

Fecha de presentación: marzo, 2023, Fecha de Aceptación: mayo, 2023, Fecha de publicación: julio, 2023

29

LAS INVESTIGACIONES SOBRE BASES MOLECULARES DE CRISPER-CAS, SUS APLICACIONES EN SALUD COMO PARTE DEL PREGRADO

RESEARCH ON THE MOLECULAR BASES OF CRISPR-CAS, ITS APPLICATIONS IN HEALTH AS PART OF THE UNDERGRADUATE

María Ilusión Solís Sánchez¹

E-mail: ua.mariass79@uniandes.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-8290-2926>

Juan Alberto Viteri Rodríguez¹

E-mail: ua.juanviteri@uniandes.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2463-7036>

¹ Universidad Regional Autónoma de Los Andes Ambato. Ecuador.

Cita sugerida (APA, séptima edición)

Solís Sánchez, M. I., & Viteri Rodríguez, J. A. (2023). Las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS, sus aplicaciones en salud como parte del pregrado. *Revista Conrado*, 19(93), 240-248.

RESUMEN

Las universidades se enfocan cada día en la formación de profesionales competentes y de prepararlos para asumir nuevos retos en un mundo que demanda de la innovación mediante la aplicación de conocimientos a otros objetos de estudio. En este marco gana importancia la realización y profundización de los estudios de base para su utilización en casos prácticos. Por ello se propone como objetivo de la investigación conocer la importancia percibida por los docentes respecto a las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el pregrado. Para cumplir con el objetivo propuesto se emplearon métodos teóricos y empíricos, entre los que se encuentra la revisión bibliográfica y la entrevista. Como resultado se obtuvo que la mayoría de los docentes entrevistados refieren que resulta importante el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado y que resulta más pertinente en esta enseñanza que en el postgrado. Se conocieron las aplicaciones en la medicina de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS, que son más populares entre los docentes entrevistados, así como se investigaron con mayor profundidad, las que aparecen en la literatura científica.

Palabras clave:

Enseñanza de pregrado, CRISPR-CAS, aplicaciones en la medicina.

ABSTRACT

Universities focus every day on training competent professionals and preparing them to take on new challenges in a world that demands innovation by applying knowledge to other objects of study. In this framework, the realization and deepening of basic studies for their use in practical cases gains importance. For this reason, it is proposed as an objective of the research to know the importance perceived by teachers regarding research on the molecular bases of CRISPER-CAS and its applications in health in undergraduates. To meet the proposed objective, theoretical and empirical methods were used, among which are the bibliographic review and the interview. As a result, it was obtained that most of the teachers interviewed report that the study of research on the molecular bases of CRISPER-CAS and its applications in health in the undergraduate study program is important and that it is more relevant in this teaching than in the graduate. The applications in medicine of the research on molecular bases of CRISPER-CAS, which are more popular among the teachers interviewed, were known, as well as those that appear in the scientific literature were investigated in greater depth.

Keywords:

Undergraduate teaching, CRISPR-CAS, applications in medicine.

INTRODUCCIÓN

Las personas no son receptores pasivos del contenido a aprender, por el contrario, se implican de forma activa en el procesamiento de la información entrante con el objetivo de construir modelos mentales de los conceptos nuevos. Las instituciones educativas se esfuerzan por formar y desarrollar competencias en sus estudiantes, para prepararlos a nuevos retos para afrontar las situaciones particulares que se pueden presentar en un mundo de constante cambio y crecimiento (Mendieta & García, 2018). La universidad del mañana también se centrará en ‘aprender a aprender’. El aprendizaje es un proceso de toda la vida y con el ritmo de cambio actual, todos necesitarán las herramientas para aprender a lo largo de la vida. El “valor” o la persistencia se encuentran en el corazón del proceso de aprendizaje permanente, por lo que los educadores universitarios impulsarán a los estudiantes a desarrollar la resiliencia para dominar el material desafiante fuera del aula (Fadol et al., 2018).

Hoy en día cada vez toma más fuerza el papel de los estudios de pregrado y sus aportes a las diferentes ramas de la ciencia. La velocidad de los cambios y novedad de la información científica obliga a la educación a cambiar desde sus bases para conseguir en los estudiantes una formación general e integral que les permita ampliar sus conocimientos y habilidades para mantenerse actualizados. (Watanabe et al., 2018). Por esta razón los estudios de pregrado contribuyen de forma decisiva en la adecuada formación profesional de todas las ramas y en especial de la medicina. Permitiendo que se realicen mayor cantidad de investigaciones de base que dan pie a futuras aplicaciones prácticas.

