

10

## Terapia génica en línea germinal: Aspectos científicos y éticos

*Juan A. Bueren y Diego Gracia*

## CONTENIDO

Resumen .....	149
1. Avances y limitaciones de las aproximaciones actuales de la terapia génica en línea germinal .....	150
1.1. Modalidades de terapia génica .....	150
1.2. Edición génica: Aplicaciones para el tratamiento de enfermedades hereditarias y adquiridas .....	152
1.3. Características de las principales nucleasas de diseño para su utilización en terapia génica dirigida en células somáticas y germinales .....	154
1.4. Estado actual y perspectivas futuras de la edición génica en línea germinal....	155
1.5. Entre la técnica y la ética .....	155
2. Aspectos éticos relacionados con la edición génica en línea germinal.....	156
2.1. ¿Jugando a ser Dios? ( <i>PlayingGod</i> ) .....	156
2.2. Ética y genética molecular .....	157
2.3. El caso de la terapia génica germinal .....	157
2.4. Conclusión .....	160

## RESUMEN

Los avances de la genética molecular están teniendo una muy importante repercusión en la manera de contemplar el tratamiento de numerosas enfermedades mediante aproximaciones tales como la terapia génica. Si bien la inmensa mayoría de los ensayos clínicos de terapia génica utiliza estrategias que no permiten dirigir el gen terapéutico en el genoma de las células diana, el desarrollo de nucleasas de diseño está revolucionando el campo de la terapia génica al facilitar la precisa reparación de determinadas mutaciones. Como consecuencia del aumento de la eficacia de estas aproximaciones de edición

génica, recientemente se ha propuesto la posibilidad de su utilización no solo para el tratamiento de células somáticas, sino también para el desarrollo de aproximaciones que afectan a la línea germinal. Puesto que con la tecnología actual no es posible garantizar la ausencia de alteraciones genéticas potencialmente deletéreas, existe un consenso bastante generalizado en considerar, que tanto por cuestiones técnicas como por criterios éticos, las técnicas actuales de edición génica no están suficientemente refinadas como para abordar desde el punto de vista clínico modificaciones del genoma que afecten a la línea germinal.

## 1. AVANCES Y LIMITACIONES DE LAS APROXIMACIONES ACTUALES DE LA TERAPIA GÉNICA EN LÍNEA GERMINAL

### 1.1. Modalidades de terapia génica

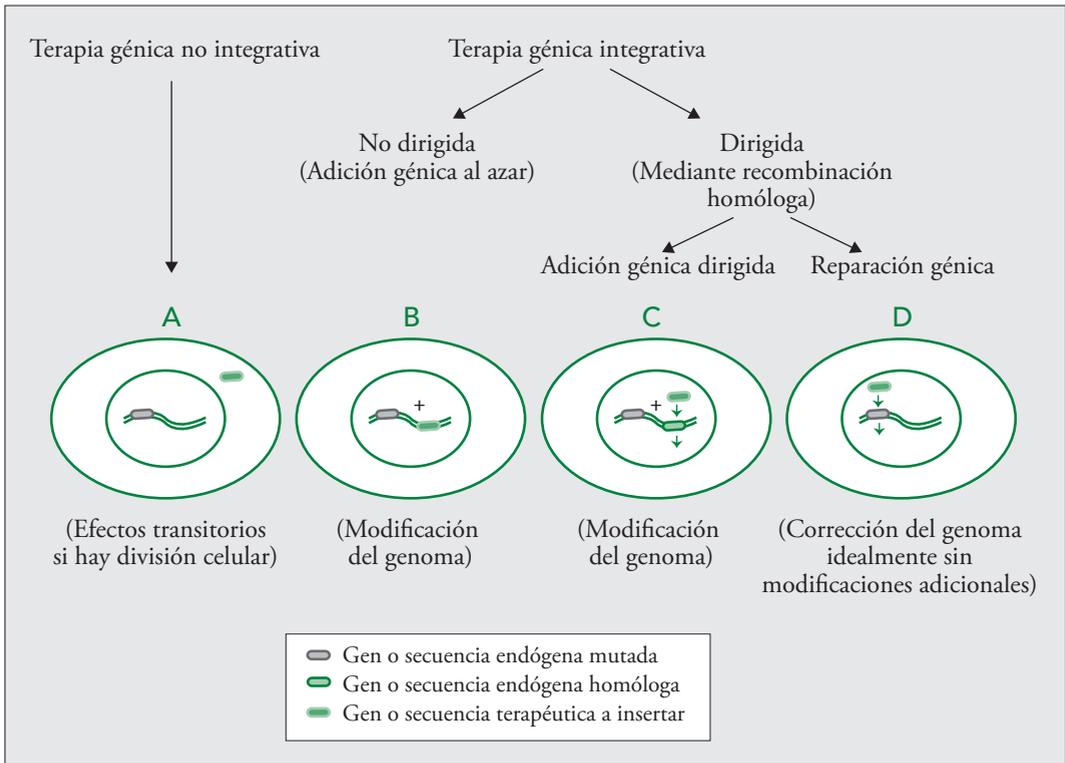
Se entiende por terapia génica el tratamiento de enfermedades hereditarias o adquiridas mediante la transferencia de material genético en células del paciente. Para facilitar la entrada de los genes terapéuticos en las células diana frecuentemente se utilizan virus modificados (vectores virales), aprovechando su muy alta capacidad infectiva. Otras aplicaciones, sin embargo, no requieren la utilización de vectores virales, por lo que se recurre a procedimientos físicos o químicos que faciliten la inserción del vector no viral en la célula.

