

# LA TECNOLOGÍA CRISPR/CAS9 PREVIENE LA MUERTE SÚBITA CARDÍACA

María Contreras Iborra, María Rodríguez García, Lidia García Salmerón, David Rodríguez García, Iván Góngora Maldonado.

Departamento de Biología y Geología

## 1. ¿EN QUÉ CONSISTE LA TECNOLOGÍA CRISPR/CAS9?

La técnica CRISPR es una herramienta biotecnológica muy potente utilizada para editar genomas en una gran variedad de células y organismos, incluyendo células humanas. Se consideran unas tijeras moleculares, capaces de cortar cualquier molécula de ADN de manera muy precisa y totalmente controlada, lo cual permite modificar su secuencia, eliminando o insertando nuevo ADN.

Las siglas CRISPR provienen de: Clustered Regularly Interspace Short Palindromic Repeat, en español, "Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas e Irregularmente Interespaciadas" (Ver figura 1).

Cas9 es el nombre de una serie de proteínas nucleasas que catalizan la degradación de ácidos nucleicos rompiendo los enlaces fosfodiéster que unen los grupos fosfato y los hidroxilos de la molécula de ADN. (Ver figura 2)

## 2. ¿CÓMO FUNCIONAN LAS TIJERAS MOLECULARES?

Estas tijeras moleculares se encargan de cortar el fragmento en el cual se encuentra el gen defectuoso de la cadena de ADN y su cadena complementaria de ARN. Una vez extraído el fragmento, este es modificado y la propia Cas9 coloca la secuencia correcta con el fin de repararlo. (Ver figura 3)