Los sistemas CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas interespaciadas reguladoras agrupadas) son loci que contienen múltiples repeticiones directas cortas y proporcionan inmunidad adquirida a bacterias y arqueas. Basado en el crRNA y tracrRNA, los sistemas CRISPR pueden introducir silenciamiento específico de secuencia del ADN extraño invasor. Los sistemas CRISPR / Cas han pasado rápidamente de ser una tecnología de nicho a un método convencional utilizado por muchos investigadores biológicos. Proporciona una modificación rápida, fácil y eficiente de genes endógenos en una amplia variedad de tipos de células biomédicamente importantes y en organismos que tradicionalmente han sido difíciles de manipular genéticamente.

La historia de CRISPR-Cas9 se inició en 1987, cuando un grupo de científicos Japoneses de la Universidad de Osaka, Japón, estudiando la información genética presente en las bacterias reportaron el hallazgo de unas

secuencias de ADN repetidas, pero sin ninguna función aparente. Años después, en 1993, de forma independiente el grupo del investigador Juan Francisco Martínez Mojica de la Universidad de Alicante, España, reportaron el mismo hallazgo, pero en genomas de arqueas, y describieron las secuencias como repetitivas y palindrómicas, las cuales estaban separadas entre sí mediante unas secuencias espaciadoras y contaban con una secuencia líder en su inicio llamaron a estas secuencias CRISPRs (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) (Mallen Huertas, 2021).

CRISPR ya ha revolucionado la investigación básica al permitir que los científicos modifiquen fácilmente el genoma de las células y los organismos modelo, lo que permite el desarrollo de un conjunto cada vez mayor de herramientas para comprender cuestiones biológicas fundamentales. “CRISPR” se deriva de las “repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente intercaladas” en el genoma bacteriano donde se encontró la maquinaria de edición de genes, y Cas9 es una proteína endonucleasa que se rompe y, por lo tanto, desactiva el ADN de los virus invasores. Este sistema se ha caracterizado en una amplia gama de bacterias (Riveros-Maidana et al., 2020).

La tecnología CRISPR-Cas9 tiene su origen en los sistemas CRISPR-Cas de tipo II, que proporcionan a las bacterias inmunidad adaptativa frente a virus y plásmidos. La proteína Cas9 asociada a CRISPR es una endonucleasa que utiliza una secuencia guía dentro de un dúplex de ARN, tracrRNA:crRNA, para formar pares de bases con secuencias objetivo de ADN, lo que permite a Cas9 introducir una ruptura de doble cadena específica del sitio en el ADN (Doudna & Charpentier, 2014).

El sistema CRISPR-Cas, muy estudiado en los últimos años por las aplicaciones en salud y la posibilidad de editar el genoma, basado en el principio de inmunidad adaptativa de bacterias y arqueas contra virus y plásmidos. La inmunidad es adquirida o adaptativa, que guarda una memoria de las secuencias de ADN de los patógenos de ataques anteriores y corta su ADN en caso de una nueva infección, mediante la adquisición de tramos cortos de ácidos nucleicos. Estudios recientes revelan el mecanismo de acción y las aplicaciones mediadas por CRISPR-cas, en donde la interferencia CRISPR también puede apuntar a secuencias de plásmidos y proporcionar una barrera contra la captación de elementos genéticos móviles indeseables.

El sistema CRISPR de la bacteria toma ADN vírico e integra partes de él entre las secuencias repetidas del genoma bacteriano, como resultado, la célula produce ARN

complementario del ADN vírico y lo ensambla con proteínas Cas. Si un virus intenta infectar de nuevo la célula con este ADN, el ARN identifica el genoma del virus y, a continuación, las proteínas Cas lo cortan para que no vuelva a causar daños. Los sistemas CRISPR-Cas funcionan en tres etapas: (1) adaptación, donde se adquieren nuevos espaciadores a partir de elementos invasivos para la inmunización; (2) biogénesis de crRNA, donde los loci CRISPR se transcriben y procesan en pequeños crRNA que interfieren; y (3) interferencia, donde los crRNA guían la maquinaria Cas para escindir específicamente ácidos nucleicos invasivos homólogos. Por lo antes expuesto, se propone como objetivo de la investigación conocer la importancia percibida por los docentes respecto a las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el pregrado.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Métodos teóricos

Método analítico sintético: el método analítico permite descomponer el todo en aspectos específicos para comprender la estructura; facilita la observancia para percibir mejor los componentes. En este contexto este método implica la síntesis, es decir la unión de los elementos dispersos para conformar un componente total.

Método inductivo deductivo: facilita un razonamiento lógico. El método inductivo parte de premisas específicas para llegar a aspectos generales, el método deductivo es lo opuesto, pues parte de lo genérico hasta llegar a los aspectos particulares. Sin embargo, ambos métodos son esenciales en la construcción del conocimiento.

Método histórico lógico: tributa a la construcción de la investigación tomando como base los elementos históricos que construyen la investigación para comprender los elementos esenciales de la misma y su evolución histórica.

Métodos empíricos:

Entrevistas: se aplicará a la muestra constituida por expertos seleccionados, con la finalidad de aplicar el método seleccionado.