Desde el punto de vista técnico, la terapia génica puede clasificarse en no integrativa y en terapia génica integrativa (véase figura 1). En el primer caso, los genes no se integrarán en el genoma de la célula tratada (Fig. 1A). Por tanto, si la célula se divide, se producirá una dilución progresiva de las copias del gen terapéutico, por lo que esta tecnología tiene principal aplicación sobre células somáticas con baja tasa de división, o cuando se desee la expresión transitoria del transgén. Entre los vectores no integrativos más frecuentemente utilizados se encuentran los vectores adeno-virales y los adenoasociados, ya usados para el tratamiento de enfermedades tales como la hemofilia o la hiperquilomiconemia.

En el caso de la terapia génica integrativa, la aproximación más eficaz tiene por objeto la inserción no dirigida de los genes terapéuticos en el genoma de la células diana (Fig.

1B). Mediante este tipo de terapia génica ha sido posible el tratamiento de pacientes con enfermedades hereditarias, tales como la inmunodeficiencia combinada severa ligada al X y por déficit en adenosin deaminidasa, el síndrome de Wiscott-Aldrich, la  $\beta$ -talasemia y otras<sup>1</sup>. Para facilitar la integración del gen terapéutico en la célula diana se vienen utilizando vectores de la familia de los retrovirus (gamma-retrovirales y lentivirales). Estos vectores no permiten controlar el sitio de inserción de los genes terapéuticos en el genoma de la célula diana, y determinados vectores gamma-retrovirales de primera generación han generado problemas oncogénesis insercional en algunas patologías tales como la inmunodeficiencia combinada severa ligada al X y el síndrome de Wiscott-Aldrich<sup>2,3</sup>. Afortunadamente, ninguno de los ensayos clínicos que se están desarrollando con vectores lentivirales ha mostrado, por el momento, riesgos de oncogénesis insercional.

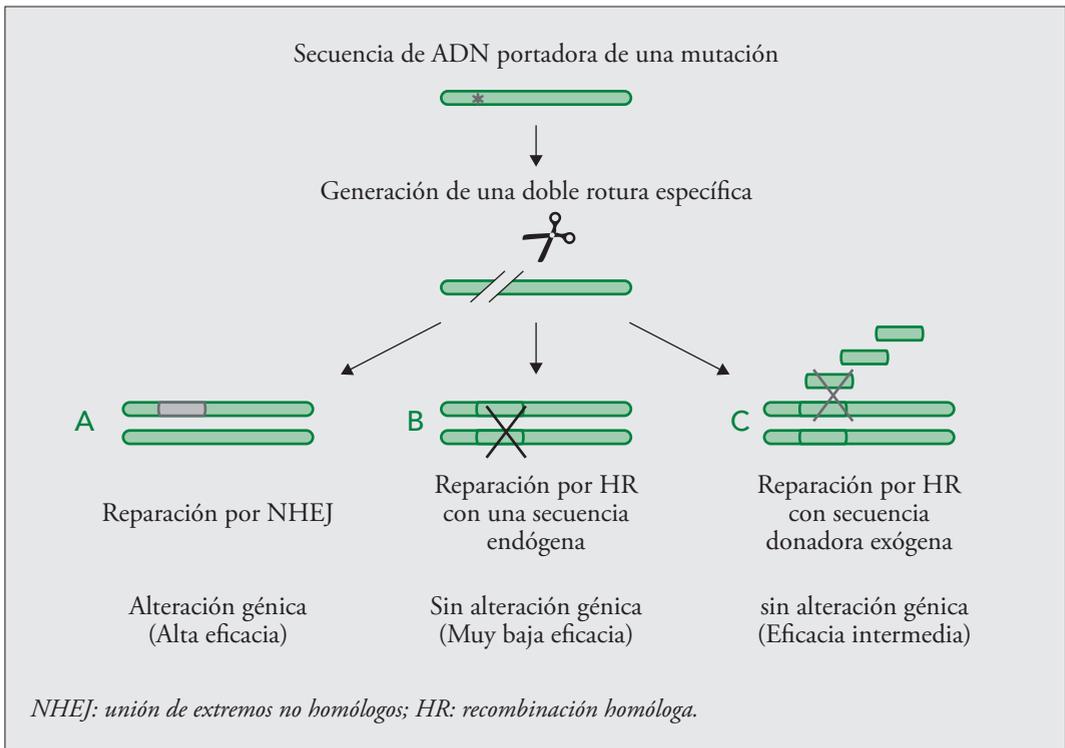
En el caso de la terapia génica dirigida –o edición génica– la secuencia génica a insertar se dirige específicamente a una región determinada del genoma. Con ello se pretende bien la adición de genes o de fragmentos de los mismos en regiones deseadas del genoma (Fig. 1C), o alternativamente la sustitución de genes o de secuencias génicas mutadas por las correspondientes secuencias correctas (Fig. 1D). En este caso se puede conseguir una auténtica reparación génica, en algunas ocasiones sin modificaciones en ninguna otra región del genoma. Esta es la aproximación que se ha propuesto por algunos grupos de investigación para el desarrollo de terapias que afectan a la línea germinal, lo que ha abierto un foro de debate sobre la conveniencia y ética de su práctica en humanos.



