



DE LA TRANSGÉNESIS A LA EDICIÓN GÉNICA. APLICACIONES Y CONSIDERACIONES BIOÉTICAS

FROM TRANSGENESIS TO GENE EDITION. BIOETHICAL AND APPLIED CONSIDERATIONS

NICOLÁS JOUVE DE LA BARREDA

*Departamento de Biotecnología y Biomedicina,
Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares (Madrid), España.
nicolas.jouve@uah.es*

RESUMEN:

Palabras clave:

ADN, Edición genética, Organismos Modificados Genéticamente, OMGs, transgénesis, CRISPR–Cas9.

Recibido: 26/12/2019

Aceptado: 28/03/2020

La *transgénesis* constituye una parcela de la biotecnología consistente en la introducción de información genética no propia en el genoma de los seres vivos y al margen de los mecanismos del intercambio genético natural. Esto ha permitido abordar importantes aplicaciones en bacterias, animales y plantas con notables beneficios en las vertientes sanitaria, alimentaria y ambiental. Desde su origen, la obtención de los organismos modificados genéticamente (OMGs) suscitó una cierta polémica por la posible influencia negativa de estos organismos o de sus productos derivados para la salud y el medio-ambiente. Con el tiempo, las técnicas de modificación genética han mejorado dando paso a otras de mayor precisión, sencillez y seguridad. En la actualidad se utiliza ampliamente la técnica CRISPR–Cas9, que permite editar, modificar o eliminar secuencias específicas del ADN, con múltiples aplicaciones en los mismos campos de la transgénesis, pero con mayor simplicidad, seguridad y menor costo. En este trabajo, se presentan las principales técnicas, aplicaciones e implicaciones éticas de la utilización de estas técnicas y sus perspectivas en un mundo en continua evolución. Las bacterias para la obtención de productos de interés farmacológico, las nuevas variedades de plantas cultivadas de mayor producción, más resistencia a agentes limitantes de su crecimiento y mejor calidad nutricional y los animales domésticos modificados genéticamente, ofrecen un conjunto de ventajas necesarias para hacer frente a los desafíos globales que afectan a la vida de muchas personas en todo el mundo.

ABSTRACT:

Keywords:

DNA, Gene editing, Genetically Modified Organisms, GMOs, transgenesis, CRISPR–Cas9.

Transgenesis is a parcel of biotechnology that allows the introduction of genetic information not proper to the genome of living beings, apart from the mechanisms of natural genetic exchange. This made possible to address important applications in bacteria, animals and plants with significant benefits in health, food and environmental aspects. Since its origin, the production of genetically modified organisms (GMOs) caused some controversy due to the possible negative influence of these organisms or their derived products on health and the environment. Over time, genetic modification techniques have renewed, giving way to others of greater precision, simplicity and safety. Currently the CRISPR–Cas9 technique is widely used, which allows to edit, modify or eliminate specific DNA sequences, with multiple applications

in the same fields of transgenesis, but adding greater simplicity, security and lower cost. This work presents the main techniques, applications and ethical implications of using these methods and their perspectives in an ever-evolving world. The bacteria for obtaining products of pharmacological interest, new varieties of cultivated plants of higher production, more resistance to growth limiting agents and better nutritional quality and domestic animals modified genetically, offer a set of advantages needed to address the global challenges that affect the lives of many people around the world.

Introducción

De acuerdo con el Convenio sobre la diversidad biológica (CDB) de Río de Janeiro (1992) la Biotecnología se define como *toda aplicación tecnológica que utiliza sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos*. Dentro de este contexto se encuentra la *transgénesis*, que se puede considerar como la modificación deliberada del genoma de un organismo al margen de los mecanismos naturales de intercambio genético, para dotarle constitutivamente de unas propiedades de las que carecía y que además sean heredables¹. La transgénesis fue utilizada por primera vez en bacterias en los años setenta cuando mediante técnicas de ingeniería genética Chang y Cohen introdujeron genes de un estafilococo en el bacilo del colon². En febrero de 1975 se reunieron en el centro de conferencias de la ciudad californiana de Asilomar más de cien científicos, entre los que se encontraban los más importantes contribuyentes a los avances de la Biología Molecular y varios premios Nobel, para analizar los riesgos de los experimentos de modificación genética en las bacterias en que se aplicaba esta tecnología en sus comienzos. En dicha reunión se decidió el establecimiento de una moratoria, a la que se obligaban todos los científicos, con una atención especial al diseño experimental y los riesgos potenciales de una tecnología aún no segura³. Una

vez mejoradas las dificultades técnicas y las medidas de seguridad se produjo una expansión de la transgénesis a otros organismos.