Población: universo de individuos a contemplar para el estudio

Muestra: cantidad representativa de la población en estudio a determinar con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N\sigma^2Z^2}{(N-1)e^2 + \sigma^2Z^2} \quad (1)$$

Donde:

n = el tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población.

desviación estándar de la población que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor constante de 0,5.

Z = valor de nivel de confianza, del 95%.

e = es el margen de error máximo que se admite es de 5%

Observación: para comprobar cómo se comporta el fenómeno objeto de la investigación.

Revisión bibliográfica: las búsquedas bibliográficas se realizaron utilizando las bases de datos de PubMed, BioCell, Scielo, Elsevier, Redalyc, MDPI (Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales), PLOS (Public Library of Science), JAFIC (Journal of Health Sciences), BJPS (Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences), y Medicinal Chemistry Research, con los términos "CRISPER-Cas9", "Molecular Biology CRISPER-Cas9", "Inmunidad adaptativa", "ARNcr", "Edición de genes CRISPER-Cas9". Los criterios de inclusión fueron: Estudios, revisiones o ensayos que incluyan alguno de los términos claves. Se hallaron un total de 86.800 resultados de los cuales se seleccionaron los artículos más recientes y cuyos resultados permitían cumplir los objetivos propuestos, en esta revisión. La búsqueda se realizó en base de datos, en español e inglés se siguieron las pautas internacionales de Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA). Las citas referenciadas a lo largo del texto y la bibliografía final se implementaron utilizando el gestor bibliográfico Mendeley.

RESULTADOS.

Considerando que la edición de genes está asociada con líneas somáticas y no germinales se tiene la seguridad de no alterar el acervo genético para generaciones futuras. Con fines terapéuticos las células somáticas son donde se encuentra la mayor necesidad de editar y corregir ADN, además del creciente avance en las técnicas CRISPER, la nueva tecnología de CRISPR-Cas9 permite dirigir terapias personalizadas.

La edición del genoma ofrece soluciones prometedoras para los trastornos genéticos mediante la edición de secuencias de ADN o la modulación de la expresión génica. La tecnología de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR)/proteína asociada 9 (CRISPR/Cas9) se puede utilizar para editar

genes únicos o múltiples en una amplia variedad de tipos de células y organismos in vitro e in vivo (Wang et al., 2017).

El sistema CRISPR-Cas9 ha sido prometedor como herramienta para corregir mutaciones genéticas en enfermedades que incluyen trastornos sanguíneos y degeneración muscular, así como enfermedades neurológicas, cardiovasculares, renales, genéticas, de células madre y ópticas (Bhattacharjee et al., 2022).

Guía de entrevista aplicada a los profesores del claustro de la carrera de medicina sobre la importancia percibida por los docentes respecto a las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el pregrado:

Estimado docente, para conocer su criterio a cerca de la importancia que usted les otorga a las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el pregrado, le agradecemos nos ayude con la respuesta a las siguientes preguntas:

1. ¿Considera que es relevante el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado?
2. ¿Es conveniente profundizar el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado o en el postgrado?
3. ¿Cuáles son las aplicaciones en salud de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS que usted conoce?

Gracias por su colaboración

Tamaño de muestra: en este caso se decidió aplicar la entrevista a todos los docentes ya que el número no era muy elevado.

Pregunta 1. - ¿Considera que es relevante el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado?

Tabla 1. Respuesta a la pregunta 1 del cuestionario propuesto

Alternativas	Número de Entrevistados	Porcentaje
Si	21	
No	0	
Medianamente	2	
Total	23	100%

Fuente: Elaboración propia.

El 91% de los entrevistados consideran que es relevante el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado, el 9% piensa que es medianamente importante y ninguno de los entrevistados considera que no es importante.

Pregunta 2. - ¿Es conveniente profundizar el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado o en el postgrado?

Tabla 2. Respuesta a la pregunta 2 del cuestionario propuesto

Alternativas	Número de Entrevistados	Porcentaje
Pregrado	18	78%
Postgrado	5	22%
	23	100%

Como se aprecia la mayoría de los entrevistados, un 78% piensa que es conveniente profundizar el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado y solo el 22% encuentra que es pertinente profundizar en el tema en el postgrado con mayor intencionalidad.

Pregunta 3. - ¿Cuáles son las aplicaciones en salud de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS que usted conoce?

Los docentes respondieron lo siguiente:

- En la terapéutica anticáncer
- En la detección de SARS-CoV-2
- En la identificación de ARN viral

A través de la investigación se ha determinado las diferentes líneas de aplicación en salud de las técnicas de edición genómica a través de CRISPER-CAS, las que se detallan a continuación:

1.- Edición terapéutica en trastornos hepáticos

La enfermedad hepática, en particular la hepatitis viral y el carcinoma hepatocelular (HCC), es una carga de atención médica mundial y provoca más de 2 millones de muertes por año en todo el mundo. A pesar de cierto éxito en el diagnóstico y el desarrollo de vacunas, aún existen necesidades insatisfechas para mejorar el diagnóstico y la terapia para la hepatitis viral y el CHC (Kong et al., 2021). Recientemente, los sistemas asociados a repeticiones palindrómicas cortas (CRISPR) (CRISPR-Cas) agrupados, regularmente interespaciados, se han

aprovechado como una herramienta terapéutica para tratar trastornos hepáticos genéticos y no genéticos (Xu et al., 2022).