**Figura 1.** Modalidades de terapia génica atendiendo al tipo de modificación genética de las células.

A la hora de considerar si las modificaciones genéticas descritas pueden tener lugar sobre el propio paciente tratado y/o sobre su descendencia, resulta crítico precisar el tipo de célula sobre el que se realiza la modificación genética. Mientras que a nivel clínico la inmensa mayoría de los ensayos de terapia génica tiene su fundamento en la terapia no dirigida de células somáticas, el tipo de células modificadas genéticamente en estudios experimentales ha sido mucho más numeroso, incluyendo no solo muy diferentes células somáticas, sino también células madre embrionarias (ES, *Embryonic Stem cell*), células madre pluripotentes inducidas (iPSCs, *induced Pluripotent Stem Cells*), gametos, así como cigotos y embriones.

Con relación a la terapia por edición génica de células ES o iPSCs, esta permite la generación de células somáticas corregidas que tras su diferenciación *in vitro* pueden generar células de muy diferentes linajes para su uso en protocolos de terapia celular somática. Alternativamente, estas células pluripotentes modificadas pueden diferenciarse para generar gametos o implantarse en embriones, en cuyo caso se generarán organismos con células somáticas y también germinales modificadas genéticamente. Por último, tanto gametos como cigotos o embriones de diferentes modelos animales han sido también objeto de diferente tipo de manipulación génica, por lo que no pueden ser excluidos como posibilidades a tener en cuenta en la especie humana.



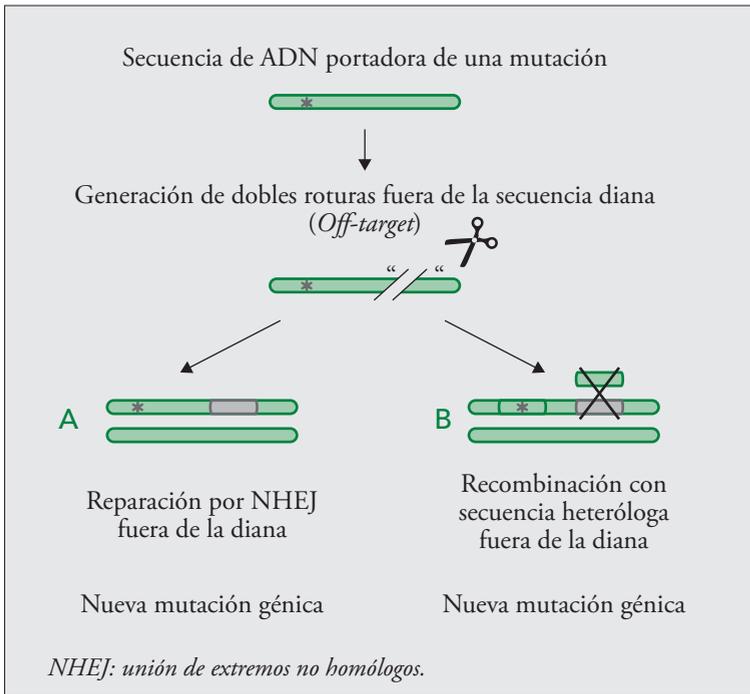
**Figura 2.** Mecanismos básicos utilizados por la célula para la reparación de dobles roturas en el ADN algunos de los cuales facilitan los procesos de edición génica.

## 1.2. Edición génica: Aplicaciones para el tratamiento de enfermedades hereditarias y adquiridas

La mayoría de los procedimientos de terapia génica dirigida están basados en la recombinación homóloga de una secuencia exógena (Donador) con una secuencia endógena que se pretende reemplazar. Aunque en condiciones fisiológicas la eficacia de la recombinación homóloga es muy baja, del orden de 1/100.000, el desarrollo de nucleasas de diseño, capaces de generar dobles roturas en el ADN de manera específica, ha permitido aumentar la eficacia de recombinación homóloga cientos y hasta miles de veces. Este hecho

está suponiendo una nueva era en la aplicación de las técnicas de edición génica para el tratamiento de enfermedades humanas<sup>4</sup>.

En la figura 2 se ilustran esquemáticamente los fenómenos que tienen lugar después de la generación de una doble rotura en el ADN que deberán ser tenidos en cuenta para comprender el mecanismo básico de edición génica. Básicamente, existen dos mecanismos para la reparación de las dobles roturas que puedan generarse tras la acción de una nucleasa de diseño. El mecanismo de reparación de mayor eficacia se conoce como reparación por unión de extremos no homólogos (NHEJ, *Non Homologous End Joining*). Se trata de un mecanismo de baja fidelidad y



**Figura 3.** Eventos adicionales o alternativos a la inserción génica dirigida conducentes a la generación de mutaciones en el genoma de las células diana.

que, por tanto, suele introducir mutaciones en la secuencia sobre la que se ha producido la doble rotura (Fig. 2A). El mecanismo alternativo, de menor eficacia, es la recombinación homóloga (HR, *Homologous Recombination*). A través de este mecanismo, la región que contiene la doble rotura se puede aparear con una secuencia de la cromátida hermana, que le sirve de molde para restaurar la secuencia que existía antes de la generación de la doble rotura. A diferencia de la reparación por NHEJ, la reparación por HR supone un mecanismo fiel de reparación que no suele introducir errores sobre la secuencia diana del ADN (Fig. 2B). Cuando además de la doble rotura se introducen en la célula varias copias de una secuencia donadora –con alta homología frente al gen diana– se puede producir su recombinación con eficacias relativamente altas, de entre el 1-20% (Fig. 2C), lo que

se está explotando para el desarrollo de la terapia por edición génica.

