endonucleasa (denominada Cas9) que es una proteína con actividad enzimática capaz de cortar el ADN y hacerlo solamente donde le indique la pequeña molécula de ARN antes mencionada. Al producir la doble rotura en la molécula de ADN entran en acción otras enzimas existentes en las células que reparan el daño producido, pero que pueden generar errores al insertar o eliminar algunos nucleótidos en el lugar del corte; es decir, se genera una mutación en el gen afectado por el corte (NHEJ). Sin embargo, si se añade un tercer elemento al sistema CRISPR-Cas9 consistente en una molécula de ADN que tenga secuencias complementarias a la zona donde se producirá el corte y, además, se incorporan en esta secuencia algunos cambios específicos que no estuvieran en el genoma original, el sistema tenderá a utilizar esta molécula de ADN como molde para restaurar el corte cambiando así el genoma; es decir, editándolo (*edición genómica*)<sup>7</sup>. Como si de un procesador de textos se tratara, el sistema CRISPR-Cas9 y

Somos capaces de reproducir en el genoma de los animales de experimentación las mismas mutaciones observadas en los pacientes.

la molécula de ADN consiguen localizar un error y corregirlo en un gen o, viceversa, instaurar un error donde antes no lo había, reproduciendo así en un modelo animal experimental aquella mutación detectada en un paciente afectado por una enfermedad. En otras palabras, somos capaces de reproducir en el genoma de los animales de experimentación las mismas mutaciones observadas en los pacientes.

En una revisión actualizada del tema, Lander<sup>8</sup> analizaba la contribución de diversos investigadores al desarrollo de los fundamentos y aplicaciones de la técnica CRISPR-Cas9. Los 12 “héroes CRISPR” –como él los llama– son, por orden de aparición en escena:

- Descubrimiento de CRISPR: Francisco Juan Martínez Mojica (1993).
- CRISPR es un sistema inmune adaptativo: F. J. M. Mojica (2005), Gilles Vergnaud (2005), Alexander Bolotin (2005).
- Evidencia experimental de que CRISPR confiere inmunidad adaptativa y utiliza una nucleasa: Philippe Horvath (2007).
- Programando CRISPR: John van der Oost (2008).
- Dianas CRISPR en el ADN: Luciano Marrafini (2008).
- Cas9 es guiada por crRNAs y crea dobles roturas en el ADN: Sylvain Moineau (2008).
- Reconstituyendo CRISPR en un organismo distante: Virginijus Siksnys (2011).

7 Montoliu, L. (2015). Las herramientas CRISPR: Un regalo inesperado de las bacterias que ha revolucionado la biotecnología animal. Recuperado de <http://www.comunicabiotec.org>

8 Lander, E. S. (2016). The Heroes of CRISPR. *Cell*, 164, 18-28.



- Estudiando CRISPR in vitro: V. Siksnys (2012), Emanuelle Charpentier (2012), Jennifer A. Doudna (2012).
- Edición genómica en células de mamíferos: Feng Zhang (2012, 2013), George Church (2013).

Para la historia de la ciencia genética –dice Lander– es interesante señalar que:

La importante aplicación biotecnológica ha llevado a la lucha por las patentes derivadas de CRISPR-Cas y a la creación de compañías biotecnológicas para desarrollar las aplicaciones de la técnica CRISPR en medicina.

Los grandes descubrimientos genéticos aplicables a la biomedicina pueden surgir de datos científicos totalmente impredecibles. Por ejemplo, CRISPR ha sido consecuencia de una mezcla de curiosidad personal (tratar de entender la repetición de secuencias en el ADN de bacterias tolerantes a la sal), exigencia militar (defensa contra armas biológicas) y la aplicación industrial (mejorar la producción de yogur).

El papel cada vez más importante en la investigación biológica de los descubrimientos “libres de hipótesis” basados en los grandes bancos de datos (*big data*) de la bioinformática.

Varios de los científicos principales actores de la historia de CRISPR hicieron sus trabajos seminales al principio de sus carreras científicas (por ejemplo, Mojica, Horvath, Marrafini, Charpentier, Zhang), algunos de ellos con edades inferiores a los 30 años.