La obtención de un Organismo Modificado Genéticamente –OMG–, constituye una parcela muy especial de la Biotecnología ya que se trata de alcanzar productos o bienes derivados de los microbios, plantas o animales, que no se podrían obtener por los métodos convencionales de cruzamiento y selección. De lo que se trata es de introducir un cambio en la información genética de un ser vivo con el fin de eliminar un carácter negativo o dotarle de un rasgo del que carece. Al organismo modificado de esta forma se le denomina *transgénico* y a los productos derivados del mismo se les aplica igualmente el apelativo de transgénicos. Normalmente se distingue entre *autotransgénesis*, cuando el donante y el receptor son de la misma especie, y *alotransgénesis*, si el donante y el receptor pertenecen a diferentes especies, siendo este último modo de operar el que mayor interés suscita en sus aplicaciones y en el debate bioético. La obtención de un OMG supone la preparación de un *transgén*, mediante la recombinación de ácidos nucleicos (fundamentalmente ADN) in vitro, seguida de su introducción en las células del organismo a modificar.

Desde las primeras aplicaciones de la transgénesis, instituciones como la OMS y la FAO han propuesto la necesidad de armonizar medidas internacionales para evaluar los riesgos y la seguridad de los productos procedentes de la Biotecnología, en especial en la alimentación humana y el ambiente. Estas mismas medidas se dirigen ahora a las nuevas aplicaciones de la tecnología de la edición genómica, CRISPR-Cas9⁴.

1 Definición en. World Health Organization, 2016, [publicación en línea] http://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-technology/faq-genetically-modified-food/en/

2 Chang, A. C. Y., Cohen, S. N. «Genome construction between bacterial species in vitro: replication and expression of *Staphylococcus* plasmid genes in *Escherichia coli*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71 (4), (1974).1030–1034.

3 Berg, P., Baltimore, D., Brenner, S., Roblin III, R.O., Singer, M.F. «Summary Statement of the Asilomar Conference on Recombinant DNA Molecules». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72 (6), (1975), 1981–1984.

4 Wolt, J.D. «Current risk assessment approaches for environmental and food and feed safety assessment». *Transgenic Res.* 28, (2019), 111–117.

Obtención de los OMG

El procedimiento básico para incorporar al genoma receptor un gen extraño o una región de ADN, parte de su aislamiento a partir del ADN del organismo donante. A continuación, se procede a su inserción en una molécula de replicación autónoma –clonación–, por ejemplo, un plásmido bacteriano, con el fin de su mantenimiento y manejo en el laboratorio. Una vez clonado el transgén, usualmente en un cultivo de bacterias o levaduras, se procede a su preparación molecular para introducirlo en el ambiente celular al que va destinado. Para ello, se incorpora a la secuencia del ADN del gen a transferir, un factor de expresión y algún marcador que facilite su detección tras su incorporación en las células del organismo a modificar. Esta construcción debe ser canalizada al interior de las células de las plantas y animales, para lo que se utiliza un *vector*. Los vectores son sistemas capaces de transportar y facilitar el traslado del *transgén* y demás elementos necesarios para su expresión al interior celular para su integración en el genoma, con el fin de conseguir la modificación genética deseada. Uno de los aspectos que más investigación ha requerido es precisamente la búsqueda de vectores adecuados y de promotores de expresión apropiados, que permitan la actividad del gen en el interior de las células receptoras. Como vectores más usuales se utilizan los virus, retrovirus, adenovirus u otros, que canalizan de forma natural su genoma al interior de las células receptoras⁵. También se han ensayado otros vectores, entre los que se encuentran las nano-partículas^{6,7}.

Existen diversas técnicas de recombinación y canalización del transgén, que pueden variar en función de las células receptoras y del tipo de modificación que se desea ejercer⁸. De lo que se trata es de modificar el

transcriptoma, y como consecuencia el *proteoma* de las células destinatarias⁹, con el fin de que estas adquieran características que no tenían. Sea cual sea el método, la modificación genética no sólo ha de expresarse en el sistema celular en el que ha sido introducido, sino que debe ser capaz de mantenerse y en su caso transmitirse a la descendencia.