También se considera las importantes aplicaciones de la tecnología de CRISPR en el diagnóstico de hepatitis virales, ya que permite la selección y edición precisas de genes, puede detectar ácidos nucleicos patógenos, hasta la fecha, se han diseñado muchos sistemas de diagnóstico CRISPR sensibles, y estos también podrían usarse potencialmente para la detección temprana de hepatitis viral y HCC (carcinoma hepatocelular). (Kong et al., 2021)

2.- CRISPER/CAS en terapéutica anticáncer

CRISPR/Cas9 se emplea con más frecuencia en la investigación del cáncer, ya que el efecto original fuera del objetivo se ha debilitado durante su transformación e innovación. (X. Wu et al., 2020). El control de la expresión de los factores de transcripción a través de la edición de genes permite que las células T CD8 + permanezcan funcionales y destruyan eficazmente las células tumorales. Por otro lado, la edición de genes se puede utilizar para restaurar las funciones agotadas de las células T CD8 + eliminando los receptores inhibidores o revirtiendo la señalización de los receptores inhibidores. El receptor inhibitorio más estudiado es el PD-1. Eliminando PD-1 en CD8 + Se demostró que las células T con el sistema CRISPR/Cas9 tienen efectos antitumorales en varios estudios preclínicos y clínicos, incluidos estudios sobre cánceres como el melanoma, el glioblastoma, el cáncer de ovario, el cáncer de próstata, el linfoma de células B, el cáncer gástrico y el cáncer de mama (Liu et al., 2022).

El cáncer de mama (CM) es el segundo cáncer más comúnmente diagnosticado en el mundo. El uso del sistema CRISPR/Cas9 ofrece un enfoque rápido para la modificación dirigida de loci endógenos, superando las limitaciones de los otros métodos mencionados anteriormente. Existen grandes avances en la aplicación de **CRISPER/CAS en cáncer de pulmón**, hay grupos de investigación que están haciendo estudios clínicos en pacientes con buenos resultados (Liu et al., 2022). La tecnología CRISPR-Cas9 abrió una nueva era de la biotecnología con la edición genética precisa de cualquier célula. Investigadores chinos inyectaron linfocitos genéticamente modificados como una estrategia terapéutica para eliminar células malignas del pulmón mediante el sistema inmune. Para ese propósito, el gen PDCD1 se inactivó con CRISPR-Cas9, lo que podría ser más efectivo que el bloqueo con inmunoterapia del producto de este gen (Feria Díaz et al., 2021).

3.- CRISPER/Cas en Investigación de Productos Naturales de Plantas:

Las herramientas de edición CRISPR/Cas se han empleado principalmente en plantas de cultivo en relación con el rendimiento y la tolerancia al estrés. Sin embargo, el inmenso potencial de esta tecnología aún no se ha utilizado completamente en plantas medicinales para descifrar o modular vías metabólicas secundarias que producen fitoquímicos terapéuticamente activos contra el cáncer y otras enfermedades (Dey & Nandy, 2021).

4.- CRISPR en la detección de SARS-CoV-2

Durante la presente pandemia, se ha demostrado la utilidad del diagnóstico molecular de virus sars-CoV-2 mediante la prueba de rt-pcr7 cuantitativa. Esta prueba ha permitido no sólo diagnosticar a los pacientes contagiados, sino llevar un control del número de infecciones y su distribución, para poder llevar a cabo las medidas de salud pública requeridas. Sin embargo, esta prueba tiene dos problemas principales: el costo y el tiempo requerido para realizarla. Con el fin de buscar alternativas, varios grupos de investigación han probado otras estrategias para solventar este problema, lo que ha llevado al uso de la técnica de crispr-Cas para detectar el virus de sars-CoV-2 (Melendez-Zajgla et al., 2021).

5.- CRISPER CAS y dianas terapéuticas

Debido a la precisión en cortes sitio-específicos, el sistema CRISPR/Cas es una gran alternativa para los métodos clásicos de la edición genómica dirigida. Aunque el objetivo original del sistema es el silenciamiento de secuencias, ciertas modificaciones han permitido adaptarlo para insertar, eliminar o generar mutaciones en las secuencias (Velasco Martín, 2021).

6.- CRISPER-Cas en diabetes mellitus 2

La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza por ser una enfermedad crónica de naturaleza progresiva, con un estado de hiperglicemia y grados variables de deficiencia y resistencia a la insulina. En esta patología la educación y el apoyo para el autocontrol de la diabetes son críticos para prevenir complicaciones agudas y reducir el riesgo de complicaciones a largo plazo (Naranjo et al., 2021).

