

Recibido: 28.08.2022 • Aceptado: 02.12.2024

Palabras clave: Investigación, Veterinaria, Genética.

Sistema **CRISPR** y su aplicación en medicina veterinaria

LUIS OSCAR TOVAR GAMBOA

A301252@alumnos.uaslp.mx

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA, UASLP

DELIA XOCHIL VEGA MANRÍQUEZ

xochitl.vega@uaslp.mx

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA, UASLP

FERNANDO ALBERTO MUÑOZ TENERÍA

fernando.munoz@uaslp.mx

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA, UASLP



Existen virus capaces de infectar a las bacterias, forzándolas a evolucionar para protegerse. Con este fin desarrollaron el sistema CRISPR- Cas, que consiste en almacenar pequeñas copias de genes virales que antes han infectado a la bacteria, para así identificarlos e inactivarlos en una infección posterior. Esta capacidad de alterar genes específicos se ha convertido en una herramienta de edición genética para los científicos, dando lugar a investigaciones que buscan combatir el cáncer, así como las enfermedades infecciosas y degenerativas en la medicina veterinaria.

La manipulación genética de los seres vivos es un tema recurrente en las ciencias biológicas. Dentro de la ciencia ficción, podemos encontrar innumerables historias que se nutren del conocimiento derivado de esta tecnología para crear narrativas. Ejemplo de ello son las jerarquías preestablecidas desde el genoma en la distopía *Un mundo feliz*, de Aldous Huxley, así como los clones de la saga *Star Wars*. Sin embargo, la manipulación genética trasciende la simple ciencia ficción, ya que forma parte de la historia de la humanidad, tanto pasada como actual.

Desde tiempos remotos, el ser humano ha modificado la genética de plantas y animales mediante la selección artificial. Un ejemplo de ello fue el caso del lobo gris donde. Según el doctor Xavier Manteca Villanova, en su libro *Etología Veterinaria*, al seleccionar a los individuos más dóciles gradualmente se logró su domesticación, dando origen al perro doméstico. En el caso de las plantas, los pueblos originarios de Mesoamérica llevaron a cabo la selección de semillas de teosinte, predecesor silvestre del maíz, lo que permitió desarrollar una mazorca con granos más grandes, numerosos y un mayor contenido energético. A pesar de ser algo que el ser humano ha practicado desde las primeras civilizaciones, en las últimas décadas la manipulación genética ha avanzado de manera exponencial gracias a los avances en la biología molecular, como el descubrimiento de la estructura del ADN, el desarrollo de técnicas moleculares como la secuenciación y la amplificación en cadena de la polimerasa (PCR), clonación y otros grandes avances en la genética molecular.

En los últimos tiempos ha cobrado relevancia la técnica conocida como sistema de repeticiones palindrómicas repetidas apareadas (CRISPR, por sus siglas en inglés). Este descubrimiento tiene su origen en 1987, cuando se observó que ciertas bacterias contenían en su genoma secuencias repetitivas de ADN, utilizadas para identificar y diferenciar especies y cepas bacterianas. Posteriormente, se descubrió que estas secuencias eran homólogas a las de algunos virus que infectan bacterias, lo que les confería protección contra aquellos virus con secuencias similares. Su función consiste en generar una memoria inmunológica que protege a las bacterias contra futuras infecciones virales.

Sistema CRISPR-Cas9 en bacterias

El mecanismo mediante el cual las bacterias utilizan el sistema CRISPR se basa en lo que ocurre durante una primera infección. Cuando el virus inyecta su material genético en la bacteria, esto puede derivar en una replicación viral y la posterior destrucción de la célula bacteriana. Sin embargo, las bacterias pueden evitar la replicación viral utilizando el sistema CRISPR-Cas9 para identificar el material genético del virus, cortarlo e integrar fragmentos virales en regiones específicas de su genoma, conformadas por secuencias repetitivas que contienen fragmentos de ADN viral intercalados con espaciadores, denominadas CRISPR. Este mecanismo puede heredarse, generando así una "memoria inmunológica". Una vez que la bacteria es nuevamente infectada por el virus, la información guardada en el sistema CRISPR permite generar una copia de ARN homóloga a

los fragmentos del genoma viral. Esto permite la unión al material genético del virus infectante y activa las proteínas Cas, que cortan e inactivan el material viral.