La transgénesis es más sencilla en las células de los procariotas, bacterias y *Archaea*, que, en los eucariotas, debido a la simplicidad de su genoma. Los procariotas carecen de un núcleo celular y el genoma está compuesto normalmente por una única molécula de ADN superenrollado e inmerso en el citoplasma, carente de la complejidad estructural propia de las células eucariotas en cuyos cromosomas intervienen proteínas. En muchas bacterias hay además unos pequeños anillos de ADN, los plásmidos, fácilmente manejables y que habitualmente se utilizan como lugar de recepción del ADN de la especie donante, para su clonación. Por ingeniería genética se han constituido además otros tipos de anillos, los llamados *cromosomas artificiales bacterianos* o BACs, que pueden albergar secuencias de ADN mucho más largas. Tanto los plásmidos naturales como los BACs artificiales disponen de un *origen de replicación*, que asegura que puedan replicarse y clonarse en los cultivos de las bacterias huésped¹⁰. Los BACS tienen una especial aplicación para clonar fragmentos de hasta 200.000 pares de bases

un organismo “donante”; 3. La asociación del gen con un promotor de expresión adecuado, una secuencia de poliadeninas y un gen marcador para la detección posterior (en plantas un gen de resistencia a un antibiótico o un herbicida), y la inserción de toda esta construcción en un plásmido para producir muchas copias; 4. La multiplicación –clonación– del plásmido en bacterias o levaduras, y la recuperación de la construcción clonada para su canalización a las células del organismo “receptor”; 5. La transferencia de la construcción al tejido receptor. En plantas, tejidos o células cultivadas in vitro, y en animales, ovocitos fecundados in vitro; 6. La integración del gen en el genoma del receptor; 7. En plantas la regeneración de plántulas in vitro en un medio selectivo respecto al marcador que se incorporó en la construcción (Ej.: antibióticos o herbicidas en el medio); 7. La comprobación de la recepción del transgén por medio de su expresión en el genoma del organismo receptor; y 9. La herencia del transgén a las siguientes generaciones.

9 Se entiende por *proteoma*, el conjunto de moléculas de proteínas de una célula diferenciada, reflejo de los genes que están activos en dicha célula. El *transcriptoma* sería el conjunto de moléculas de ARN-mensajero de una célula diferenciada, reflejo de los genes que están activos en dicha célula.

10 Zhang, Y., Buchholz, F., Muyrers, J. P. Stewart, A. F. «A new logic for DNA engineering using recombination in *Escherichia coli*». *Nature Genet.* 20, (1998), 123–128.

5 Gaj, T., Gersbach, C. A. & Barbas, C. F. 3rd. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 31, (2013), 397–405.

6 Lee, H. et al. «Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted *in vivo* siRNA delivery». *Nature Nanotechnol.* 7, (2012), 389–393.

7 Yin, H., Kanasty, R., Eltoukhy, A. et al. «Non-viral vectors for gene-based therapy». *Nat Rev Genet.* 15, (2014), 541–555.

8 La producción de OMGs es más compleja en plantas y animales que en microorganismos, y requiere una serie de etapas que pueden resumirse de la siguiente manera: 1. Fijación del objetivo de mejoramiento genético; 2. El aislamiento del gen de interés de

de longitud, por lo que han encontrado una especial aplicación en la elaboración de las *librerías genómicas* que se utilizan para la secuenciación genómica.

Un capítulo especial de la transgénesis es el que se realiza en las plantas. El primer método que se ensayó con éxito fue el de la *agro-infección*. Se trata de la transferencia del ADN de unos organismos a otros utilizando como vector un sistema natural de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Esta bacteria, habita en el suelo en simbiosis con las raíces de muchas especies vegetales, especialmente dicotiledóneas¹¹. Además del genoma bacteriano, *A. tumefaciens* posee un plásmido llamado pTi, del que una parte se transfiere a las células de las raíces de las plantas con las que convive. Esta bacteria es en realidad un patógeno vegetal que causa la enfermedad que se conoce como *agallas en corona*, debido a la transferencia de parte del plásmido al genoma de las células vegetales¹². Para obtener las plantas transgénicas, se promueve una infección *in vitro*, cultivando estas bacterias portadoras del plásmido pTi, al que previamente se habrá modificado para utilizarlo como vector. En el mismo medio de cultivo se añaden explantes de tejidos de la planta a modificar. Tras el traslado de la parte del plásmido con el transgén a las células vegetales se procura la regeneración vegetativa de plantas adultas. Normalmente, la estabilidad de la expresión de la mayoría de los genes que se han introducido por medio del plásmido pTi de *A. tumefaciens* es excelente¹³. El método de la agro-infección ha servido para transformar bastantes especies de plantas dicotiledóneas e incluso monocotiledóneas¹⁴.

11 Las agallas son la consecuencia de un desarrollo canceroso, debido a la proliferación anárquica de las células de la raíz afectadas por la modificación genética debida a la incorporación de una pequeña región del plásmido de un tamaño de un 10% del plásmido pTi de la bacteria. Este plásmido consiste en un anillo de ADN de unas 150 a 250 kilobases, Una vez insertado el segmento T del plásmido pTi en el genoma de la planta huésped se expresan varios de los genes de que es portador lo que favorece la nitrificación del suelo y el crecimiento de la bacteria.