Algunos de los pioneros de CRISPR no trabajaban en centros de investigación dentro de los “circuitos” científicos de renombre internacional (por ejemplo, la Universidad de Alicante, el Ministerio de Defensa de Francia, los laboratorios de la empresa Danisco en Dinamarca, la Universidad de Vilnius en Lituania) y sus trabajos originales fueron rechazados para su publicación en revistas del mayor prestigio (*Nature*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *Molecular Microbiology*, *Nucleic Acid Research*, *Journal of Bacteriology*, etc.).

Los grandes descubrimientos científicos no se corresponden normalmente con un “eureka” instantáneo, sino que se van elaborando durante muchos años.

Por su eficacia y precisión, la técnica CRISPR-Cas9 ha venido a sustituir a las técnicas que desde hace 30 años se vienen utilizando para modificar el genoma de los organismos. La importante aplicación biotecnológica ha llevado a la lucha por las patentes derivadas de CRISPR-Cas –como, por ejemplo, la disputa entre la Universidad de California en Berkeley donde Doudna y Charpentier hicieron su descubrimiento principal y el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) donde Zhang aplicó la técnica en mamíferos<sup>9</sup>– y a la creación de compañías biotecnológicas para desarrollar las aplicaciones de la técnica CRISPR en medicina tales como *Editas Medicine* en EE.UU. (J.A. Doudna) y *CRISPR Therapeutics* en Suiza (E. Charpentier).

<sup>9</sup> Zhang, F. (2012). Systems Methods and Compositions for Sequence Manipulation. U.S. Provisional Patent Application 61/736,527, filed December 12, 2012; later published as US008697359B1 (awarded)



En este contexto también se puede recordar que el Premio Nobel Paul Berg, pionero de las moléculas de ADN recombinante, fue nombrado en una ocasión “empresario del año” en los Estados Unidos o la singular personalidad científico-empresarial de J. Craig Venter, el gran pionero de la genómica (proyecto genoma humano, genómica ambiental, metagenómica, genómica sintética) capaz de crear una nueva empresa para investigar y explotar cada uno de sus descubrimientos científicos. En contraposición, frente a estos ejemplos mencionados, habría que citar como caso contrario el del descubrimiento de la técnica de los anticuerpos monoclonales realizado por C. Milstein y G. J. F. Köhler (que les valió el Premio Nobel en 1984) que no fue patentada y ha resultado de gran valor para la investigación genética.

#### 4. Terapia génica<sup>10</sup>

El desarrollo de la técnica CRISPR-Cas9 para la edición genómica ha revivido la actualidad de la terapia génica (TG) humana. La TG es una forma de transgénesis o “transmisión horizontal” de la información genética en la especie humana.

La terapia génica es una forma de transgénesis o “transmisión horizontal” de la información genética en la especie humana.

La terapia génica puede definirse como la administración deliberada de material genético en un paciente humano con la intención de corregir un defecto genético específico o, también, como la técnica terapéutica mediante la cual se inserta un gen funcional en las células de un paciente humano para corregir un defecto genético o para dotar a las células de una nueva función. Existen dos tipos: TG somática y TG germinal, según sean las células en las que se aplica. Las técnicas de aplicación pueden ser realizadas *ex vivo*, *in vivo* o *in situ*. Los métodos utilizados pueden ser:

- Inserción génica: se introduce al azar en el genoma de las células una nueva versión normal del gen defectuoso sin modificar éste.
- Sustitución génica: el gen defectuoso es sustituido por su versión normal mediante recombinación homóloga.
- Modificación génica: el gen defectuoso es normalizado por mutagénesis dirigida o por *edición genómica*. En el presente trabajo únicamente se hará referencia a la edición genómica utilizando la técnica CRISPR-Cas9.

<sup>10</sup> Basado en Lacadena, J. R. (2002). Terapia génica humana. En *Genética y Bioética*. Col. Cátedra de Bioética. Madrid – Bilbao: U. Pontificia Comillas, Editorial Desclée de Brouwer, S.A.



#### 4.1. Consideraciones éticas respecto a la terapia génica

Desde el punto de vista ético se pueden hacer las siguientes consideraciones:

- La TG sólo debería ser aplicada para tratar pacientes con determinadas enfermedades genéticas raras y no como instrumento de un programa social eugenésico que tratara de mejorar el acervo génico humano. La TG, por tanto, no incluye la estimulación genética de características tales como el comportamiento, la inteligencia o el aspecto físico.
- La TG sólo se debería intentar cuando no hay otras alternativas terapéuticas o cuando, habiéndolas, suponen un mayor riesgo o una menor acción beneficiosa.