Como eventos adicionales o alternativos a la inserción génica dirigida, pueden tener lugar procesos como los que se recogen en la figura 3 conducentes a la generación de alteraciones en el genoma de las células que se desea editar. Aparte del fenómeno ya explicado de la reparación por NHEJ en la secuencia diana (Fig. 2A), se pueden producir mutaciones por la generación de dobles roturas fuera del sitio deseado (eventos conocidos como *off-target*), debido a la presencia de secuencias genómicas con alta homología con la secuencia diana de la nucleasa. En caso de que se produzca una doble rotura fuera de la diana deseada, su reparación por NHEJ generará, con toda probabilidad, mutaciones por inserciones o deleciones de nucleótidos en esta región (Fig. 3A). Si se

produjera la recombinación homóloga entre la secuencia donadora y la región *off-target* conteniendo la doble rotura (con homología parcial de secuencia), este evento también generaría una mutación fuera del sitio diana seleccionado (Fig. 3B), lo que podría suponer efectos deletéreos para la célula.

A pesar de que la edición génica supondrá un avance muy significativo en la seguridad de la terapia génica, los mecanismos explicados ponen de manifiesto que con la tecnología actual no es posible asegurar que no se producirán mutaciones, ya sea en el sitio diana o fuera del mismo, durante el proceso de reparación de la doble rotura generada por la nucleasa o durante la recombinación con la secuencia donadora. Este hecho debe ser tenido en cuenta a la hora de aplicar esta tecnología para modificar el genoma en línea germinal pues podría suponer la generación efectos deletéreos hereditarios difíciles de prever.

### 1.3. Características de las principales nucleasas de diseño para su utilización en terapia génica dirigida en células somáticas y germinales

Debido a la relevancia de las nucleasas de diseño en terapia génica de edición, se han desarrollado diferentes familias de nucleasas, cada una de las cuales con sus propias ventajas y limitaciones. Las nucleasas de diseño más extendidas actualmente incluyen las nucleasas con dedos de zinc, meganucleasas, nucleasas TALE (*Transcription Activator-Like Effector nucleases*) y endonucleasas dependientes de ARN denominadas CRISPR (*Clustered, Regularly Interspaced, Short Palindromic Repeats*). Todas ellas tienen en común la pre-

sencia de un dominio de reconocimiento del ADN y otro dominio nucleasa con capacidad de generar dobles roturas en la secuencia diana. De entre todas ellas, el sistema basado en CRISPR/Cas9 es el que recientemente se ha planteado para su potencial utilización en terapias de la línea germinal.

Con relación a esta nucleasa, en el año 2013 se demostró por primera vez la posibilidad de realizar edición génica en células eucariotas mediante la expresión heteróloga de la nucleasa Cas9 utilizando como guía un fragmento de ARN, en lugar de una secuencia peptídica (véase revisión en<sup>5</sup>). Este hecho diferencia al sistema CRISPR/Cas9 de otras nucleasas, y le dota de interesantes ventajas. La plataforma CRISPR/Cas9 deriva de un sistema inmune adaptativo de bacterias y arqueas para prevenir infecciones virales e invasiones de elementos de ADN móviles. Los sistemas CRISPR/Cas se han clasificado en 3 tipos. De todos los sistemas descritos, el tipo II es el que ha sido utilizado en la mayor parte de las aplicaciones de terapia génica. Así, los sistemas CRISPR de tipo II permiten proteger contra bacteriófagos, procesando las secuencias extrañas en pequeños fragmentos que se introducen en la construcción CRISPR.

La principal ventaja del sistema CRISPR/Cas9 radica en la facilidad de su diseño y construcción, pues no solo se puede generar a través de una única construcción, sino que también basta la modificación del ARN guía. Este hecho, unido a su eficacia, versatilidad y posibilidad de utilizar diferentes CRISPR/Cas9 en una misma célula, ha supuesto un cambio radical en las perspectivas de realizar edición génica somática y tal vez también en línea germinal.

#### 1.4. Estado actual y perspectivas futuras de la edición génica en línea germinal

Aunque ya están en marcha ensayos clínicos de terapia génica de edición con nucleasas con dedos de zinc<sup>1</sup>, el descubrimiento del sistema CRISPR/Cas9 ha revolucionado el campo de la edición génica por su sencillez, eficacia y bajo coste. La frecuencia de *off-targets* encontrada en células madre pluripotentes humanas<sup>7,8</sup>, o en cigotos de ratón<sup>9,10</sup>, tratados con el sistema CRISPR/Cas9 parece ser muy reducida. Este hecho llevó a investigadores de la Universidad Sun Yat-sen de China a la realización de estudios de edición génica en cigotos polispermicos humanos capaces de generar blastocistos *in vitro*, pero incapaces de desarrollarse *in vivo*<sup>11</sup>.

Mediante el uso de nucleasas CRISPR-Cas9 y una secuencia de ADN con homología para el gen de la  $\beta$ -globina humana, estos autores observaron que en el 52% de los embriones se producía la digestión por la nucleasa, y que en el 14% de estos embriones había tenido lugar el proceso de edición en el gen diana. A pesar de ello, en un 25% de los embriones se habían producido eventos de recombinación con genes endógenos no homólogos. Asimismo, los embriones tratados fueron mosaicos; es decir, contenían células corregidas y también sin corregir, y mostraron numerosas roturas *off-target* en el ADN generadoras de mutaciones fuera del gen diana.

Tal como los propios autores reconocen en su trabajo<sup>11</sup>, los resultados obtenidos en este estudio ponen de manifiesto que las técnicas actuales de edición génica necesitan mejorar sustancialmente antes de que

puedan tener aplicación clínica para su utilización en tratamientos que puedan transmitirse a línea germinal.