12 Chilton, M.D., Drummond, M.H., Merio, D.J., et al. «Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis». *Cell* 11, (1977), 263–271.

13 Hansen G., Wright M.S. «Recent advances in the transformation of plants». *Trends in Plant Sci.* 4, (1999), 226–231.

14 Nadolska-Orczyk, A., Orczyk, W., Przetakiewicz, A. «*Agrobacterium*-mediated transformation of cereals — from technique development to its application». *Acta Physiol Plant.*; 22, (2000), 77–88.

A finales de los años ochenta surgió la *biolística* o *biobalística*¹⁵, que consiste en la administración a las células receptoras del transgén mediante un cañón de ADN. Se trata de un dispositivo que lanza a gran velocidad, hacia los tejidos o explantes de los organismos a transformar, unos microprojectiles de oro o tungsteno a cuya pared se ha adherido el ADN¹⁶. Dada la importancia de la transgénesis en las plantas cultivadas, también se han desarrollado otras tecnologías, incluyendo la electroporación, que consiste en dejar el ADN recombinante en el medio en que se encuentran protoplastos vegetales. Dado que el ADN está cargado negativamente se mueve hacia su interior en un gradiente de potencial eléctrico. También se ha utilizado la microinyección, la transformación de cloroplastos, etc. Sin embargo, en las especies vegetales, los métodos más utilizados son la agro-infección y la biolística¹⁷.

El método más extendido para la transgénesis en animales es la microinyección del ADN en los pronúcleos del cigoto tras una fecundación *in vitro*, o en alguna de las células del embrión durante las primeras divisiones de segmentación. Este método se utilizó por primera vez en 1985 para la obtención de los primeros animales de granja transgénicos¹⁸. Dependiendo del momento en que el transgén se incorpora al ADN celular, se pueden desarrollar mosaicos en los que algunos linajes celulares llevan el transgén y otros no. Más recientemente se llevan a cabo técnicas más eficientes basadas en la *transferencia nuclear somática* que también permiten modificaciones genéticas específicas, para lo que se utilizan vectores retrovirales o lentivirales y ARN de interferencia¹⁹. De cualquier modo, en la transgénesis animal practicada de este modo es común

15 Sanford, J.C. «Biolistic plant transformation». *Physiol. Plant.* 79 (1), (1990), 206–209.

16 Hansen G., Chilton M.D. «“Agrolic” transformation of plant cells: integration of T-strands generated *in planta*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, (1996), 14978–14983.

17 Barampuram, S., Zhang, Z.J. «Recent advances in plant transformation». *Methods Mol. Biol.* 701, (2011), 1–35.

18 Hammer, R.E., V.G. Pursel, C.E. Rexroad, Jr., R.J. Wall, D.J. Bolt, K.M. Ebert, R.D. Palmiter, and R.L. Brinster. «Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection». *Nature* 315, (1985), 680–683.

19 Niemann, H., Kues Wilfried, A. «Transgenic farm animals: an update». *Reproduction, Fertility and Development* 19, (2007), 762–770.

la aparición de mosaicos, con células portadoras o no del transgén.

La principal dificultad con la que tropieza la transgénesis en las plantas cultivadas y los animales de granja es la falta de precisión respecto al lugar de la inserción del transgén en el genoma receptor, con posibles efectos negativos en la expresión de otros genes. Por ello, se han desarrollado nuevas técnicas que tratan de elevar el porcentaje de éxito mediante la incorporación del ADN recombinante en sitios específicos del genoma de las células receptoras, como las tecnologías de “dedos de Zinc” –ZFNs²⁰, “TALENs”²¹ y otras, que procuran llevar a cabo una *recombinación homóloga* o un cambio de bases en la región específica del ADN a modificar.

Desde que Francisco Mojica descubriera unas secuencias de ADN cortas, repetidas e interespaciadas a las que dio el nombre de CRISPR, en el genoma de unos procariontes, se abrió el camino hacia una nueva tecnología de ingeniería genética, denominada CRISPR–Cas9^{22, 23}. Estas secuencias, en combinación con una enzima llamada Cas9, constituyen un equipo de elementos moleculares de las bacterias y arqueas para su defensa frente a la invasión de ADN extraño, normalmente procedente de virus bacteriófagos. La tecnología del CRISPR–Cas9 trata de imitar este sistema natural de reconocimiento por complementación de bases nucleotídicas que poseen las bacterias frente al ADN invasor. Se trata de actuar, como ocurre en las bacterias con el ADN invasor, sobre lugares específicos del genoma del organismo a modificar genéticamente. Normalmente se trata de *editar*, es decir corregir, las bases nucleotídicas del ADN diana. El ámbito

de la aplicación de esta tecnología es más preciso que la transgénesis y la modificación se limita a una región concreta del genoma receptor.