La intención de la TG es corregir defectos genéticos desde un punto de vista terapéutico. Por tanto, ¿cuál sería la valoración ética del uso de una TG cuyo fin fuera estimular o perfeccionar fenotipos normales?

- La aplicación de la TG a una enfermedad humana debería requerir la evidencia de que es segura, beneficiosa, técnicamente posible y éticamente aceptable.
- La TG de células somáticas para el tratamiento de enfermedades graves puede considerarse ética porque puede ser apoyada por los principios fundamentales de autonomía, beneficencia y justicia.
- El tratamiento de células somáticas por medio de la TG no presenta problemas éticos diferentes a los de cualquier otro tipo de terapia experimental tales como la utilización de nuevos fármacos o de técnicas quirúrgicas novedosas.
- Como se indicaba anteriormente, la intención de la TG es corregir defectos genéticos desde un punto de vista terapéutico. Por tanto, ¿cuál sería la valoración ética del uso de una TG cuyo fin no fuera terapéutico sino el de estimular o perfeccionar fenotipos normales? Algunos autores consideran que esta ingeniería perfectiva (*enhancement engineering*) podría tener connotaciones eugenésicas. Esta situación podría tener que ver con el transhumanismo.
- Una variante de la ingeniería perfectiva sería intentar alterar o mejorar caracteres humanos complejos tales como la personalidad, la inteligencia, etc. que resultan de la interacción de muchos genes y de circunstancias ambientales (*ingeniería genética eugenésica*). Aunque por tratarse de caracteres poligénicos no hay posibilidad real de aplicar una terapia génica, no está de más dejar constancia de la valoración ética negativa de tal ingeniería genética eugenésica.
- Así como la TG somática ha sido ampliamente aceptada por la comunidad científica y positivamente valorada desde el punto de vista ético, la *terapia génica germinal* se enfrenta, por un lado, con obstáculos técnicos y, por otro, con disparidad de criterios respecto a su valoración ética. El papel potencial de la manipulación de la línea germinal para la prevención de enfermedades genéticas es mucho menos claro que el de la modificación somática.
- ¿Implicaría algún problema ético la transferencia de genes no humanos? ¿Sería equiparable a la introducción de elementos u órganos animales en pacientes humanos?



## 5. Utilización de la técnica CRISPR-Cas 9 en la terapia génica

### 5.1. Terapia génica germinal

En la comunidad científica se ha abierto un debate en contra de la utilización de la técnica CRISPR-Cas9 para modificar la línea germinal en humanos.

Podría realizarse editando el genoma en células de la línea germinal, ya fueran los gametos o sus células precursoras. En el caso de que se utilizara la técnica en embriones (por ejemplo, mediante microinyección de un pronúcleo del cigoto o del embrión en los primeros estadios celulares), la modificación genómica implicaría tanto una TG germinal como una TG somática. En la comunidad científica se ha abierto un debate en contra de la utilización de la técnica CRISPR-Cas9 para modificar (editar) la línea germinal en humanos<sup>11</sup>.

### 5.2. Declaraciones institucionales internacionales y legislación española relativa a la TG germinal

En la actualidad hay un consenso muy mayoritario en contra de la TG germinal, tanto desde el punto de vista bioético como desde el punto de vista legal, tal como se indica a continuación:

- La *Declaración Universal de la UNESCO sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos* (1997) en su artículo 24 invita al Comité Internacional de Bioética de la UNESCO “a la identificación de prácticas que pueden ir en contra de la dignidad humana, como las intervenciones en la línea germinal”, en clara alusión, sin duda, a la TG germinal.
- El *Convenio relativo a los Derechos Humanos y la Biomedicina* (Convenio Europeo de Bioética o Convenio de Oviedo) de 1997 establece en su artículo 13 que “no podrá realizarse intervención alguna sobre el genoma humano si no es con fines preventivos, diagnósticos o terapéuticos y a condición de que no tenga por objetivo modificar el genoma de la descendencia”. Por tanto, queda prohibida la TG germinal.
- En la *Directiva 98/44/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas* aprobada el 6 de julio de 1998, se consideran no patentables los “procedimientos de modificación de la identidad genética germinal del ser humano” (Art. 6.2.b) por considerar su explotación “contraria al orden público o a la moralidad” (Art. 6.1).
- La *Directiva 98/44/CE es incorporada al Derecho español por la Ley 10/2002, de 29 de abril, por la que modifica la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes*, que en su artículo 5 dice que “no podrán ser objeto de patente: 1. Las invenciones cuya explotación comercial sea contraria al orden público o las buenas costumbres. En particular... b) Los procedimientos de modificación de la identidad genética germinal del ser humano”, lo cual incluye a la TG germinal.