7.- CRISPER CAS en células madre

CRISPR/Cas9 también puede procesar ingeniería genética en células madre humana o células madre pluripotentes inducidas (iPSC). Las células madre pluripotentes procesadas por CRISPR/Cas9 todavía poseen pluripotencia a través de la observación de formaciones similares

a órganos en cultivos celulares. Por lo tanto, las iPSC derivadas de pacientes pueden modificarse e inducirse a la diferenciación de las células deseadas *in vitro*. Se ha confirmado que esta teoría es efectiva tanto en iPSC de pacientes con β -talasemia como en pacientes con DMD. En el tratamiento del HCC, CRISPR/Cas9 puede editar genéticamente células madre pluripotentes humanas y promover la diferenciación de células madre pluripotentes en células inmunitarias, como las células asesinas naturales. En combinación con la terapia génica CAR-T, mejorará el efecto de destrucción inmunitaria de las células tumorales después del trasplante autólogo (Xu et al., 2022).

En el ámbito de las aplicaciones CRISPR, *in vitro*, las culturas ofrecen posibilidades experimentales de mayor rendimiento, con un acceso más fácil y en un entorno más simple. Es importante destacar que permiten una configuración más controlada: se pueden introducir y seleccionar mutaciones precisas mediante la modulación de moléculas de señalización en la composición del medio. Los clones específicos pueden seleccionarse fácilmente para detectar las mutaciones deseadas y, posteriormente, expandirse en líneas clonales, lo que no es posible en modelos animales (Hendriks et al., 2020).

8.- CRISPR CAS en trasplante de órganos

Las nuevas tecnologías emergentes están cambiando rápidamente los enfoques convencionales. En teoría, la edición CRISPR de células madre humanas *in vitro* con su posterior trasplante *in vivo* evita en gran medida los problemas de entrega que también permiten la edición utilizando proteínas de mayor tamaño, como BE y PE. Además, las respuestas inmunitarias pueden evitarse en gran medida y, además, los genotipos antes del trasplante pueden controlarse cuidadosamente (Hendriks et al., 2020).

En el campo de los trasplantes, esta tecnología se ha explorado principalmente por su potencial para facilitar la creación de cerdos genéticamente modificados con una mayor compatibilidad con humanos para mejorar la supervivencia de xenoinjertos porcinos en humanos. Los avances recientes en CRISPR/Cas9 son muy prometedores para superar estas barreras al disminuir la xenogeneidad de los órganos porcinos y aumentar su compatibilidad fisiológica con los humanos (Dangi et al., 2019).

9.- CRISPR CAS en regeneración del riñón

El uso de CRISPR en especies domésticas grandes, como los cerdos, plantea la posibilidad de criar riñones para trasplante para paliar la escasez de órganos de donantes. Sin embargo, quedan desafíos importantes, incluido cómo administrar CRISPR de manera efectiva a los

riñones y cómo controlar los eventos de edición de genes dentro del genoma (Cruz & Freedman, 2018).

Las técnicas CRISPR se están estableciendo como excelentes modelos experimentales para elucidar mecanismos moleculares y bioquímicos, “Los organoides renales junto con CRISPR también se han utilizado para estudiar enfermedades y desarrollo. Mientras que los organoides de pacientes con enfermedad renal poliquística autosómica recesiva se sometieron a cigotogénesis tras la estimulación con AMPc, los organoides corregidos por mutación de PKHD1 mostraron formación de quistes marginales, que se asemejan a los organoides renales de tipo salvaje. En un enfoque inverso, se modeló la misma enfermedad a través de la desactivación de PKD1 o PKD2 en organoides de riñón derivados de ESC. En un nivel más mecánico, la eliminación de podocalyxin (PODXL) reveló su papel e importancia en el desarrollo adecuado de los podocitos”(Hendriks et al., 2020).

7.- CRISPR-Cas en modificación genética humana

Probablemente no sea exagerado decir que, con CRISPR-Cas9 y los desarrollos que se están llevando a cabo para mejorar la edición genética, estamos irrumpiendo en una nueva etapa en la historia del dominio del ser humano sobre la vida. Las aplicaciones de ese dominio alcanzan a todas las formas de vida. Nadie duda de que la edición genética puede contribuir a mejorar sustancialmente la salud y las condiciones de vida de las personas así como el medio ambiente (Capella, 2016).

El mejoramiento genético, se puede definir como la modificación del material genético en orden a perfeccionar el individuo humano, confiriéndole características específicas. Este mejoramiento puede darse en dos direcciones: i) En dirección del mejoramiento de las características biológicas ya existentes en el individuo; ii) En la de conferir particularidades adicionales a la especie humana. La terapia génica se define fundamentalmente por su intención terapéutica. Es decir, se trata de una terapia orientada a prevenir o tratar enfermedades hereditarias y/o adquiridas, a través de la transferencia de material genético a células del paciente. Se piense, por ejemplo, en modificaciones de material genético que permiten desarrollar resistencia a enfermedades o virus (Cruz & Freedman, 2018).