El conocimiento de las secuencias del ADN de muchas especies en la era de la genómica y la aparición del sistema CRISPR–Cas9, ha potenciado la posibilidad de incidir específicamente en la región a modificar. El sistema CRISPR–Cas9 es más preciso, rápido, económico y fácil de manejar, que las técnicas de dedos de Zinc, TALEN y otras ensayadas anteriormente, por lo que su utilización se ha extendido por los laboratorios de todo el mundo para llevar a cabo cambios dirigidos en el ADN del genoma de los organismos receptores, procariontes, animales²⁴, plantas²⁵ e incluso el genoma humano con fines de terapia génica²⁶.

Con la aparición del sistema CRISPR–Cas9 se ha producido una revolución tecnológica respecto a las anteriores técnicas al facilitar la simple eliminación o inserción de bases nucleotídicas –indels- o la edición del ADN que se desea modificar genéticamente. La diferencia respecto a la transgénesis tradicional es la capacidad de incidir directamente en la región del ADN a modificar de una manera precisa y con una mayor simplicidad molecular en cuanto a la extensión de la región del ADN a modificar y los elementos a introducir en las células receptoras. Para ello, bastan dos componentes, una molécula sintética de ARN, el llamado ARN guía –ARNg-, y una enzima de origen bacteriano, la endonucleasa Cas9. El ARN guía se sintetiza artificialmente y se fusiona a un ARN llamado transactivador. Este complejo junto con la endonucleasa Cas9, mediado por el ARN–guía, sirve de cebo para llevar a la enzima hasta el lugar del ADN específico al que reconoce y al que se une por complementación de bases siguiendo las reglas de apareamiento entre ARN y ADN. A continuación, la enzima Cas9 utiliza sus dos centros activos para cortar el ADN. El ARN–guía ha de

20 Townsend, J.A., Wright, D.A, et al. «High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases». *Nature* 459(7245), (2009), 442–445.

21 Boch, J., Scholze, H., et al. «Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors». *Science*. 326(5959), (2009), 1509–1512.

22 Francisco Juan Martínez Mojica, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Alicante, descubrió que unas arqueas de la especie *Haloferox mediterranei*, unos que habitan en las salinas de Santa Pola, poseen en su genoma unas secuencias cortas de ADN, palindrómicas, repetidas regularmente e interespaciadas, a las que dio el nombre de CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats.

23 Mojica, F. J. M. «Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *Haloferox mediterranei* and *Haloferox volcanii* and could be involved in replicon partitioning». *Mol. Microbiol.* 17, (1995), 85–93.

24 DeMayo, F.J., Spencer, T.E. «CRISPR bacon: a sizzling technique to generate genetically engineered pigs». *Biol. Reprod.* 91 (3), (2014), 79.

25 Shah, T., Andleeb, T., Lateef, S., Noor, M.A. «Genome editing in plants: advancing crop transformation and overview of tools». *Plant Physiol Biochem.* 131, (2018), 12–21.

26 Doudna, J.A., Charpentier, E. «Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9». *Science* 346 (6213), (2014), 1258096.

contar con una secuencia de unas 20 bases nucleotídicas, situada en el extremo 5' de unión al ADN. Naturalmente para la síntesis del ARN guía se habrá tenido en cuenta la secuencia del ADN objeto de la modificación que se desea realizar. Para que el sistema funcione, es necesario además que la secuencia guía lleve incorporada una región corta capaz de reconocer en el ADN diana un motivo adyacente o PAM (Protospacer Adyacent Motif). El PAM ha de constar de 3 bases nucleotídicas del tipo NGG (donde N es cualquier base y la G son Guaninas) complementarias de las correspondientes en el ADN diana. Este pequeño detalle es necesario para que la enzima Cas9, conducida por el ARN guía, corte el ADN diana a una distancia de 3 bases de él.