Sistema CRISPR-Cas9 en la edición genética

Los investigadores, al estudiar el mecanismo descrito anteriormente, pensaron que podría tener una gran utilidad para la edición genética. Dado que el sistema CRISPR-Cas9 tiene la capacidad de reconocer y cortar genes específicos, se dedujo que puede utilizarse para eliminar, inactivar, sustituir o insertar genes específicos de interés con un grado de precisión nunca antes logrado.

Además, esta tecnología tiene la ventaja de ser relativamente económica, lo que permite llevar a cabo los experimentos con un menor presupuesto, en comparación con el requerido para otras técnicas de manipulación genética. Esto ha permitido a científicos de todo el mundo realizar investigaciones relacionadas con la genética, incluyendo en el panorama mundial a equipos de investigación de países en vías de desarrollo, los cuales, en el pasado, no podían acceder al mismo grado de tecnificación que sus homólogos de países desarrollados.

Por supuesto, esta tecnología ha tenido una gran aceptación en diferentes áreas de las ciencias médicas y biológicas y la medicina veterinaria no se ha quedado atrás.

Edición genética para combatir enfermedades infecciosas

La prevención, control y tratamiento de enfermedades representan un prometedor uso de la edición genética.

La brucelosis es una enfermedad infecciosa que afecta a diversas especies domésticas, como los bovinos y caprinos. Se trata de una enfermedad zoonótica, lo que significa que los animales pueden transmitir e infectar al ser humano. Es causada por distintas especies del género *Brucella*, bacterias que poseen adaptaciones que les permiten vivir como patógenos intracelulares facultativos dentro de los macrófagos del sistema inmunológico. Esta enfermedad puede causar endocarditis, infertilidad, meningitis y abortos. Hasta la fecha, no existe una vacuna que prevenga de forma eficaz la brucelosis en humanos o animales; además, los tratamientos con antibióticos resultan costosos, con el riesgo de presentar reacciones adversas y, en México, la NOM-041-ZOO-1995 prohíbe dar tratamiento en animales destinados al consumo.

Investigadores de la Universidad de Thessaloniki, de Grecia, han desarrollado una técnica para combatir esta infección mediante la manipulación de los genes de la bacteria. A través de vectores lentivirales introducen el complejo CRISPR-Cas9 a las bacterias del género *Brucella*, de manera que las proteínas Cas se encargan de inactivar los genes de la célula que le confieren la capacidad de infectar al hospedador, permitiendo al organismo controlar la infección. Si bien, la terapia está aún en desarrollo, los investigadores sugieren que esta podría ser una alternativa para tratar no sólo la brucelosis, sino también otras infecciones bacterianas que atacan al sistema inmunológico de manera similar.

Otra enfermedad que podría ser combatida con ingeniería genética es la peste porcina africana. Se trata de una enfermedad viral con un alto grado de mortalidad y rápida propagación que afecta a más de 50 países al redor del mundo. A pesar de ser mortal para el cerdo doméstico, los jabalíes silvestres son naturalmente inmunes a la enfermedad. Al no haber una vacuna, un equipo del instituto Roslin de Edimburgo llevan a cabo investigaciones utilizando el complejo CRISPR-Cas9 para introducir en el genoma de los cerdos domésticos los genes que posee el jabalí y le confieran resistencia a esta enfermedad, lo cual podría significar un avance sin precedentes en su erradicación.