11 Lanphier, E., Urnof, F., Haecker, S. E., Werner, M., Smolenski, J. (2015). Don't edit the human germ line. *Nature*, 519, 410-411.



- La Ley 24/2015, de 24 de julio, de Patentes, que entrará en vigor el 1 de abril de 2017, mantiene la literalidad del texto.
- La Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida, dice en su artículo 13. *Técnicas terapéuticas en el preembrión*. 1. "Cualquier intervención con fines terapéuticos sobre el preembrión vivo *in vitro* sólo podrá tener la finalidad de tratar una enfermedad o impedir su transmisión, con garantías razonables y contrastadas. 2. La terapia que se realice en preembriones *in vitro* sólo se autorizará si se cumplen los siguientes requisitos: ... c) Que no se modifiquen los caracteres hereditarios no patológicos ni se busque la selección de los individuos o de la raza." Prohibición de la ingeniería perfecta y eugenésica. ¿Cómo se puede garantizar que la TG realizada es sólo de tipo somático sin afectar a la línea germinal (TG germinal) si la manipulación se realiza en estadio embrionario preimplantatorio?
- Los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos (National Institutes of Health, NIH), a través de su director Francis Collins, reiteran la prohibición de editar embriones humanos con fondos públicos (29/04/2015).
- El International Bioethics Committee (IBC) de la UNESCO ha hecho un llamamiento para que se promueva una moratoria de la utilización de la técnica CRISPR-Cas9 para modificar la línea germinal humana.

### 5.3. Terapia génica somática

Tanto si se trata de TG somática como TG germinal, habrá que tener en cuenta el riesgo de que la "edición" se produzca en otro lugar del ADN.

En principio, la utilización de la técnica CRISPR-Cas9 podría resultar efectiva en experimentos de TG somática y no plantearía problemas éticos adicionales. En cualquier caso, tanto si se trata de TG somática como TG germinal, habrá que tener en cuenta el riesgo de que se produzcan efectos "fuera de diana u objetivo" (*off-target*); es decir, que la "edición" se produzca en otro lugar del ADN.

Ya se han iniciado algunas investigaciones en modelos animales: por ejemplo, ratones con la mutación que produce la distrofia muscular de Duchenne han sido "editados" y corregida en parte su enfermedad<sup>12</sup>. Ya se han solicitado patentes para la aplicación de la edición génica en la investigación de enfermedades musculares.

12 Long, C., McAnally, J. R., Shelton, J. M., Mireault, A. A., Bassel-Duby, R., Olson, E. N. (2014). Prevention of muscular dystrophy in mice by CRISPR/Cas9-mediated editing germline DNA. *Science*, 345, 1184-1188.  
 Nelson, C. E., Hakim, C. H., Ousterout, D. G.; Thakore, P. I., Moreb, E. A., Castellanos Rivera, R. M., Madhavan, S., Pan, X., Ran, F. A., Yan, W. X., Asokan, A., Zhang, F.; Duasn, D., Gersbach, C. A. (2015). In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science (on line)* 31 december.  
 Tabebordbar, M., Zhu, K., Cheng, J. K. W., Chew, W. L., Widrick, J. J., Yan, W. X., Maesner, C.; Wu, E. Y.; Xino, R., Ran, F. A., Cong, L., Zhang, F., Vandenberghe, L. H., Church, G. M., Wagers, A. J. (2015). In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. *Science (on line)* 31 december.



La era CRISPR-Cas9 ha llegado para establecerse en la Genética Humana.