#### 1.5. Entre la técnica y la ética

Antes de que sean discutidos en detalle los aspectos éticos derivados de las aproximaciones de la terapia génica que afecten a la línea germinal, hay algunos aspectos técnicos que necesariamente han de tenerse en cuenta a la hora de analizar las implicaciones éticas de las mismas.

Entre estos aspectos destaca el hecho de que cualquier efecto secundario que se pueda producir como consecuencia de una alteración genética que afecte a células germinales afectará no tanto –o no solo– al individuo sometido a dicho tratamiento, sino a su descendencia o a parte de la misma.

Por otra parte, a la hora de evaluar la conveniencia de cualquier intervención terapéutica sobre un paciente, esta siempre se realiza ponderando el beneficio terapéutico sobre el riesgo de generar efectos adversos. Así, en el caso de la terapia génica de pacientes con enfermedades genéticas, los riesgos de oncogénesis insercional asociados a los primeros ensayos clínicos con vectores gamma-retrovirales resultaron ser superiores a los esperados. No obstante, en estos casos resultaba evidente que no existía ninguna otra alternativa de menor riesgo para los pacientes.

Finalmente, a diferencia de lo que ocurre en el caso de la terapia génica somática, –donde lo que se pretende es el tratamiento de los signos clínicos asociados a una determinada patología– en el caso de la terapia génica que afecte a la línea germinal el objetivo es la prevención de la enfermedad en la descendencia del paciente tratado. Como

alternativa a esta aproximación, actualmente se desarrollan las técnicas de diagnóstico genético preimplantacional (DGP), seguido de la selección e implantación en el útero materno de las células embrionarias sanas. Esto permite prevenir la generación de alteraciones genéticas hereditarias mediante la selección de los embriones que no portan las alteraciones génicas asociadas a la patología.

## 2. ASPECTOS ÉTICOS RELACIONADOS CON LA EDICIÓN GÉNICA EN LÍNEA GERMINAL

### 2.1. ¿Jugando a ser Dios? (*Playing God?*)

Cuando, a comienzos de los años setenta, los biólogos moleculares pusieron a punto la técnica del ADN recombinante, por un momento les surgió la duda de si no estarían en una situación parecida a la de los físicos que intervinieron en el “proyecto Manhattan” que puso a punto la bomba atómica. El biólogo Robert Pollack, dijo entonces: “Estamos en una situación como la anterior a la de Hiroshima. Sería un desastre si uno de los agentes que ahora estamos manejando en investigación fuera canceroso para el ser humano”<sup>12</sup>. Por primera vez en la historia de la humanidad, podía manipularse el código de la vida. Y surgió de nuevo la pregunta: ¿hasta qué punto es ello lícito?

Fue en 1975 cuando los biólogos moleculares, dirigidos por Paul Berg<sup>13</sup>, establecieron los criterios para evitar posibles desastres, definiendo cuatro niveles de riesgo: el riesgo mínimo (experimentos en los que bastan las precauciones propias de un laboratorio de microbiología clínica), el riesgo pequeño

(experimentos en los que se generan nuevos microorganismos, pero que no parece vayan a alterar la ecología de las especies, en los que se exigen algunas medidas mayores, como el acceso limitado al laboratorio y el uso de los microorganismos en cabinas de seguridad), el riesgo moderado (experimentos en los que existe probabilidad de generar un agente con capacidad potencial patógena o de alteración del ecosistema, por lo que deben utilizarse cabinas de flujo laminar, así como vectores y portadores incapaces de multiplicarse fuera del laboratorio) y, en fin, experimentos de riesgo elevado (aquellos con alta capacidad potencial de patogenicidad o alteración ecológica y que por ello exigen medidas de especial protección: la manipulación de los agentes microbianos solo debe realizarse en cabinas de máxima seguridad, en las que el aire se calienta a elevadas temperaturas antes de liberarlo al exterior, y se utilizan microorganismos que solo pueden crecer en el laboratorio)<sup>14</sup>. Estos criterios sobre normas de seguridad<sup>15</sup> sirvieron de base a las recomendaciones publicadas en julio de 1976 por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos<sup>16</sup>. Se estableció la distinción entre barreras físicas y biológicas, dividiéndolas, a su vez, en varias categorías. Las barreras físicas irían en orden de gravedad o riesgo creciente de P1 a P4, y las biológicas de EK1 a EK3. A partir de estos criterios, se elaboraron las normas legales, que tras varias reformas aparecieron publicadas en el *Federal Register* norteamericano de 1976<sup>16</sup> y que han orientado la biología molecular, primero en Estados Unidos y luego en el resto del mundo, desde entonces.

A partir de los años setenta, la prudencia ha conseguido que los experimentos con ADN recombinante fueran llevándose

a cabo con mucha precaución. De hecho, en la época de los años setenta quedaron limitados a microorganismos incapaces de sobrevivir fuera del laboratorio. Después se pasó a los mamíferos no humanos. El año 1990 se aprobó el primer ensayo de transferencia del gen implicado en el síndrome de inmunodeficiencia combinada severa (*SCID disorder*), tras lo cual la FDA publicó el documento 'Puntos a considerar en la terapia celular somática humana y en terapia génica'<sup>17</sup>, actualizado en 1998<sup>18</sup>.

