

EDICIÓ DEL GENOMA MITJANÇANT CRISPR/Cas 9

R. Vassena¹, A. Veiga^{2,3}

¹ Clínica EUGIN, Barcelona, Espanya

² Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMR[B]), Barcelona, Espanya

³ Servei de Medicina de la Reproducció de l'Hospital Universitari Quirón-Dexeus.
Barcelona, Espanya.

INTRODUCCIÓ

L'edició genòmica es un tipus d'engniera genètica en la que el DNA es insertat, eliminat o reemplaçat en el genoma d'un organisme utilitzant enzims específics (nucleases) o "tissors moleculars". El desenvolupament de noves eines d'edició d'ADN molt eficients , com ara el sistema de CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) / Cas9 permet l'edició de gens de forma ràpida , barata i precisa. CRISPR es una plataforma d'edició genòmica que utilitza una proteïna d'origen bacterià (Cas 9) i una guia de RNA que permet la integració i la integració en un lloc específic del genoma amb l'ajuda de la recombinació homòloga de les cèl·lules. (Thomas et al. 1986; Thomas i Capecchi 1986)..

Fins fa poc , l'edició de l'ADN no ha estat disponible per a modificar la línia germinal i les cèl·lules embrionàries humanes. La possibilitat actual de crear canvis permanents en l'ADN de gàmetes i embrions ha estat rebuda per la comunitat científica de diverses maneres , que van des d'una crida a la prohibició de la modificació de la línia germinal humana a l'aprovació cautelosa de la recerca en aquesta àrea.. Entretant , han aparegut les primeres publicacions d'intents de l'edició de gens en embrions humans (Liang et al. 2015) , (Kang et al , 2016) , encenent encara més el debat.

Edició del genoma en reproducció assistida

Es poden preveure determinats usos de la tecnologia de CRISPR / Cas9 en reproducció assistida:

1) Correcció de mutacions que causen malalties monogèniques com la fibrosi quística o la malaltia de cèl·lules falciformes, en els casos poc freqüents en què ambdós progenitors es veuen afectats per la mateixa malaltia i desitgen tenir un nen sa amb el seu material genètic. En aquests casos, seria suficient corregir els gens afectats en la línia germinal d'un dels futurs pares, i així tots els fills d'aquesta parella serien únicament portadors sans.

2) Correcció de mutacions en casos en que els pacients són homozigots per a una malaltia autosòmica dominant com la malaltia de Huntington. En aquests casos, els pacients que tenen els dos al·lels mutats presenten una afectació més severa que els que tenen un sol al·lel, encara que tinguin la mateixa edat d'inici.

3) Correcció d'aberracions cromosòmiques. La translocació Robertsoniana 21; 21 és un exemple clàssic d'una aberració cromosòmica present en portadors sans que condueix a la trisomia 21 (síndrome de Down) en cada concepció. utilitzaren aquest cas, CRISPR / Cas9 serviria per separar els dos cromosomes units.

4) La correcció dels gens mutats que causen infertilitat dels que només se'n coneixen uns pocs casos.

5) Correcció de mutacions en l'ADN mitocondrial (mtDNA) present en l'oòcit. La idea consistiria en la utilització de l'edició genòmica per eliminar selectivament molècules d'ADN mitocondrial amb determinades mutacions, en l'oòcit o el zigot (Reddy et al. 2015).

Actualment la metodologia CRISPR /Cas 9 presenta una sèrie de problemes tècnics com son les modificacions del genoma en llocs fora de la diana plantejada (off target mutations) i, en el cas dels embrions, l'aparició de modificacions diferents en les diferents cèl·lules de l'embrió o mosaicisme. L'eficiència de la

tècnica es també un aspecte important a tenir en compte abans de plantejar la seva futura utilització clínica.

Consideracions ètiques

Es poden distingir tres categories de beneficis de l'edició genòmica:

en primer lloc, l'augment del coneixement i la comprensió dels processos de desenvolupament i el funcionament de gens associats a aquest procés; en segon lloc, la correcció de malalties en la descendència i en tercer lloc, la correcció dels defectes que causen la infertilitat en els futurs pares. Com a tal, l'edició genòmica pot augmentar l'autonomia reproductiva de les persones (Sugarman 2015).

L'argument principal en contra de l'edició de gens en embrions i gàmetes és que implica modificar els gens de la línia germinal. En molts països i a través de diferents convencions internacionals, la modificació de la línia germinal està prohibida (Araki i Ishii 2014). Connectat a l'objecció de la modificació de la línia germinal hi ha una sèrie d'aspectes de menor importància com, per exemple, que aquestes modificacions es realitzen sense el consentiment de les generacions futures (Collins 2015). No obstant, això és cert per a qualsevol intervenció que afecta les generacions futures, incloent la concepció mateixa.

Cal destacar la preocupació per la seguretat dels futurs nens. Hi ha unanimitat entre la comunitat científica en què l'aplicació de l'edició genòmica per modificar la línia germinal en les cèl·lules germinals o embrions destinats a la reproducció actualment és prematura i inacceptable, tenint en compte els problemes tècnics associats a la tècnica. La innovació responsable i la introducció de noves tècniques tenen especial rellevància en el context de les tècniques de reproducció assistida (ART) (Dondorp i de Wert, 2011). La Societat Americana de Teràpia

Gènica i Cel·lular i la Societat Japonesa de Teràpia Genètica van concloure que la modificació de la línia germinal en els éssers humans és inacceptable perquè els resultats d'aquests experiments no són susceptibles a una avaluació a llarg termini en una escala de temps científicament raonable "(Friedmann et al . 2015).