Es digna de mención la investigación sobre la posible aplicación del sistema CRISPR-Cas9 para corregir el defecto genético que produce un tipo de inmunodeficiencia combinada severa (SCID)<sup>13</sup>. Utilizando células troncales pluripotentes inducidas (iPSC) de un paciente con SCID, se logró corregir (editar) la mutación en el gen JAK3 (*Janus family kinase*) causante de la enfermedad. Además, no había modificaciones fuera de la diana génica (*off-target*). Este tipo de investigación es el fundamento para una posible TG somática en pacientes con inmunodeficiencia.

También se ha utilizado la técnica CRISPR-Cas9 para inactivar 62 retrovirus endógenos de ganado porcino dentro de un programa de investigación en xenotrasplantes<sup>14</sup>. Estos son los primeros datos que confirman que la era CRISPR-Cas9 ha llegado para establecerse en la Genética Humana.

## 6. Edición genómica en embriones humanos

Aunque no se trata de un experimento de terapia génica en sentido estricto, en la actualidad se ha realizado ya una investigación previa utilizando cigotos humanos producidos por fecundación *in vitro*. Investigadores de la Universidad Sun Yat-sen en China<sup>15</sup>, han utilizado la técnica CRISPR-Cas9 en embriones humanos triploides (cigotos tripnucleares de origen dispérmico, doble fecundación) obtenidos por FIV que ocurren con una frecuencia del 2 al 5%. Algunos defienden su utilización porque los consideran inviábiles, incapaces de desarrollarse como seres humanos. Aunque la condición triploide se considera incompatible con la vida humana, sin embargo, es importante señalar que hay numerosos casos de fetos triploides que han llegado a término en el embarazo y sobrevivido al nacimiento durante horas, días, semanas, meses hasta, incluso, cerca de un año (312 días)<sup>16</sup>.

En el trabajo mencionado, ovocitos maduros fueron inseminados en un medio de fertilización tras cuatro horas de recuperación mediante la técnica convencional de FIV. La selección de cigotos anormales que presentaban tres pronúcleos se hizo a las 16-19 horas después de la inseminación. Los cigotos tripnucleares fueron criopreservados mediante vitrificación y almacenados en nitrógeno líquido hasta su utilización.

Los autores analizan la eficacia de CRISPR-Cas9 en la edición genómica de células humanas utilizando el gen de la beta-globina. La eficacia de la rotura del gen es alta, pero

13 Chang, C. W., Lai, Y. S., Westin, E., Khodadadi-Jamayran, A., Pawlik, K. M., Lamb Jr, L. S., Goldman, F. D., Townes, T. M. (2015). Modeling human severe combined immunodeficiency and correction by CRISPR/Cas9-enhanced gene targeting. *Cell Reports*, 12, 1668-1677.

14 Yang, L., Güell, M., Niv, D., George, H., Lesha, E., Grishin, D., Aach, J., Shrock, E., Xu, W., Poci, J., Cartacio, R., Wilkinson, R. A., Fishman, J. A., Church, G. (2015). Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science*, 350, 1101-1104.

15 Liang, P., Xu, Y., Zhang, X., Ding, C., Huang, R., Zhang, Z., Lv, J., Xie, X., Chen, Y., Li, Y., Sun, Y., Bai, Y., Songyang, Z., Ma, W., Zhou, C., Huang, J. (2015). CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripnuclear zygotes. *Protein Cell*, 6, 363-372.

16 Shjerar, J., Bean, C., Bove, B., Deldeuca, V., Esterly, K. L., Karsch, H. J., Munshi, G., Reamer, J. F., Suazo, G., Wilmoth, D. (1986). Long survival in a 69, XXY triploid male. *Amer.J.Med.Gen.*, 2 (25) 307.



la eficiencia de la reparación mediante recombinación homóloga es baja y los embriones editados resultan mosaicos. También se producen con cierta frecuencia roturas fuera de la diana (*off-target*). Al final de su trabajo, los autores concluyen que “nuestro trabajo pone de manifiesto la necesidad apremiante de mejorar la fidelidad y especificidad del método CRISPR-Cas9 como requisito previo para cualquier aplicación clínica de la edición genómica.”

El 1 de febrero de 2016, la *Human Fertilization and Embryology Authority* (HFEA) del Reino Unido autorizó la edición genética de embriones humanos mediante la técnica CRISPR-Cas9 solamente con fines de investigación.