La peculiaridad del sistema CRISPR-Cas9 es que se puede diseñar el ARN guía de cualquier región específica que se desee del genoma de cualquier especie, con tal de que presente la estructura N_{20} -NGG para el reconocimiento de la secuencia diana. Con este sistema se pueden producir roturas en las dos cadenas del ADN (DSBs). La reparación de la cicatriz producida por la rotura en las dos cadenas (DSB) puede tener lugar por dos mecanismos diferentes dentro de las células: el mecanismo de "unión no homóloga de los extremos" (NHEJ), que puede causar una pequeña delección o una inserción aleatoria del ADN, lo que conduce a la anulación o *knockout* del gen diana; o mediante una "recombinación homóloga" (HR), que permite la adición de un ADN donante con la secuencia correcta en el lugar que se desea corregir²⁷. Por tanto, la diferencia entre la transgénesis y el CRISPR-Cas9, es que en lugar de una inserción de ADN se procede a corregir o editar la región del genoma receptor que se desea.

Por su versatilidad y sencillez, la técnica CRISPR-Cas9 ha desplazado en poco tiempo a las técnicas aplicadas para la modificación genética en todo tipo de organismos convirtiéndose en las manos de los biotecnólogos en un gran procedimiento para modificar genéticamente bacterias, hongos, plantas o animales, con expectativas

espectaculares de aprovechamiento en la industria farmacéutica, la mejora genética de plantas cultivadas y de animales domésticos, y ahora para la terapia de enfermedades humanas debidas a alteraciones de los genes²⁸.

Los fines de los OMGs

Las técnicas de obtención y los fines que se persiguen son diferentes en microorganismos, plantas o animales. En bacterias la principal finalidad está relacionada con la producción de proteínas de interés farmacológico, industrial o ambiental, pero también para otros fines²⁹. Entre los productos a sintetizar en las bacterias transgénicas están los siguientes: a) agentes terapéuticos: hormona del crecimiento, insulina, factores de coagulación, eritropoyetina, vacunas, etc.; b) agentes para combatir enfermedades causadas por otras bacterias, como inmunoglobulinas, y proteínas anticuerpo contra antígenos específicos; c) moléculas de interés comercial, como la vitamina-c, aminoácidos, etc.; d) agentes capaces de degradar sustancias tóxicas en el ambiente, como los herbicidas, pesticidas, disolventes, freones, etc.; e) biopolímeros vegetales de interés industrial, como las enzimas que degradan el almidón, lignocelulosa, etc.; f) sustancias enriquecedoras del crecimiento vegetal, mediante la fijación del nitrógeno; g) agentes inhibidores del crecimiento de otras bacterias, que actúen en la mejora de la seguridad e higiene de los alimentos.

La obtención de plantas transgénicas, persigue la transformación de plantas o variedades cultivadas por la incorporación de un gen o genes que aporten alguna característica nueva o corrijan alguna carencia³⁰. Entre sus principales aplicaciones se encuentran las siguientes: a) aumentar el rendimiento de las cosechas; b) aumentar la tolerancia a los factores abióticos, como las heladas o la sequía, o la resistencia a los factores bióticos limitantes del crecimiento, como las plagas de insectos y las enfermedades debidas a virus, bacterias u hongos; b) au-

27 Si se desea conocer más en detalle los fundamentos y las diferentes alternativas y estrategias tecnológicas consultar el siguiente libro: Montoliu, L. *Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR*. Next Door Publishers. Pamplona, 2019.

28 Sadelain, M. et al. "Therapeutic T cell engineering" *Nature* 545, (2017), 423-431.

29 Reardon, S. «Genetically modified bacteria enlisted in fight against disease». *Nature* 558, (2018), 497-498.

30 Oliver, M.J. «Why we need GMO crops in agriculture», *MO Med.*; 111 (6), (2014), 492-507

mentar la calidad de los productos derivados, como frutos, semillas, etc., mediante un mejoramiento de algún componente nutricional; c) mejorar las características de procesamiento o almacenamiento del cultivo; d) mejorar la calidad post-cosecha, como retrasar el envejecimiento de las flores o la maduración del fruto, o aumentar la cantidad de azúcares, etc.; e) sintetizar productos de interés industrial, como aceites, almidón, caucho, celulosa, ceras, plásticos, enzimas, fármacos u otros; f) detoxificar suelos contaminados.

Entre 1996 y 2012 se experimentó en los Estados Unidos un aumento de más de 370 millones de toneladas de cultivos alimentarios, del que una séptima parte se atribuye a las plantas modificadas genéticamente. Este dato no es más que un indicativo de la importancia que ha adquirido la incorporación de las variedades transgénicas en la agricultura, que no ha dejado de crecer en los países de mayor importancia agrícola³¹.