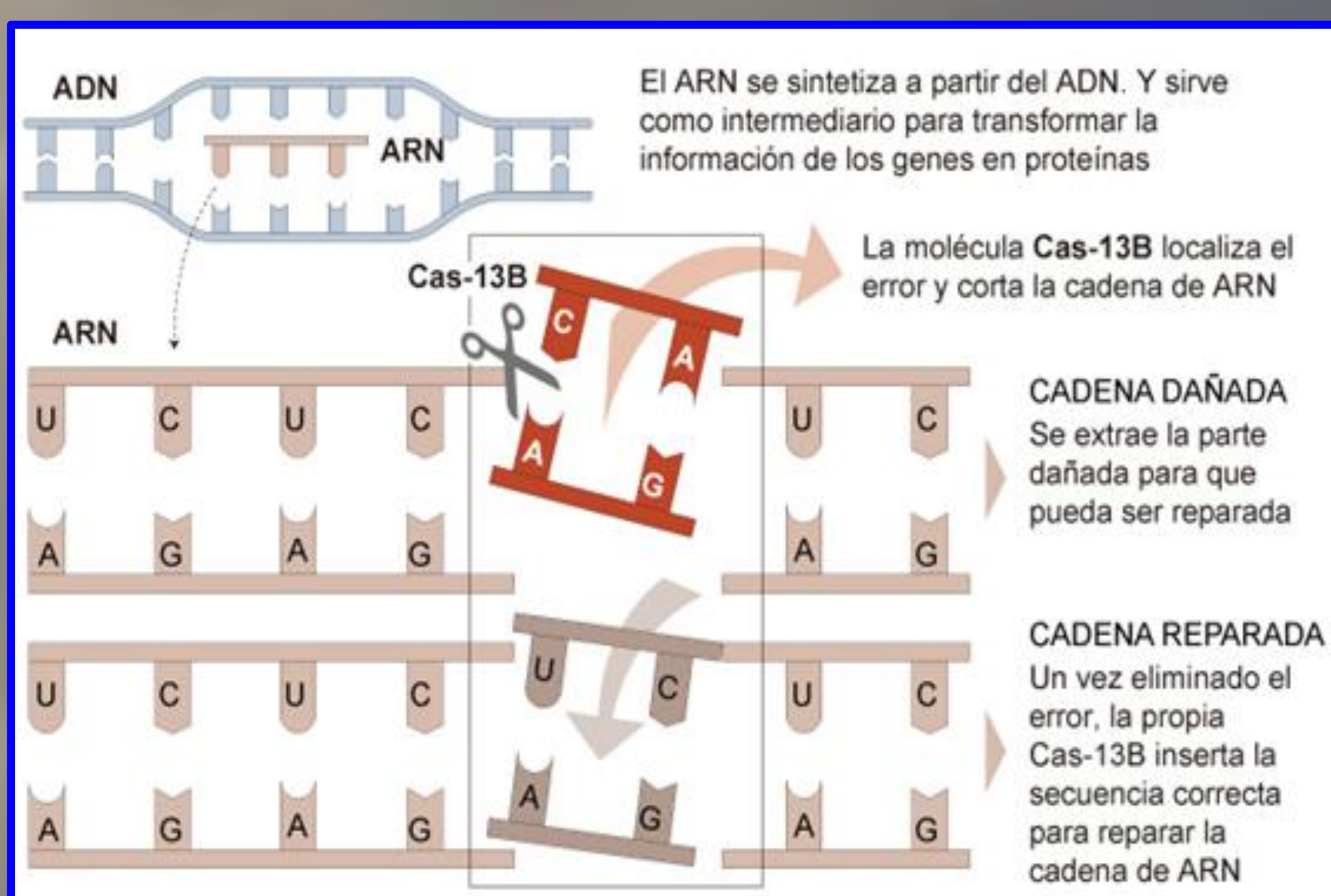


Figura 3: Proceso mediante el cual las tijeras moleculares realizan su función. Siendo Cas-13B un sinónimo para Cas9. <https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2017/10/26/59f1cd7dca47411e498b45ea.html>

## 4. EXPERIMENTACIÓN REALIZADA HASTA LA FECHA.

Los investigadores Wehrens y Lagor, que trabajan en el Baylor College of Medicine de EEUU, usaron ratones transgénicos portadores de una mutación (R176Q) en el gen que codifica la proteína RYR2 que causaba la aparición en dichos ratones de una arritmia mortal similar a la CPVT humana. Teniendo en cuenta esto, razonaron que eliminar la copia del gen RYR2 que causa la enfermedad, llamada R176Q, podría corregir este trastorno de arritmia letal en los ratones transgénicos. Para probar este nuevo enfoque, se utilizó AAV-CRISPR para interrumpir selectivamente el gen RYR2 mutante en el modelo de ratón R176Q de CPVT. Para ello, diseñaron vectores AAV para enviar CRISPR/Cas9 (AAV-CRISPR) en los corazones de animales vivos. Siendo el vector AAV un virus muy simple, no autónomo, que contiene ADN lineal de cadena sencilla y que carece de patogenicidad. (Ver figura 5)

Diez días después del nacimiento, los ratones portadores de la mutación R176Q y los ratones normales recibieron una inyección única de AAV-CRISPR o tratamiento con placebo. Cinco a seis semanas después, los investigadores evaluaron a los ratones y encontraron resultados muy alentadores.