El papel de CRISPR-Cas9 en la obtención de biomodelos para combatir el cáncer

El cáncer es una enfermedad en la que los mecanismos de regulación del ciclo celular están alterados, lo que resulta en una proliferación celular descontrolada con capacidad invasiva, lo que da como consecuencia mutaciones en el ADN en las cuales se expresan los oncogenes mientras se inactivan aquellos genes encargados de regular el ciclo celular y suprimir tumores. Estas alteraciones en el genoma pueden ser consecuencia de procesos infecciosos, factores epigenéticos o heredarse genéticamente.

Una de las aplicaciones más importantes de la tecnología CRISPR en la investigación médica se da en la obtención de biomodelos animales, generados a partir de la modificación de genes relacionados al desarrollo de patologías específicas, lo que permite estudiar la patogenia de las enfermedades in vivo. En particular, en el caso del cáncer, las técnicas de edición genética basadas en

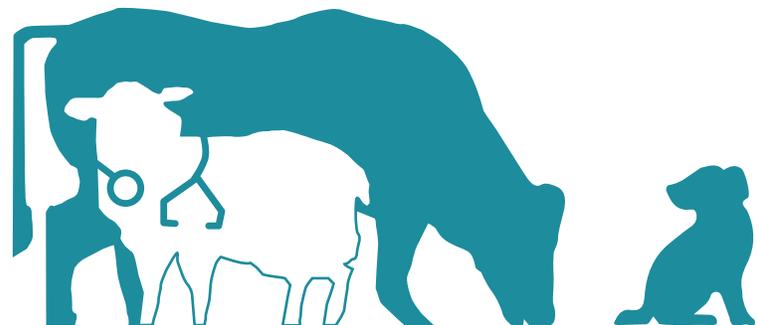
la tecnología CRISPR han ayudado a comprender a mayor profundidad, los mecanismos genéticos y moleculares in vivo.

Por lo tanto, identificar los genes relacionados al desarrollo del cáncer, así como estudiar los procesos de fisiología celular que estos genes alteran, son de vital importancia tanto para la prevención del cáncer como el desarrollo de tratamientos efectivos para combatirlo. Aunque la identificación y manipulación de estos genes ya era posible con las técnicas de biología molecular disponibles antes del desarrollo de la tecnología de edición genética CRISPR, estudiar la patogénesis del cáncer (desde la mutación inicial, la promoción y la progresión del tumor) era a base de procesos más complejos, lentos y costosos, que, además, tienen una precisión molecular mucho menor que la tecnología CRISPR.

Un ejemplo de lo anterior se dio en los laboratorios de Zhang y Sharp en una investigación que aplicó la tecnología CRISPR, en la cual participaron el MIT (Instituto Tecnológico de Massachusetts) y el Instituto Broad. En este trabajo, se estudió la dinámica de los genes KRAS, p53 y LKB1, previamente identificados como genes fundamentales involucrados en el adenocarcinoma pulmonar. Por medio de la transfección de ARN guía, específico de estos genes, en cultivos celulares y ratones, utilizando la técnica de CRISPR-Cas9, se inactivaron los tres genes en cuestión, dando como resultado el desarrollo de tumores en los tejidos estudiados, lo que permitió analizar y describir con mayor detalle la patogénesis de este tipo de cáncer. Esto es de la mayor relevancia, ya que estudiar la carcinogénesis con la participación de dos o más mutaciones había sido difícil por la limitación y baja precisión de las técnicas moleculares preexistentes que, al estudiar mutaciones de diversos genes involucrados, era común que se den mutaciones accidentales por la menor precisión, lo cual se evita al utilizar la tecnología CRISPR que posee una alta especificidad en la edición de genes.

La aplicación de esta tecnología, que ha permitido la obtención de nuevos biomodelos para la investigación oncológica, está proporcionando una comprensión cada vez mayor del cáncer, lo cual ha permitido mejorar sustancialmente los tratamientos existentes, así como el desarrollo de nuevos fármacos y enfoques terapéuticos de precisión.