Aquí puede recordarse la investigación realizada por Hall, Stillman y colaboradores en 1993 utilizando 17 embriones humanos triploides de 2, 4 y 8 células para estudiar la gemelación<sup>17</sup>. En esta ocasión los autores, ante las protestas surgidas en la comunidad científica y la sociedad por la utilización de embriones humanos, se defendían diciendo que ellos solamente pretendían alertar a la sociedad de los peligros de cierto tipo de investigaciones. Sin comentarios.

Es digno de mencionar que, el 1 de febrero de 2016, la *Human Fertilization and Embryology Authority* (HFEA) del Reino Unido autorizó a la investigadora Kathy Niakan, del Instituto Francis Crick de Londres, la edición genética de embriones humanos mediante la técnica CRISPR-Cas9 solamente con fines de investigación (no reproductivos) y bajo la supervisión de un comité de Bioética. La investigación se hará sobre el papel que juegan cuatro genes concretos en los primeros siete días de desarrollo del embrión humano. Se utilizarán 120 embriones, 30 para el estudio de cada gen. Hay que señalar que el Reino Unido no ha firmado el Convenio Europeo de Bioética (Convenio de Oviedo) de 1997 y por tanto no está sometido a ciertas prohibiciones de investigación con embriones humanos.

## 7. Dos hitos en la historia ética de la Ciencia genética

### 7.1. Las moléculas de ADN recombinante y la Conferencia de Asilomar, California (1975)

Un grupo de científicos pioneros en la entonces nueva tecnología molecular encabezados por el Premio Nobel Paul Berg y entre los que había otros Premios Nobel (Baltimore, Nathans y Watson) publicaron en julio de 1974, simultáneamente en tres revistas del máximo prestigio científico internacional (*Nature*, *Science* y *Proceedings of the National Academy of Sciences*), el siguiente manifiesto:

[...] Los abajo firmantes, miembros de una comisión que actúa en nombre y bajo el patrocinio de la *Assembly of Life Sciences of the National Research Council* de los Estados Unidos, proponemos las siguientes recomendaciones:

17 Hall, J. L., Engel, D., Gindoff, P. R., Mottla, G. L., Stillman, R. J. (1993). Experimental cloning of human polyploidy embryos using an artificial zona pellucida. *Conjoint Meeting of the American Fertility Society and the Canadian Fertility and Andrology Society, Montreal, 11-14 October 1993*, abstract O-001



La primera, y más importante, es que hasta que el riesgo potencial de las *moléculas de ADN recombinante* haya sido mejor evaluado, o hasta que se desarrollen los métodos adecuados que impidan su diseminación, los científicos de todo el mundo deben unirse a este comité aplazando voluntariamente los siguientes tipos de experimentos [...]

Una cuarta y última recomendación se refería a la conveniencia de realizar una reunión científica para “revisar el progreso científico en esta área de investigación y discutir después los medios apropiados para tratar el riesgo biológico potencial de las moléculas de ADN recombinante”. Esta reunión, denominada *Asilomar Conference on DNA Recombinant Molecules*, se celebró del 24 al 27 de febrero de 1975.

Esta moratoria voluntaria propuesta por los propios científicos representa un caso pionero en la historia de la ética de la ciencia.

Esta moratoria voluntaria propuesta por los propios científicos representa un caso pionero en la historia de la ética de la ciencia. Si los científicos implicados en el Proyecto Manhattan, que terminó con la construcción de la bomba atómica, hubieran tenido su “conferencia de Asilomar”, no se habrían producido la destrucción y muertes de Hiroshima y Nagasaki.

Muchos años después ha vuelto a repetirse una situación equivalente con la técnica CRISPR-Cas9, tal como se indica a continuación.

## 7.2. La técnica CRISPR-Cas9 y el IGI Forum on Bioethics, Napa, California (2015)<sup>18</sup>

El 24 de enero de 2015 tuvo lugar en Napa, California, un foro organizado por *Innovative Genomics Initiative* de la Universidad de California (campus de Berkeley y San Francisco) para discutir las implicaciones científicas, médicas, legales y éticas de la tecnología de ingeniería genómica aplicada a la modificación de genomas humanos y no humanos. En el primer caso para curar enfermedades humanas, en el segundo caso para remodelar la biosfera en beneficio del medio ambiente y la sociedad. Es digno de mencionar que entre los organizadores del foro está Paul Berg que encabezaba la lista de firmantes en 1974 del manifiesto sobre las moléculas de ADN recombinante.