8.- CRISPR-Cas en la identificación de ARN viral

Hacia la aplicación de CRISPR-Cas12a en el diseño de herramientas modernas de detección de ADN viral. Los sensores de ADN basados en la tecnología CRISPR-Cas12a para la detección rápida, robusta, sensible, económica y selectiva del ADN del virus sin purificación

adicional de la muestra, amplificación, etiquetado con agente fluorescente y/o extintor son relevantes y cada vez más importantes en la industria. y aplicaciones médicas.

Las diferencias entre sus mecanismos han revolucionado el campo del diagnóstico molecular, dado a que es posible utilizarlas para detectar no sólo virus y bacterias, sino también enfermedades no infecciosas como el cáncer (Mallen Huertas, 2021).

Ética en la edición de genes

El uso de las técnicas de edición de genes ha generado serios debates éticos, así como económicos por la implicación de patentes para proteger la investigación, sin embargo, es necesario normar y generar políticas de salud en la temática del uso adecuado de CRISPER-CAS.

Si bien se agradecen las consideraciones sobre los usos éticos de las tecnologías de edición de genes, es al menos igual de importante, y éticamente relevante, considerar también el poderoso potencial de la edición de genes en general, y CRISPR-Cas9 en particular, para tratar a los millones de pacientes. Que se ven afectados por una serie de enfermedades muy graves (Riveros-Maidana et al., 2020).

Sin embargo, incluso si los padres y sus médicos están de acuerdo en que es deseable evitar las enfermedades genéticas hereditarias en las generaciones actuales y futuras, ya existen varias formas de lograr este resultado. Las parejas pueden realizar pruebas genéticas antes del embarazo, o emplear la fertilización in vitro y el diagnóstico genético previo a la implantación para implantar solo aquellos embriones que se sabe que no están en riesgo de una enfermedad específica. Algunos han defendido la edición del genoma de la línea germinal “en el caso extremadamente raro de que uno de los padres sea homocigoto para un trastorno dominante [de modo que todos los descendientes hereden uno de los genes dominantes asociados a la enfermedad] o ambos padres sean homocigotos para un trastorno recesivo” (de modo que todos la descendencia hereda dos copias de los genes recesivos asociados a la enfermedad, uno de cada padre) (Xu et al., 2022).

Los dos riesgos que más frecuentemente se mencionan con relación a la edición genética son la eugenesia (utilizar la edición genética para seleccionar características de los seres humanos) o la inseguridad de esta práctica (bien por desconocimiento de los efectos no deseados que pudieran derivarse de ella, o bien por el uso maligno que se haga con ella). Mucha menor atención se ha prestado a los que tienen que ver con el medio ambiente, el incremento de las desigualdades sociales, el cambio

de percepción del ser humano sobre sí mismo o sobre la naturaleza, o la fusión de material genético humano y animal. En lo que sigue únicamente me voy a referir a la cuestión acerca de los problemas éticos de la edición genética de la línea germinal humana (EGLGH) porque es la más grave de las que plantea la edición genética. Precisamente por ello está siendo objeto de un intenso debate en estos momentos (Capella, 2016).

DISCUSIÓN.

La implicación ética del uso de las técnicas CRISPER en la edición de genes además de las normativas legales median el adecuado uso y aplicación en salud de forma tal que las investigaciones promuevan el beneficio y mejor calidad de vida y no solo generar impacto investigativo, se debe precautelar las consecuencias de mala praxis, es decir que aún hay lo que debatir referente a la seguridad de estas técnicas ya que un gen puede tener diferentes ARNs mensajeros que pueden estar codificando diferentes funciones al respecto corregir alguna deficiencia puede dar origen a otros problemas de salud.

Las entidades regulatorias en los diferentes países han tomado medidas en el asunto, al respecto se menciona sobre: El desafío de desarrollar medicamentos basados en CRISPR-Cas para pacientes, por lo tanto, no es permitir la modificación del ADN en las células de la línea germinal, sino aplicar el marco regulatorio actual de modificación de genes de células somáticas a los medicamentos basados en CRISPR-Cas. Las guías de la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) y las guías de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) ya brindan recomendaciones para la fabricación, la evaluación pre-clínica, la evaluación clínica y la aprobación de productos para medicamentos de terapia avanzada (ATMP) y productos de terapia celular y génica (Hendriks et al., 2020).