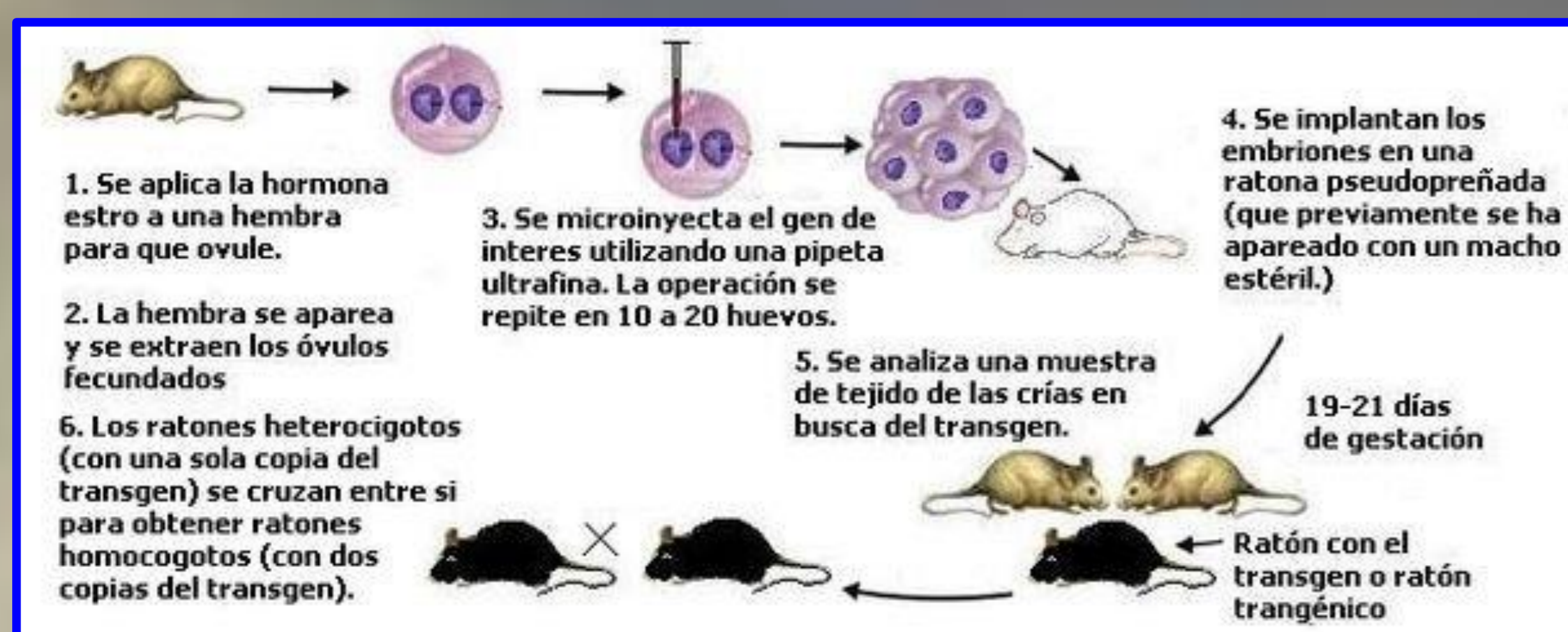


Figura 5: Creación de ratones transgénicos. <https://www.slideshare.net/g3n3xiitap/anticuerpos-monoclonales>

## 5. RESULTADOS OBTENIDOS.

Como resultado más interesante, cabe destacar que ninguno de los ratones portadores de la mutación R176Q, causante de la enfermedad, que fueron tratadas con AAV-CRISPR desarrolló arritmias. En contraste, el 71% de los ratones que portaron la mutación y recibieron un virus placebo desarrollaron arritmias. La edición de la copia defectuosa del gen con AAV-CRISPR redujo enormemente la abundancia de las proteínas RYR2 disfuncionales. Además, la única copia sana del gen RYR2 que quedaba era suficiente para apoyar la función cardíaca adecuada. No se observaron eventos adversos relacionados con los tratamientos en grupos de ratones normales o afectados.