Un conjunto de tecnologías derivadas de la técnica CRISPR-Cas9 está revolucionando el campo de las investigaciones en genética y biología molecular, empleando estas tecnologías para cambiar las secuencias de ADN mediante la introducción o corrección de mutaciones genéticas en una amplia variedad de células y organismos.

El foro de Napa centró sus reflexiones en la modificación del ADN nuclear de las células germinales, estableciendo las siguientes recomendaciones:

18 Baltimore, D., Berg, P., Botchan, M., Carroll, D., Charo, R. A., Church, G., Coprn, J. E., Daley, G. Q., Doudna, J. A., Fenner, M., Greely, H. T., Jinek, M.; Martin, G. S., Penhoet, E., Puck, J., Sternberg, S. H., Wissman, J. S., Yamamoto, K. R. (2015). A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science*, 348, 36-38.



1. Desaconsejar fuertemente cualquier intento de modificación genómica de la línea germinal en investigación clínica humana hasta que las implicaciones sociales, ambientales y éticas de tal actividad sean discutidas entre las organizaciones científicas y gubernamentales. Esto permitirá identificar los usos responsables de esta tecnología, si los hubiera.
2. Crear foros en los que expertos de las comunidades científica y bioética puedan proporcionar información y educación sobre esta nueva era de la biología humana y los riesgos y recompensas del uso de tan poderosa tecnología en una amplia variedad de casos, incluyendo la curación de enfermedades, así como las implicaciones éticas, sociales y legales de la modificación genómica.
3. Estimular y apoyar una investigación transparente para evaluar la eficacia y especificidad de la tecnología de ingeniería genómica CRISPR-Cas9 en humanos y en sistemas de modelos no-humanos en relación con las posibles aplicaciones en la terapia génica germinal. Tal investigación es esencial para informar las deliberaciones sobre qué aplicaciones clínicas, si las hubiere, pudieran ser consideradas permisibles en el futuro.
4. Convocar un grupo globalmente representativo de promotores y usuarios de la tecnología de ingeniería genómica y de expertos en Genética, Derecho y Bioética, así como miembros de la comunidad científica, agencias gubernamentales afines y grupos interesados para una ulterior consideración de estos importantes temas y, donde fuera apropiado, recomendar las pautas a seguir.

Finalmente, el foro establece las siguientes conclusiones:

En el nacimiento de la era del ADN recombinante, la lección aprendida más importante fue que la confianza pública en la ciencia empieza con y requiere la continuidad de la transparencia y la discusión abierta. La lección está amplificada hoy con la emergencia de la tecnología CRISPR-Cas9 y las perspectivas inminentes para la ingeniería genómica. El inicio ahora de estas discusiones fascinantes y estimulantes optimizará las decisiones que la sociedad tomará en el advenimiento de una nueva era en la Biología y la Genética.

En este contexto habría que añadir una importante diferencia entre la situación en que se produjo la Conferencia de Asilomar en 1975 sobre las moléculas de ADN recombinante y el Foro de Napa sobre la técnica CRISPR-Cas9 en 2015: en el primer caso el acceso a la nueva técnica estaba restringida a unos pocos científicos y laboratorios de investigación mientras que en el segundo caso la técnica se ha hecho accesible a numerosos científicos y laboratorios de todo el mundo, haciendo muy difícil su control.

Termino este escrito recogiendo lo que dijo en 1967 Marshall W. Nirenberg<sup>19</sup>, codescubridor de la clave del código genético junto con Khorana y Ochoa al principio de la década de los sesenta y más tarde premio Nobel en 1968:

---

19 Nirenberg, M. W. (1967). Will society be prepared? *Science*, 157, 425-633.



[...] el hombre puede ser capaz de programar sus propias células con información sintética mucho antes de que pueda valorar adecuadamente las consecuencias a largo plazo de tales alteraciones, mucho antes de que sea capaz de formular metas y mucho antes de que pueda resolver los problemas éticos y morales que surgirán. Cuando el hombre llegue a ser capaz de dar instrucciones a sus propias células deberá contenerse de hacerlo hasta que tenga la clarividencia suficiente para usar su conocimiento en beneficio de la humanidad.