## 2.2. Ética y genética molecular

El descubrimiento de las primeras endonucleasas de restricción y de las ligasas dio el pistoletazo de salida a lo que dio en llamarse ingeniería genética o manipulación genética. Entonces, a comienzos de la década de los setenta, no se hablaba de terapia génica, entre otras cosas por el carácter puramente experimental de las técnicas, aún alejadas de los estándares de seguridad y eficacia que se exigen a los procedimientos clínicos en general, y más en concreto a las técnicas o productos que puedan ser calificados de terapéuticos<sup>19</sup>.

Los comienzos de la ingeniería genética en células somáticas dieron lugar a un debate ético que ahora se reproduce, con todas las diferencias del caso, respecto a las células germinales. Entonces se pusieron a punto dos distinciones que han orientado el debate sobre estos problemas durante las últimas décadas<sup>20</sup>. La primera distinción es entre dos tipos de manipulación genética, llamados, respectivamente, "positiva" y "negativa". La segunda distinción tiene que ver con el tipo de células manipuladas, que en un caso son las somáticas o diploides, con lo que la modi-

ficación génica afecta al individuo pero no a su descendencia, y en el otro a las células germinales o haploides, con lo que la modificación se transmitirá no solo al individuo sino también a su descendencia. A partir de aquí se definieron cuatro tipos de manipulación génica, que de menor a mayor gravedad ética, son: la manipulación negativa realizada en células somáticas, la positiva en células somáticas, la negativa en células germinales y la positiva en células germinales. Los convenios internacionales y las legislaciones nacionales optaron por no considerar prudente más que la manipulación genética negativa realizada en células somáticas, es decir, con la intención de curar enfermedades, por lo general errores congénitos del metabolismo. Los tipos de terapia génica que tienen por objeto mejorar o perfeccionar la condición humana, como por ejemplo el cambio de sexo<sup>21</sup> (algo que en cualquier caso resulta más fácil de hacer mediante la selección de sexo a través del diagnóstico prenatal o preimplantatorio) fueron fuertemente criticados desde la ética<sup>22</sup> y siguen prohibidos en la práctica generalidad de los países del mundo.

## 2.3. El caso de la terapia génica germinal

La situación actual supone un paso más en esta dirección iniciada hace ya décadas. Ahora empieza a ser posible la manipulación génica de las células germinales. Y como hay en lista de espera varios cientos de enfermedades que reclaman una terapéutica eficaz, es lógico que se plantee de nuevo el problema de la licitud o no de la terapia génica con fines terapéuticos, es decir, la que venía calificándose de negativa, pero ahora es realizada en células germinales.

El análisis ético de este tipo de situaciones obliga a distinguir, en primer término, dos tipos de procedimientos, los experimentales y los propiamente clínicos. Nada puede ser considerado clínico, ni por tanto terapéutico, si no ha probado antes tanto su seguridad como su eficacia. Los procedimientos que se hallan en fase de experimentación son aquellos que no han demostrado aún su temple clínico, pero que están en el camino de hacerlo. El calificativo propio que les corresponde es el de experimentales. Y todo lo que no cae ni en el campo de los productos clínicos, ni en el de los experimentales, debe denominarse simplemente empírico. Ni que decir tiene que ni la ciencia, ni la ética tienen mucho que decir sobre estos últimos<sup>23</sup>.

La llamada terapia génica en células germinales es claro que aún no ha probado ni su seguridad ni su eficacia. Esto hace que en el rigor de los términos no pueda hablarse de “terapia” a propósito de ella, puesto que no se trata de un producto clínico validado. Estamos ante un producto meramente experimental. Más que de terapia génica, debería hablarse, pues, de experimentación génica en células germinales con el objetivo de corregir errores o defectos genéticos y, en consecuencia, prevenir enfermedades.

Así planteado el problema, el asunto es cómo gestionar desde el punto de vista ético tal tipo de procedimientos experimentales. Y la primera respuesta es que a través de los criterios canónicos desde hace ya bastantes décadas en la ética de la investigación. La ética de la investigación tiene dos ramas fundamentales, la que se aplica a la investigación básica y la propia de la investigación clínica. La primera suele llevarse a cabo en especímenes animales, bien enteros, bien en partes de ellos,

cultivos celulares, modelos de ordenador, etc. Ni que decir tiene que los cultivos celulares y los productos biológicos de la etapa básica o preclínica incluyen también, en principio, los procedentes de la especie humana. La segunda tiene por sujetos a los seres humanos, sanos o enfermos. Es obvio que no puede pasarse a la fase clínica hasta que la investigación preclínica o básica previa haya ofrecido datos esperanzadores sobre su posible seguridad y eficacia en humanos. En cuanto a las normas éticas que deben tenerse en cuenta en la investigación clínica, puede ser útil consultar el capítulo primero de este libro.

Trabajando con embriones animales se han puesto a punto las técnicas descritas en la primera parte de este artículo, en especial el sistema CRISPR/Cas9, que ha revolucionado la edición de genes en células somáticas y está empezando a revolucionar también la edición en las germinales. Las expectativas puestas en esta técnica son tales, que el debate actual se centra en si debe autorizarse su utilización en embriones humanos, o no. En abril de 2015, la revista *Nature* dio la noticia de que el grupo chino de Junjiu Huang, de la Universidad Sun Yat-sen, en Guangzhou, había utilizado por vez primera el complejo CRISPR/Cas9 en embriones humanos no viables, en un intento por modificar el gen causante de la  $\beta$ -talasemia (ver el punto 1.4 de este artículo). A consecuencia de estos experimentos, un grupo de prestigiosos biólogos moleculares y bioeticistas, reunidos en Napa, California, pidió el 3 de abril de 2015 un nuevo *moratorium* en la manipulación génica de las células germinales, similar al que se acordó en Asilomar el año 1974<sup>24</sup>. Respondiendo a esta petición, las Academias Nacionales de Ciencias y de Medicina de los Estados Unidos preparan

en la actualidad la convocatoria de una gran conferencia, a celebrar en otoño de 2015, para evaluar las implicaciones de la técnica *CRISPR/Cas9*<sup>25</sup>. Por su parte, el Comité Internacional de Bioética (*International Bioethics Committee*) de la UNESCO, en su último informe sobre investigación genética y derechos humanos, aboga también por una moratoria en la utilización de las técnicas de terapia génica en células germinales<sup>26</sup>.