Algunas investigaciones plantean que los loci CRISPR contrarrestan múltiples rutas de transferencia horizontal de genes (HGT) y pueden limitar la propagación de la resistencia a los antibióticos en bacterias patógenas, fagos, confiriendo inmunidad dirigida por secuencias contra los fagos. Dados los crecientes avances y aplicaciones de CRISPER, se hace necesario una regulación bioética en torno a los diferentes productos que se obtienen, es importante señalar que entre las principales líneas de investigación se encuentra el aumento de la eficiencia y la disminución de los efectos off-target. Las principales estrategias para la reducción de off-targets incluyen modificaciones en el tamaño del sgARN, el empleo de RNP y la modificación de la proteína Cas (mutaciones puntuales, nicasas apareadas y nicasas dimerizadas) y de su concentración. Por otro lado, la mayoría de las investigaciones

emplean el silenciamiento de genes mediante la reparación por NHEJ, mientras que la mutagénesis dirigida a través de RH resulta un desafío por su baja probabilidad de ocurrencia en plantas y las dificultades para la transferencia de sus componentes al núcleo.

Los métodos de detección de CRISPER que se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tienden a subestimar la frecuencia de la actividad en el objetivo porque no se detectan deleciones grandes que se extienden más allá de los límites del amplicón de PCR y las inserciones grandes se amplifican de manera menos eficiente que las mutaciones pequeñas. (en todo caso) y, por lo tanto, es menos probable que se identifiquen. Esto tiende a no ser un problema crítico cuando se usa un solo gRNA porque los indeles pequeños son mucho más comunes que las deleciones o inserciones grandes, pero los indeles más grandes surgen con mayor frecuencia cuando dos gRNA se diseñan para apuntar a sitios en el mismo cromosoma. Lo evidente en ello es que la aplicación de estas técnicas para elaborar medicamentos deberá pasar todos los protocolos de aprobación previa a su aplicación es decir que los estudios clínicos deberán sustentar la seguridad de uso.

Además de la generación de mutaciones indeseadas, una de las limitaciones más importantes del sistema CRISPR/Cas es la ausencia de métodos eficaces para transportar al sistema dentro de las células de interés. En primera instancia, el transporte seguro y eficiente de los componentes de CRISPR/Cas al medio celular debe optimizarse, ya que al parecer es altamente dependiente del tipo de célula u organismo en el cual va a usarse. Hasta el momento se ha probado con el uso de sistemas virales y no virales, pero todos ellos presentan en mayor o menor medida ciertas consideraciones, tales como el aumento de frecuencia de mutagénesis aleatoria, activación o silenciamiento de loci adyacentes a los del sitio blanco, activaciones oncogénicas e, incluso, barreras celulares que obstaculizan la acción del sistema CRISPR/Cas (Bhattacharjee et al., 2022).

CONCLUSIONES.

La realización de la investigación permitió arribar a las conclusiones siguientes:

La mayoría de los docentes entrevistados refieren que resulta importante el estudio de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS y sus aplicaciones en salud en el programa de estudio de pregrado y que resulta más pertinente en esta enseñanza que en el postgrado.

Se conocieron las aplicaciones que son más populares entre los docentes entrevistados de las investigaciones sobre bases moleculares de CRISPER-CAS, así como se investigaron con mayor profundidad, las que aparecen en la literatura científica.

Las repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR)/Proteína 9 asociada a CRISPR (CRISPR/Cas9) reciben una sabia atención debido a su potencial en aplicaciones biomédicas y terapéuticas

Las aplicaciones de CRISPR-Cas son amplias: esta herramienta se podrá utilizar para regular la expresión génica, etiquetar sitios específicos del genoma en células vivas, identificar y modificar funciones de genes y corregir genes defectuosos.

Se está utilizando para crear modelos de animales para estudiar enfermedades complejas como la esquizofrenia, para las que antes no existían modelos animales.

Debe existir regulación nacional e internacional por las entidades competentes en la temática para evitar que estas prácticas alteren el genoma humano o se desarrollen investigaciones que escapen del control y lo más importante se promueva el respeto a la vida a través de comités de ética.

Es importante considerar algunos efectos no deseados de la técnica CRISPR que limitan su aplicación pero que a nivel investigativo se busca solventar esas falencias con protocolos experimentales más robustos.

La aplicación clínica de CRISPR/Cas demanda exhaustivos estudios y protocolos validados en cuanto a seguridad, eficacia y especificidad considerando los peligros de respuesta inmunitaria inversa, así como la posible ineficiencia de edición.

Aunque el efecto fuera del objetivo y la inmunogenicidad podrían comprometer la eficacia de la edición de genes, estos pueden resolverse con la ayuda de otros enfoques de ingeniería.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bhattacharjee, G., Gohil, N., Khambhati, K., Mani, I., Maurya, R., Karapurkar, J. K., Gohil, J., Chu, D.-T., Vu-Thi, H., & Alzahrani, K. J. (2022). Current approaches in CRISPR-Cas9 mediated gene editing for biomedical and therapeutic applications. *Journal of Controlled Release* 343(march), 703-723. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.02.005>