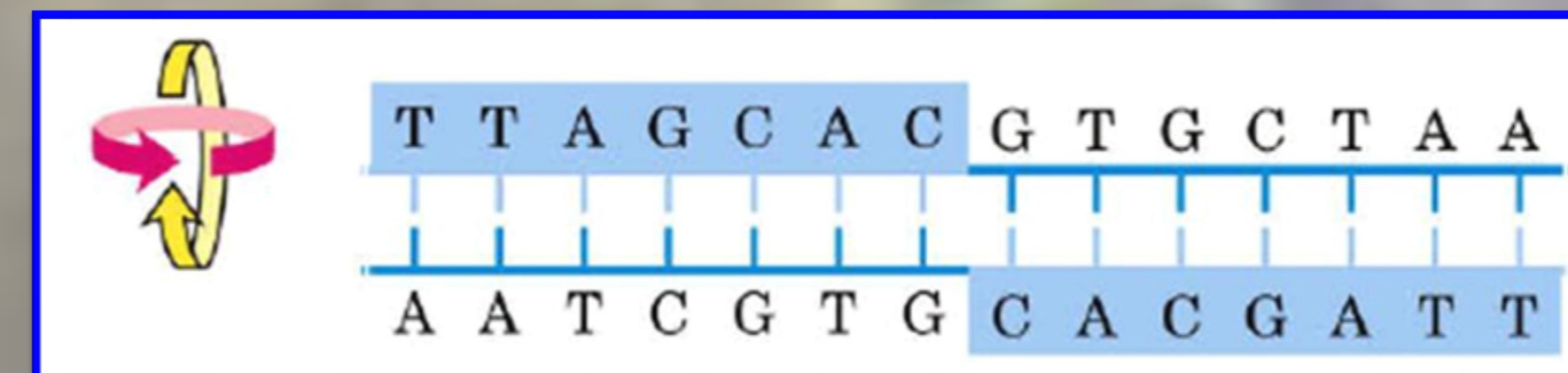


Figura 1: las secuencias palindrómicas son aquellas que se le igual de derecha a izquierda y viceversa. <http://vlak19.blogspot.com/2012/12/>