Los animales transgénicos tienen un gran potencial en la cría ganadera con fines de mejorar la calidad de la carne, o para aumentar la producción de la leche, mejorar la resistencia a enfermedades u obtener productos de interés para la industria farmacéutica. En este caso se utilizan los animales transgénicos como biorreactores para la producción de proteínas en su sangre o en la leche, que pueden ser utilizados como fármacos³². En 2006, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) dio luz verde a la comercialización de la primera proteína recombinante producida en la leche de animales transgénicos. Se trataba de la antitrombina recombinante III para el tratamiento profiláctico de pacientes con deficiencia congénita de antitrombina³³. Una nueva vertiente que encierra cierto interés es el de la modificación genética de animales de granja, como cerdos u otros, con genes humanos —proceso denominado *humanización*—, para su utilización en

xenotransplantes³⁴. Una utilidad de carácter básico en investigación es la anulación de genes para estudios de la función génica, como es el caso de los ratones *knockout*, que tienen literalmente eliminado un gen determinado, para estudiar sus efectos en el fenotipo³⁵.

Los beneficios y riesgos de los OMGs

Antes de considerar los aspectos éticos que plantea la modificación genética de los seres vivos hay que señalar que para muchos investigadores y tecnólogos que trabajan en este campo, los factores beneficiosos de estas obtenciones biotecnológicas son superiores a los riesgos^{36, 37, 38}, de lo que es buena muestra las múltiples aplicaciones señaladas en el apartado anterior. Sin embargo, algunas de las aplicaciones suscitan objetivas cuestiones éticas que han de ser abordadas³⁹.

a) Aspectos beneficiosos de los OMGs

En el caso de las plantas cultivadas, fuente importantísima de la alimentación humana, el mejoramiento genético tradicional se ha venido realizando mediante una amplia gama de técnicas que tratan de ampliar la variación genética y utilizarla como fuente para la obtención de nuevas variedades. Cuando la variación genética de que dispone el mejorador es baja, se recurre a la introducción de nuevas fuentes de germoplasma y para ello se han habilitado numerosos recursos, que incluyen la búsqueda de germoplasma silvestre, la hibridación interespecífica, la domesticación de especies de silvestres, los cruzamientos amplios con otras especies

31 Zhang, C., Wohlhueter, R., Zhang, H. «Genetically modified foods: A critical review of their promise and problems». *Food Science and Human Wellness* 5(3), (2016), 116–123.

32 Maksimenko, O.G., Deykin, A.V., Khodarovich, Y.M., Georgiev, P.G. «Use of transgenic animals in biotechnology: prospects and problems». *Acta Naturae* 5(1), (2013), 33–46.

33 Echelard Y., Ziomek C., and Meade H. (2006). Production of recombinant therapeutic proteins in the milk of transgenic animals. *BioPharm Intern.* 2, (Agosto 2006).

34 Hryhorowicz, M., Zeyland, J., Słomski, R., Lipiński, D. «Genetically Modified Pigs as Organ Donors for Xenotransplantation». *Mol. Biotechnol.* 59(9-10), (2017), 435–444.

35 Lile, J., Doran, A.G., Keane, Th.M. et al. «Sixteen diverse laboratory mouse reference genomes define strain-specific haplotypes and novel functional loci». *Nature Genetics* 50, (2018), 1574–1583.

36 Jauhar, P.P. «Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: the prospects and challenges». *Crop Sci.* 46, (2006), 1841–1859.

37 Reis, L.F., Van Sluys, M.A., Garratt, R.C., Pereira, H.M., Teixeira, M.M. «GMOs: building the future on the basis of past experience». *An. Acad. Bras. Cienc.* 78, (2006), 667–686.

38 Melo-Martín, I., Meghani, Z. «Beyond risk A more realistic risk-benefit analysis of agricultural biotechnologies». *EMBO reports.* 9 (4), (2008), 302-306.

39 Gómez-Tatay, L., Aznar, J. «CRISPR-Cas9. El mayor avance en técnicas de edición genética requiere una reflexión ética». *Cuadernos de Bioética.*; 30(99) (2019), 171-185.

sexualmente compatibles y la mutagénesis artificial. Todas estas técnicas requieren un proceso de selección durante varias generaciones, normalmente varios años dependiendo del tiempo de ciclo de cada especie (en las plantas anuales como el trigo y otros cereales entre 10-15 años).

La transgénesis, y más recientemente la técnica del CRISPR–Cas9 añaden nuevos recursos que complementan las técnicas de mejoramiento genético tradicional de una manera más directa y con un considerable ahorro de tiempo. Además, facilitan la modificación de una característica concreta del genoma receptor sin alterar el resto, lo que simplifica el proceso de selección. En el caso de las plantas se cuenta además con la facilidad que ofrece la regeneración a partir de cultivos de tejidos o protoplastos vegetales, en medios nutritivos, lo que favorece la aplicación de las nuevas tecnologías de modificación genética en el laboratorio.