La capacidad del sistema CRISPR para cortar fragmentos específicos de ADN, ha permitido que se utilice como herramienta de edición genética en microorganismos, plantas y animales



Estudiante del 9o. semestre de la licenciatura en médico veterinario zootecnista (MVZ) de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Miembro fundador del grupo de divulgación de Ciencia Acacia, que integra a estudiantes de las diferentes carreras de la Facultad de Agronomía y Veterinaria



CRISPR como tratamiento de enfermedades degenerativas

Las enfermedades degenerativas se caracterizan por una pérdida progresiva de algunas funciones y, generalmente, están relacionadas con mutaciones genéticas. Debido a su naturaleza, se consideran incurables, pues no existen tratamientos aprobados que hayan demostrado detener y revertir definitivamente su avance. Sin embargo, existen investigaciones en desarrollo para crear terapias más precisas y efectivas para estas enfermedades. Una de estas alternativas terapéuticas en desarrollo con la tecnología CRISPR se enfoca en la distrofia de Duchenne, una enfermedad degenerativa que provoca la pérdida de la función muscular del corazón y el sistema músculo esquelético. Es relativamente frecuente en los hombres y, al no tener cura conocida, es progresiva hasta la muerte del paciente. Es causada por una mutación en el gen llamado DMD, que, al ser expresado, da lugar a la producción de una proteína llamada distrofina, la cual juega un papel esencial en la integridad de la membrana de las células musculares.

En 2015, un grupo de investigación encontró que era posible revertir parcialmente la distrofia de Duchenne en ratones de distintas edades al corregir la mutación en el gen DMD, entre el 2 % y el 100 %, dando como resultado la síntesis de distrofina funcional en organismos vivos, tanto al aplicar el tratamiento de manera local como general. Posteriormente, en 2018 esta línea de investigación dio un avance muy significativo, ya que un equipo de la universidad de Texas logró revertir la enfermedad en un grupo de cachorros al inyectar este tratamiento basado en CRISPR al torrente sanguíneo. Esto fue un gran avance médico, pues fue la primera vez que se utilizó dicha técnica en animales domésticos, lo cual podría ser la antesala para poder iniciar los ensayos clínicos en humanos y lograr así que la distrofia de Duchenne ya no sea una enfermedad mortal e incurable.

Conclusión

La utilización de la edición genética mediante la tecnología CRISPR en las ciencias médicas ofrece un amplio abanico de posibilidades. En la medicina veterinaria, esta tecnología puede aplicarse a diversos campos, tales como la salud pública, al prevenir infecciones zoonóticas de importancia para la población humana debido a la mortalidad y morbilidad que ocasionan. También puede ser utilizada para contrarrestar enfermedades de importancia en la producción animal que tienen un efecto importante en la seguridad alimentaria de la población. Asimismo, otra área de la medicina veterinaria donde adquiere importancia la aplicación de CRISPR es al generar nuevos biomodelos que permitan estudiar con mayor precisión las enfermedades crónicas degenerativas y oncológicas. Y, por último, la aplicación de herramientas de edición genética a la medicina veterinaria permitirá que los animales domésticos puedan acceder a tratamientos efectivos para enfermedades que anteriormente derivaban en eutanasia. Todos estos avances contribuyen al trabajo del gremio veterinario en cuidar del bienestar animal y velar por la salud pública, previniendo la zoonosis. **LP**

Referencias bibliográficas:

- Karponi, G. (2019). Development of a CRISPR/Cas9 system against ruminant animal brucellosis. *BMC Veterinary Research*.
- Leonela Amoasii, J. C.-O.-R.-D. (2018). Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Science*, 86-91.
- Lillico, S. G. (2016). Mammalian interspecies substitution of immune modulatory alleles by genome editing. *Scientific Reports*.
- Montoliú, L. (2016). La revolución CRISPR también en la granja. *Profesión veterinaria*, 62-69.
- Randall J. Platt, S. C. (2014). CRISPR-Cas9 Knockin Mice for Genome Editing and Cancer Modeling. *Cell*, 440-455.