A part de la modificació de la línia germinal en si, la investigació amb embrions també ha plantejat nombroses preguntes. Es podria argumentar que és massa d'hora per començar la investigació sobre embrions humans a causa del coneixement limitat de la tècnica en l'actualitat (Kaiser i Normile 2015). D'altra banda, es possible que sigui també necessària la creació d'embrions per a la investigació en determinats casos. L'avaluació final de les tècniques d'edició genòmica per evitar malalties en la futura generació dependrà, almenys parcialment, de la comparació que es faci amb altres tècniques, com la donació de gàmetes i el diagnòstic genètic preimplantacional. Segons alguns, hi ha poques indicacions mèdiques per les que es justifiqui l'edició de gens d'embrions, precisament degut a l'existència d'alternatives (Collins 2015;. Lanphier et al. 2015). S'ha de tenir en compte que l'edició genòmica pot augmentar el risc per a la salut de la futura descendència en comparació amb les alternatives existents. Per tant, l'edició de gens seria principalment una opció en els rars casos en que el DGP no és possible (Lander 2015). Basat en les consideracions esmentades, es proposa que l'aplicació de les tècniques d'edició genòmica que poden afectar la descendència futura haurien de ser analitzades per un comitè d'experts amb els coneixements científics, bioètics i de regulació necessaris per tal de dur-ne a terme una avaluació adequada. Un exemple d'un procés d'aquest tipus és la recent revisió i aprovació per part de la Human

Fertilisation and Embryology Authority del Regne Unit (HFEA) d'un projecte presentat per un grup de recerca de l'Institut Francis Crick per dur a terme experiments que impliquen l'edició CRISPR / Cas9 en embrions preimplantacionals humans.

CONCLUSIONS

La nova tecnologia d'edició genòmica CRISPR/Cas9 es una tècnica que permet la modificació del genoma de forma mes simple, mes eficient i menys costosa que les tècniques anteriorment descrites. Aquest fet possibilita la modificació de la línia germinal humana, ja sigui a través dels gàmetes, els precursors de gàmetes, els embrions o per mitjà de cèl·lules mare pluripotents,. Abans de que la tecnologia CRISPR/Cas9) pugui ser traslladada a la clínica, s'hauran de resoldre els problemes tècnics actuals. La superació d'aquestes limitacions dependrà de poder dur a terme una recerca que permeti optimitzar la metodologia actual i obtenir resultats satisfactoris i reproduïbles. La investigació ha de ser transparent i àmpliament difosa i una moratòria o prohibició total d'aquest tipus de recerca no representa millor curs d'acció per tal d'avaluar les possibilitats reals d'aquesta tècnica. Una vegada s'hagin resolt les qüestions tècniques esmentades, l'edició de la línia germinal humana per impedir el naixement d'un individu afectat han de considerar-se només quan els mètodes actuals que no impliquen la manipulació del genoma, com ara el DGP, no siguin possibles.

REFERENCIES

Araki M and Ishii T. International regulatory landscape and integration of corrective genome editing into in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol* 2014: **12**; 108.

- Collins FS. Statement on NIH funding of research using gene-editing technologies in human embryos. *National Institutes of Health* 2015.
- Dondorp W and de Wert G. Innovative reproductive technologies: risks and responsibilities. *Hum Reprod* 2011: **26**; 1604-1608.
- Friedmann T, Jonlin EC, King NM, Torbett BE, Wivel NA, Kaneda Y, and Sadelain M. ASGCT and JSGT Joint Position Statement on Human Genomic Editing. *Mol Ther* 2015: **23**; 1282.
- Kaiser J and Normile D. Bioethics. Embryo engineering study splits scientific community. *Science* 2015: **348**; 486-487.
- Lander ES. Brave New Genome. *N Engl J Med* 2015: **373**; 5-8.
- Lanphier E, Urnov F, Haecker SE, Werner M, and Smolenski J. Don't edit the human germ line. *Nature* 2015: **519**; 410-411.
- 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 CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell*. 2015: **6**; 363-72.
- Reddy P, Ocampo A, Suzuki K, Luo J, Bacman SR, Williams SL, Sugawara A, Okamura D, Tsunekawa Y, Wu J, Lam D, Xiong X, Montserrat N, Esteban CR, Liu GH, Sancho-Martinez I, Manau D, Civico S, Cardellach F, Del Mar O'Callaghan M, Campistol J, Zhao H, Campistol JM, Moraes CT, Izpisua Belmonte JC. Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell*. 2015; 161:459-69.
- Sugarman J. Ethics and germline gene editing. *EMBO Rep* 2015: **16**; 879-880.
- Thomas KR and Capecchi MR. Introduction of homologous DNA sequences into mammalian cells induces mutations in the cognate gene. *Nature* 1986: **324**; 34-38.
- Thomas KR, Folger KR, and Capecchi MR. High frequency targeting of genes to specific sites in the mammalian genome. *Cell* 1986: **44**; 419-428.
- Kang X, He W, Huang Y, Yu Q, Chen Y, Gao X, Sun X, Fan Y. Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing. *J Assist Reprod Genet*. 2016: **33**:581-8.