

Prudencia para la aplicación clínica de los sistemas CRISPR en terapia génica *in vivo*

Lluís Montoliu

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) y Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER-ISCI11)

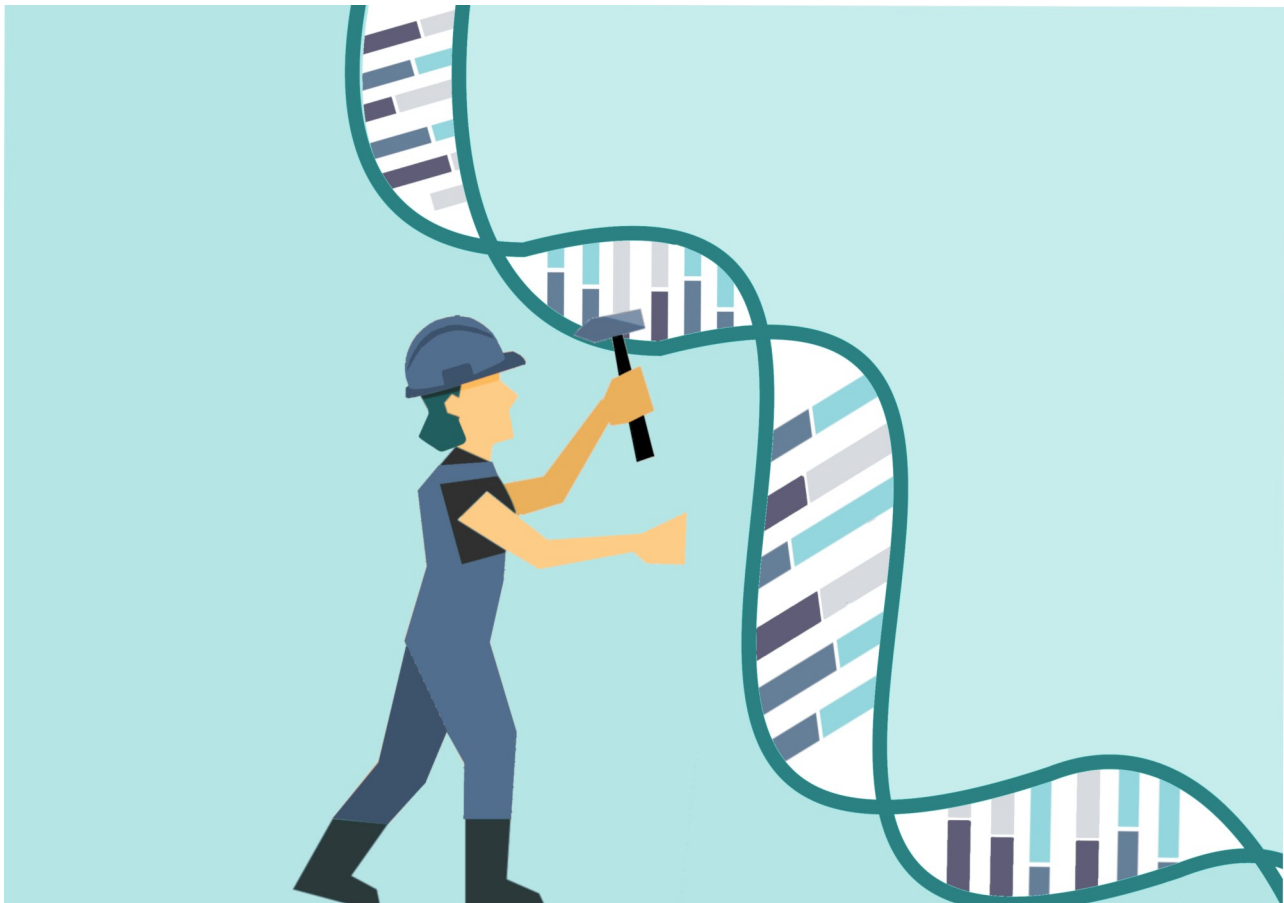
Autor de correspondencia: Lluís Montoliu, montoliu@cnb.csic.es

El ensayo clínico que ahora se anuncia, para tratar a pacientes de amaurosis congénita de Leber de tipo 10 (ACL10, LCA10 en inglés) fue aprobado en diciembre de 2018 por la FDA. A pesar de tratarse del primer uso conocido *in vivo* (directamente en pacientes) de una propuesta terapéutica basada en las herramientas CRISPR, en realidad no es el primero en el que se usa edición genética con intervención directa sobre pacientes.

En noviembre de 2017 se trató a un primer paciente afectado por el síndrome de Hunter (una enfermedad rara metabólica grave) con las herramientas ZFN (nucleasas de dedos de Zinc), anteriores a las CRISPR, mediante vectores virales adenoasociados

portadores del gen a rescatar, que se diseñó para insertarse bajo el control del gen de la albúmina. En este caso, con CRISPR, la inyección de los virus se realizará de forma intraocular y en un solo ojo de cada paciente. El ojo es un órgano privilegiado, aislado del resto del cuerpo por la barrera hematoencefálica en la base de la retina. Los virus no podrán salir del globo ocular. Por lo tanto, es más seguro que administrarlos sistémicamente a través de la sangre, que podrían llegar a muchas más células del cuerpo.

Este experimento, para tratar a pacientes de ACL10, pretende eliminar, mediante dos guías CRISPR-Cas9 dirigidas hacia secuencias adyacentes del gen *CEP290*, una mutación que genera una señal críptica



que provoca un procesamiento erróneo del ARN mensajero (Maeder 2019) y la producción de una proteína no funcional.

Publicado online: 6 agosto 2019

Se trata de un experimento arriesgado. No controlamos todavía el proceso de edición. En particular no controlamos lo que ocurre tras el corte específico producido por CRISPR-Cas9. Ni tampoco podemos asegurar que no se corten otras zonas del genoma similares a la secuencia diana escogida. Todas estas incertidumbres recomiendan prudencia en la aplicación clínica de los sistemas CRISPR en terapia génica in vivo, y por eso la mayoría de aplicaciones aprobadas y/o en fase de ensayo clínico son terapias génicas ex vivo, fuera de los pacientes, donde existe un cierto nivel de control para determinar que células editadas adecuadamente se retornarán al paciente, descartando las erróneamente editadas.

En los experimentos in vivo no existe este control adicional. Para contrarrestar con esta incertidumbre los dos experimentos abordados hasta el momento han optado por soluciones diferentes. En el caso de las ZFN en lugar de corregir el gen afectado (*125*) se optó por insertar una copia de su cDNA en otro gen, el gen de la albúmina, asumiendo que en el peor de los casos unos cuantos hepatocitos dejarían de producir albúmina. En este caso el factor de control es el lugar de intervención. La cavidad intraocular, un entorno cerrado y aislado del resto del cuerpo. Igualmente privilegiado desde el punto de vista inmunológico, por lo que es también improbable que aparezcan alergias o rechazo a la proteína Cas9, como (Charlesworth 2019).

Bibliografía:

Charlesworth CT, et al. Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. *Nat Med.* 2019 Feb;25(2):249-254. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-018-0326-x>

Maeder ML, et al. Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10. *Nat Med.* 2019 Feb;25(2):229-233. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-018-0327-9>