- Capella, V. B. (2016). La revolución de la edición genética mediante crispr-cas 9 y los desafíos éticos y regulatorios que comporta. *Cuadernos de bioética*, 27(2), 223-239. <https://www.redalyc.org/pdf/875/87546953009.pdf>
- Cruz, N. M., & Freedman, B. S. (2018). CRISPR gene editing in the kidney. *American Journal of Kidney Diseases*, 71(6), 874-883. <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2018.02.347>
- Dangi, A., Yu, S., & Luo, X. (2019). Emerging approaches and technologies in transplantation: the potential game changers. *Cellular & molecular immunology*, 16(4), 334-342. <https://www.nature.com/articles/s41423-019-0207-3>
- Dey, A., & Nandy, S. (2021). CRISPR/Cas in plant natural product research: therapeutics as anticancer and other drug candidates and recent patents. *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 16(4), 460-468. <https://doi.org/10.2174/1574892816666210706155602>
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096. <https://doi.org/DOI:10.1126/science.1258096>
- Fadol, Y., Aldamen, H., & Saadullah, S. (2018). A comparative analysis of flipped, online and traditional teaching: A case of female Middle Eastern management students. *The International Journal of Management Education*, 16(2), 266-280.
- Feria Díaz, G. E., González Benítez, S. N., & Miguel Cruz, M. A. (2021). Genes involucrados en el cáncer pulmonar. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 40(2), e1189. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000300018
- Hendriks, D., Clevers, H., & Artegiani, B. (2020). CRISPR-Cas tools and their application in genetic engineering of human stem cells and organoids. *Cell Stem Cell*, 27(5), 705-731. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.014>
- Kong, H., Ju, E., Yi, K., Xu, W., Lao, Y. H., Cheng, D., Zhang, Q., Tao, Y., Li, M., & Ding, J. (2021). Advanced nanotheranostics of CRISPR/Cas for viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Advanced Science*, 8(24), 2102051. <https://doi.org/10.1002/advs.202102051>
- Liu, K., Cui, J.-J., Zhan, Y., Ouyang, Q.-Y., Lu, Q.-S., Yang, D.-H., Li, X.-P., & Yin, J.-Y. (2022). Reprogramming the tumor microenvironment by genome editing for precision cancer therapy. *Molecular Cancer*, 21(1), 1-23. <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-022-01561-5>
- Mallen Huertas, L. (2021). *Mecanismos de acción de las proteínas Acr y su papel en la regulación de los sistemas CRISPR* [Pregrado, Universidad de Alicante]. [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/116136/1/Mecanismos de accion de las proteínas Acr y su papel en Mallen Huertas Lucia.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/116136/1/Mecanismos%20de%20accion%20de%20las%20proteinas%20Acr%20y%20su%20papel%20en%20Mallen%20Huertas%20Lucia.pdf)
- Melendez-Zajgla, J., Rueda-Zarazúa, B., Garcia-Venzor, A., & Maldonado, V. (2021). CRISPR-Cas: la nueva herramienta para diagnosticar enfermedades infecciosas. *Revista Digital Universitaria*, 22(5), 1-8. <http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2021.22.5.8>
- Mendieta, G. N., & García, R. C. M. (2018). Las tic y la educación ecuatoriana en tiempos de internet: breve análisis. *Espirales revista multidisciplinaria de investigación*, 2(15), 123-136. <https://docplayer.es/90026951-Las-tic-y-la-educacion-ecuatoriana-en-tiempos-de-internet-breve-analisis.html>
- Naranjo, E. G. B., Campos, G. F. C., & Fallas, Y. M. G. (2021). Insulinización práctica en la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Médica Sinergia*, 6(01), 1-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.31434/rms.v6i1.628>
- Riveros-Maidana, R., Méndez-Ferreira, A., Benítez-Candía, N., Nara-Pereira, E., & Fernández-Ríos, D. (2020). Sistema CRISPR/Cas: Edición genómica de precisión. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 18(1), 97-107. <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v18n1/1812-9528-iics-18-01-97.pdf>
- Velasco Martín, L. (2021). *Sistemas de edición génica en células eucariotas* [Tesis de Pregrado, Universidad de Valladolid]. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/47657/TFG-M2211.pdf?sequence=1>
- Wang, H.-X., Li, M., Lee, C. M., Chakraborty, S., Kim, H.-W., Bao, G., & Leong, K. W. (2017). CRISPR/Cas9-based genome editing for disease modeling and therapy: challenges and opportunities for nonviral delivery. *Chemical reviews*, 117(15), 9874-9906. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00799>
- Watanabe, E. H., Lima, F. K. D., daSilva Dias, R. F., Aredes, M., Barbosa, P. G., Barcelos, S. L. L., & Santos Jr, G. (2018). Flexible AC transmission systems. In *Power Electronics Handbook* (pp. 885-909). Butterworth-Heinemann.
- Xu, X., Tang, H., Guo, J., Xin, H., & Ping, Y. (2022). A dual-specific CRISPR-Cas nanosystem for precision therapeutic editing of liver disorders. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 269. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01071-2>