En los países occidentales, las normativas actuales son muy restrictivas. El Parlamento Europeo aprobó, el 16 de marzo de 1989, la "Resolución sobre los problemas éticos y jurídicos de la manipulación genética"<sup>27</sup>. En ella pedía que las conductas de manipulación genética en línea germinal fueran castigadas por vía penal. Así lo han hecho la mayoría de los países europeos. Tal es el caso de la Ley de protección de embriones aprobada en Alemania el 13 de diciembre de 1990, que prohíbe la manipulación genética de las células germinales humanas, así como la creación de clones y quimeras. El Código Penal español de 1995, en el apartado 1 del artículo 159, tipifica como delictivos los actos "que, con finalidad distinta a la eliminación o disminución de taras o enfermedades graves, manipulen genes humanos de manera que se altere el genotipo". Queda claro que la ingeniería genética positiva está prohibida, pero parece aceptar cualquier tipo de terapia génica, tanto en células somáticas como germinales. Por otra parte, la mayoría de los países europeos, entre ellos España, ha firmado el Protocolo adicional al Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina, por el que se prohíbe la clonación de seres humanos<sup>28</sup>.

Las regulaciones actuales tienden a ser restrictivas, habida cuenta de que los embriones humanos, incluso los no viables, merecen especial consideración y respeto. Como sucede en los embriones sobrantes de las técnicas de reproducción asistida que se utilizan con fines de investigación, es preciso asegurarse de que no han sido producidos con tal objetivo, y que caso de no utilizarse para fines de investigación serían desechados o destruidos. Cumplidos tales requisitos, no hay razones para prohibir el uso de embriones humanos inviables para la investigación en terapia génica.

Lo dicho es de aplicación en el caso de los estudios básicos o preclínicos. Solo cuando la seguridad y eficacia de las técnicas sea suficiente, podrá darse el salto a la investigación "clínica". Cuando la manipulación se lleve a cabo en la línea germinal, deberá contarse con la aprobación no solo de las personas directamente implicadas sino también de algún comité de amplia base social y del propio Estado, habida cuenta de la repercusión que ello habrá de tener en todas las generaciones de descendientes.

La terapia génica plantea sobre nuevas bases el tema clásico de la eugenesia. La genética clásica dio lugar a un tipo de eugenesia que se desarrolló ampliamente en las primeras décadas del siglo XX<sup>29,30</sup>, y que entró en descrédito por los excesos que se cometieron con ella, tanto en América<sup>31-34</sup> como en Europa<sup>35,36</sup>. La eugenesia actual tiene la característica de utilizar las técnicas propias de la biología molecular, y llevarse a cabo en células embrionarias<sup>37,38</sup>. Las posturas éticas respecto a ellas se encuentran polarmente enfrentadas, entre quienes consideran inmoral cualquier tipo de mani-

pulación embrionaria y aquellos otros que no ven razones para establecer ningún tipo de prohibición. Acabará imponiéndose la opinión más matizada de quienes no ven razones para la prohibición absoluta, pero sí exigen que los seres humanos, incluso en la fase embrionaria, sean tratados con la máxima consideración y respeto, exigiendo por ello que se extreme la prudencia, asegurando al máximo la seguridad y eficacia de los procedimientos<sup>39</sup>.

## 2.4. Conclusión

Los espléndidos y extraordinarios descubrimientos de los últimos años en relación a la terapia génica en células germinales abren un nuevo horizonte a la medicina, en orden a la prevención de las enfermedades genéticas en la especie humana. Esta es la parte positiva de la situación, que debe llenarnos de esperanza respecto a los posibles desarrollos futuros. Pero esa esperanza debe quedar atemperada en el momento presente, habida cuenta de que nos hallamos en fases muy tempranas de la investigación de estos complejos procesos, y que no se ve claro que en un futuro próximo vaya a ser posible asegurar la seguridad y eficacia de estos procedimientos, de modo que puedan pasar a convertirse en parte de nuestro arsenal preventivo y terapéutico. Más que de terapia génica en células germinales, en la actualidad solo nos es posible hablar de investigación génica en células germinales. Que no es poco.