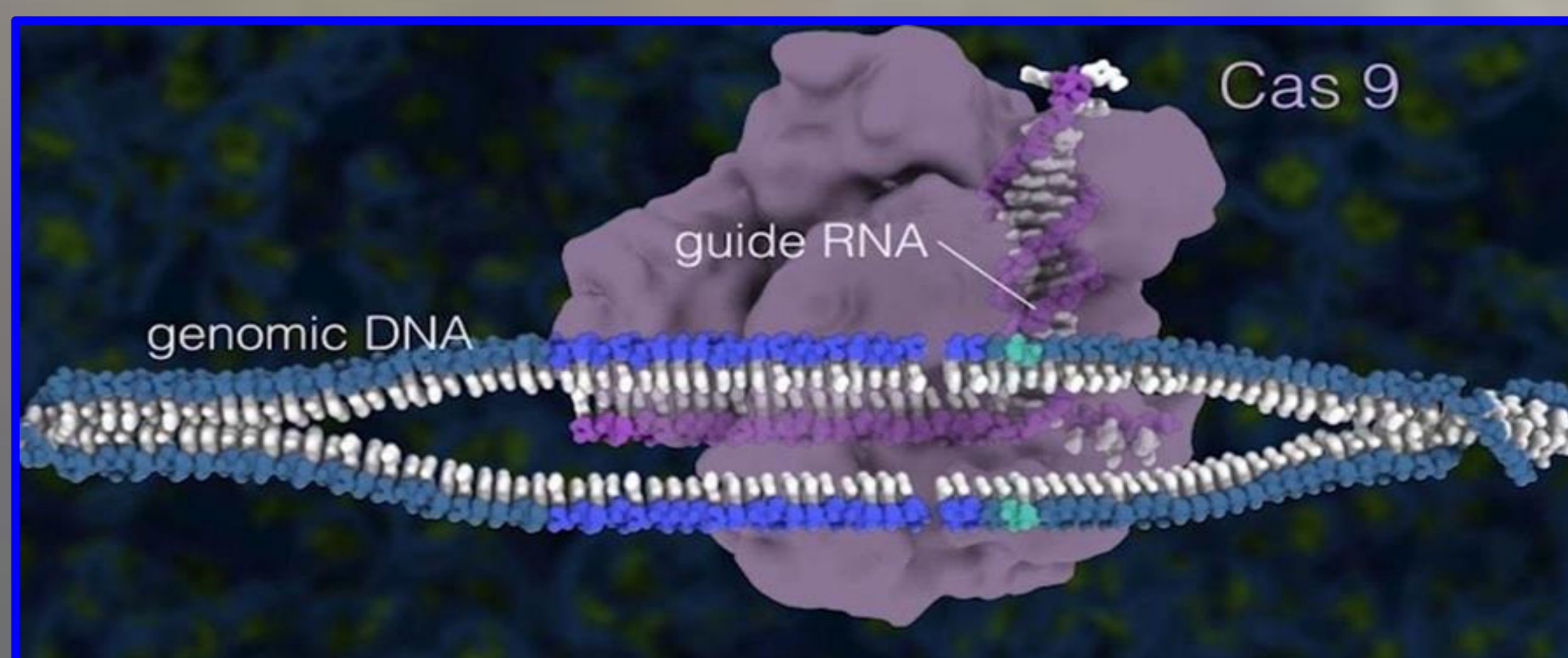


Figura 2: Funcionamiento de la molécula Cas9 cortando el ADN. <https://procrastinafacil.com/consiguen-eliminar-el-virus-que-causa-el-sida-vih-en-ratones/>

## 3. APLICACIÓN DE LA TÉCNICA CRISPR/CAS9 EN LA CURACIÓN DE ENFERMEDADES CARDÍACAS

Una de las aplicaciones de la técnica de edición genética es desarrollar un tratamiento permanente para un trastorno hereditario de arritmia cardíaca llamado taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (CPVT) en humanos. Para este estudio en particular, los investigadores se inspiraron en un paciente joven que presenta arritmias recurrentes (latidos cardíacos irregulares y rápidos y episodios de desmayo). Los estudios genéticos han demostrado que la causa de la arritmia del paciente joven es una mutación en el gen RYR2. Este gen codifica proteínas de membrana que forman un canal que regula el flujo de calcio en las células del músculo cardíaco llamadas cardiomiocitos, necesario para contraerse y relajarse de manera coordinada. De manera que durante el ejercicio o el estrés emocional, un corazón con proteínas RYR2 defectuosas no regularán adecuadamente el flujo de calcio y esto podría conducir a arritmias potencialmente mortales. (Ver figura 4)