## REFERENCIAS

1. Kaufmann KB, Buning H, Galy A, Schambach A, Grez M. Gene therapy on the move. *EMBO Mol Med.* 2013; 5: 1642-61.
2. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, McCormack MP, Wulffraat N, Leboulch P, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science.* 2003; 302: 415-9.
3. Braun CJ, Boztug K, Paruzynski A, Witzel M, Schwarzer A, Rothe M, et al. Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome--long-term efficacy and genotoxicity. *Science translational medicine.* 2014; 6: 227ra33.
4. Lombardo A, Naldini L. Genome editing: a tool for research and therapy: targeted genome editing hits the clinic. *Nat Med.* 2014; 20: 1101-3.
5. Sternberg SH, Doudna JA. Expanding the Biologist's Toolkit with CRISPR-Cas9. *Mol Cell.* 2015; 58: 568-74.
6. Tebas P, Stein D, Tang WW, Frank I, Wang SQ, Lee G, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med.* 2014; 370: 901-10.
7. Suzuki K, Yu C, Qu J, Li M, Yao X, Yuan T, et al. Targeted gene correction minimally impacts whole-genome mutational load in human-disease-specific induced pluripotent stem cell clones. *Cell Stem Cell.* 2014; 15: 31-6.
8. Veres A, Gosis BS, Ding Q, Collins R, Ragavendran A, Brand H, et al. Low incidence of off-target mutations in individual CRISPR-Cas9 and TALEN targeted human stem cell clones detected by whole-genome sequencing. *Cell Stem Cell.* 2014; 15: 27-30.
9. Wu Y, Liang D, Wang Y, Bai M, Tang W, Bao S, et al. Correction of a genetic disease in mouse via use of CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell.* 2013; 13: 659-62.
10. Yang H, Wang H, Shivalila CS, Cheng AW, Shi L, Jaenisch R. One-step generation of mice carrying reporter and conditional alleles by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell.* 2013; 154: 1370-9.
11. Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell.* 2015; 6: 363-72.

12. Wade N. Microbiology: hazardous profession faces new uncertainties. *Science*. 1973; 182: 566-7.
13. Fredrickson's, DS. The recombinant DNA controversy: a memoir. Washington DC: ASM Press; 2001.
14. Berg P, Baltimore D, Brenner S, Roblin III RO, Singer MF. Summary statement of the asilomar conference on recombinant DNA molecules. *Proc Nat Acad Sci*. 1975; 72: 1981-4.
15. Fredricksons DS. A history of the recombinant DNA guidelines in the United States. En: Morgan J, Whelan WJ, eds. *Recombinant DNA and genetic experimentation*. New York: Pergamon Press; 1979. p. 151-6.
16. U.S. National Institutes of Health. Recombinant DNA research guidelines. *Fed Regist*. 1976; 41: 27902-43.
17. FDA. Points to consider in human somatic cell therapy and gene therapy. *Hum Gene Ther*. 1991; 2: 251-6.
18. FDA. Guidance for human somatic cell therapy and gene therapy. Rockville, MD: FDA; 1998.
19. Bedate CA. Terapia génica. En: Romeo Casabona CM, ed. *Genética humana: Fundamentos para el estudio de los efectos sociales derivados de los avances en genética humana*. Bilbao: Universidad de Deusto/Fundación BBV/Diputación Foral de Bizkaia; 1995. p. 227-67.
20. Berg P, Singer MF. The recombinant DNA controversy: Twenty years later. *Proc Natl Acad Sci*. 1995; 92: 9011-3.
21. West DJ, et al. Sexing in human pre-embryo by DNA-DNA in situ hybridation. *Lancet*. 1987; 1: 1345-7.
22. Nolan K, Swenson S. New tools, new dilemmas: genetic frontiers. *Hastings Cent Rep*. 1988; 18: 40-6.
23. Gracia D. Investigación clínica. En: Gracia D. *Ética y vida*. Vol. 4: Profesión médica, investigación y justicia sanitaria. Santafé de Bogotá: El Buho; 1998. p. 77-110.
24. Baltimore D, et al. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science*. 2015; 348: 36-8.
25. Hurlbut JB. Limits of responsibility: genome editing, asilomar, and the politics of deliberation. *Hastings Cent Rep*. 2015; 45: 11-4.
26. UNESCO International Bioethics Committee. Report of the IBC on updating its reflection on the human genome and human rights. SHS/YES/IBC-22/15/2 REV.2 Paris, 2 October 2015.
27. Resolución del Parlamento Europeo, de 16 de marzo de 1989, sobre los problemas éticos y jurídicos de la manipulación genética, Doc A 2-327/88. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 1989; C 96/165:17 de abril.
28. Instrumento de Ratificación del Protocolo Adicional al Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina, por el que se prohíbe la clonación de seres humanos, hecho en París el 12 de enero de 1998. BOE, 2001; 52(1 marzo): 7671-2.
29. Davenport CB. *Heredity in relation to eugenics*. New York: Holt; 1911.
30. Kevles DJ. *In the name of eugenics. Genetics and the use of human heredity*. New York: Knopf; 1985.
31. Cravens H. *The triumph of evolution: American scientists and the heredity environment controversy, 1900-1940*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1988.
32. Rafter NH. *White trash: The eugenic family studies, 1877-1919*. Boston: Northeastern University Press; 1988.
33. Smith JD, Nelson KR. *The sterilization of Carrie Buck*. Far Hills, N.J.: New Horizon Press; 1989.
34. Allen GE. *The eugenics record office at Cold Spring Harbor, 1910-1940: an essay in institutional history*. Osiris. 1986; 2: 225-64.
35. Müller-Hill B. *Murderous science: elimination by selection of jews, gypsies and others. Germany 1933-1945*. Oxford: Oxford University Press; 1988.

36. Proctor N. *Racial hygiene: Medicine under the nazis*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press; 1989.
37. Pollack R. Eugenics lurk in the shadow of CRISPR. *Science*. 2015; 348: 871.
38. Kevles DJ. *In the name of eugenics*. New York: Alfred A. Knopf; 1985.
39. Baltimore D, Berg P. Let's hit 'pause' before altering humankind. *The Wall Street Journal*. 2015 April 8.