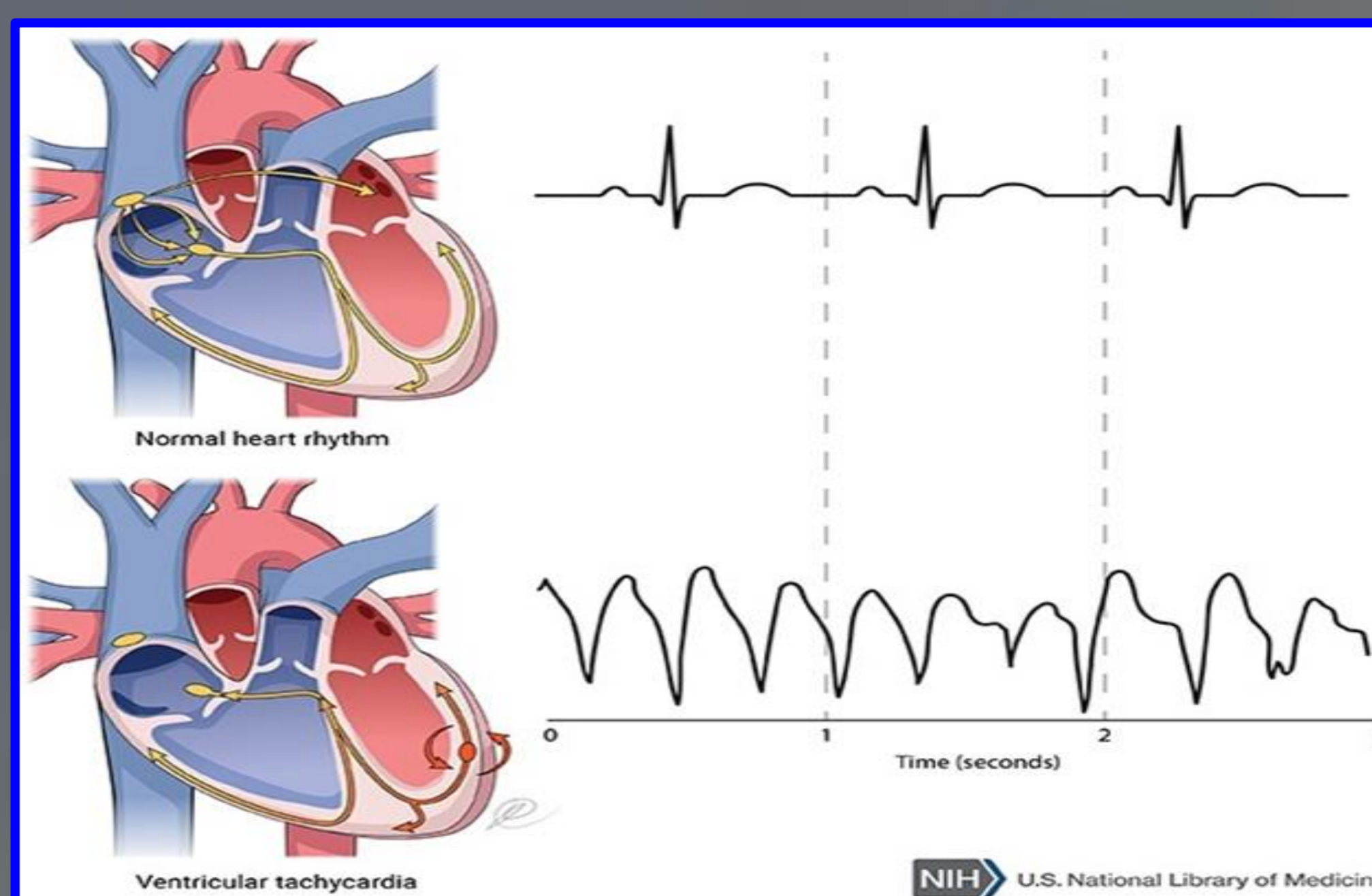


Figura 4: Diferencia de la frecuencia cardíaca entre un corazón sano y uno con CPVT (Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica)

## 6. CONCLUSIONES.

Se cree que la edición del genoma de precisión (CRISPR) es el futuro de las terapias genéticas dirigidas a los tejidos. Sin embargo, esta técnica puede presentar problemas éticos, ya que al aplicar la edición genética podríamos modificar un genoma humano hasta llegar a la perfección. Además, su uso podría atentar contra la dignidad humana, ya que al llegar a ese hipotético nivel de perfección perderíamos la esencia que nos hace únicos. Respecto a inconvenientes médicos, está demostrado que debido a que las proteínas cas son bacterianas pueden ser detectadas por el sistema inmune y disparar una respuesta inflamatoria. Otro inconveniente es que CRISPR /Cas9 puede generar cortes o ediciones no deseadas, de manera que crearía mutaciones no detectadas por los científicos.

Más ejemplos de las aplicaciones de la técnica de edición genética, las podemos encontrar en la figura 6.

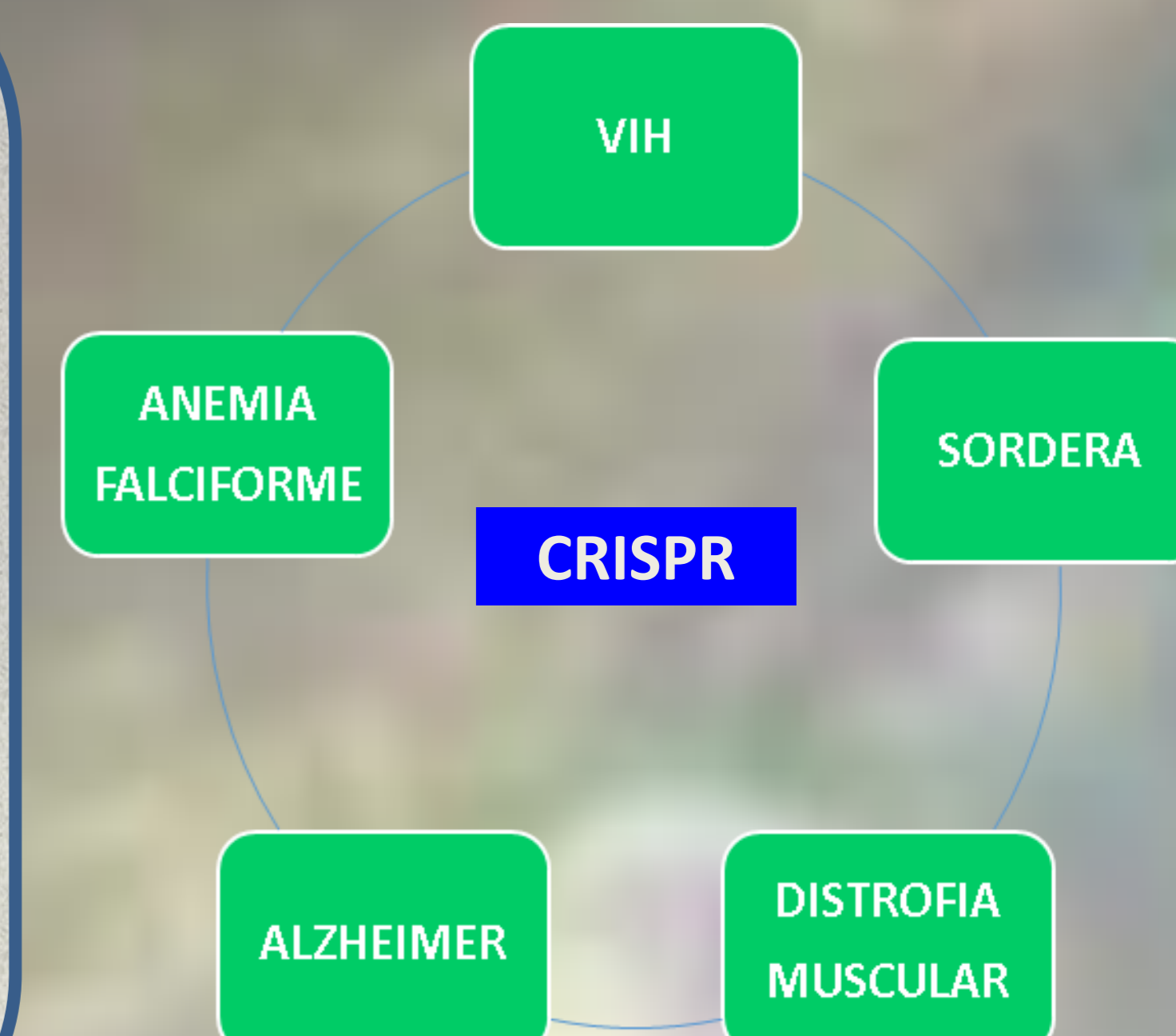


Figura 6

## 7. REFERENCIAS.

<https://www.sciencedaily.com/releases/2018/10/181030114502.htm>  
<http://www.dciencia.es>  
<https://revistageneticamedica.com/>  
<http://www.revespcardiol.org/es/una-nueva-mutacion-el-gen/articulo/90372049/>  
 Algunos de los autores de los artículos de los cuales hemos obtenido información son: Diana Domingo, Raquel López, Miguel Ángel Arnau, Óscar Cano, Elena Fernández y Esther Zorio, que trabajan en Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España.