Tal vez, el caso más claro de los beneficios de estas tecnologías lo ofrecen las modificaciones conducentes al mejoramiento de la calidad. Un ejemplo importante es el “Golden rice” –arroz dorado–, obtenido por el investigador suizo Ingo Potrykus en el Instituto de Biología de Plantas –ETH– de la Universidad de Zúrich⁴⁰. Se trata de una variedad de arroz transgénico portador de un precursor de la Vitamina A, diseñado para erradicar una avitaminosis endémica en muchas regiones en que se cultiva este cereal y donde más de 2 millones de niños padecen ceguera e incluso la muerte⁴¹. La F.A.O. recomienda la utilización de este arroz transgénico para ayudar en la lucha contra la desnutrición por una avitaminosis A en países del tercer mundo. La misma tecnología ha permitido obtener semillas de altramuz dulce *Lupinus albus*, con una modificación consistente en el enriquecimiento del aminoácido me-

tioniona en sus proteínas, así como el contenido de carbohidratos^{42, 43}.

Un factor ventajoso de las plantas transgénicas es el de que su modificación es constitutiva. Es decir, una vez adquirida la propiedad objeto de su mejoramiento, las plantas se hacen más independientes del medio en el que se cultivan. Esta ventaja es muy patente en el caso de que la modificación confiera resistencia a muchos factores bióticos o abióticos limitantes de su crecimiento, ya que se reduce la necesidad de aplicar a los cultivos productos fitosanitarios, como fertilizantes, insecticidas, herbicidas, etc. El ejemplo más patente es el de las plantas transgénicas que han incorporado el gen bacteriano *Bt*, que las confiere resistencia a las plagas de insectos. Antes del desarrollo de la Biología Molecular, los investigadores Heimpel y Angus habían demostrado que, en el curso de la esporulación, en el citoplasma de la bacteria *Bacillus thuringiensis* se produce una proteína cristalina, denominada cryET1, que se comporta como un insecticida provocando desgarros en el aparato digestivo de los insectos devoradores de los tejidos vegetales⁴⁴. De hecho, ya desde mucho antes se venían preparando extractos de esta bacteria para combatir el daño que producen las larvas del lepidóptero *Ostrinia nubilalis* –el taladro–, en el maíz y otros insectos en otras especies cultivadas. A principios de los años ochenta se pudo aislar del genoma de la bacteria *B. thuringiensis*, el gen *Bt*, e incorporarlo al genoma del tabaco *Nicotiana tabacum*, mediante el método de agro–infección, obteniéndose de este modo las primeras plantas transgénicas resistentes a las larvas de insectos⁴⁵. A finales de los años ochenta un grupo de empresas americanas dedicadas a la producción de semillas formaron el consorcio *Bt Management Working Group* con el fin de obtener variedades de plantas trans-

40 Beyer, P. y otros, «Golden Rice: Introducing the {beta}-Carotene Biosynthesis Pathway into Rice Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency. *J. Nutr.* 132, (2002), 506–510.

41 La tecnología del arroz dorado se basa en el simple principio de que las plantas de arroz *Oryza sativa*, poseen toda la maquinaria para sintetizar el b-caroteno, especialmente activa en las hojas, pero apagada en el grano. Mediante la adición de sólo dos genes, el *Psy* para la síntesis de una Fitoeno Sintetasa Vegetal, y *Crt I*, una Fitoeno Desaturasa bacteriana, la vía de síntesis del b-caroteno se activa y este precursor de la vitamina A se acumula en el grano.

42 Rizzi, A., Raddadi, N., et al. «The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals: implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs». *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52 (2), (2012), 142–161.

43 Schmidt, M.A.L., Artelt, P.R. Parrott, B.A.W.A. «A comparison of strategies for transformation with multiplegenes via microprojectile-mediated bombardment» *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 44, (2008), 162–168.

44 Heimpel, A.M., Angus, T.A. «The site of action of crystalliferous bacteria in Lepidopteran larvae», en *J. Insect Pathol.* 1, (1959), 152–170.

45 Vaek M, Reynaerts, A., Hofte, A. «Transgenic plants protected from insects». *Nature.* 325 (6125), (1987), 33–37.

génicas de algodón, maíz y patata, mediante la incorporación de los genes *Bt*, para dotarlas de resistencia a los insectos más dañinos de las cosechas.

Al hacerse independientes del medio, las plantas transgénicas requieren menos pesticidas fertilizantes u otros productos químicos, que, al margen del efecto beneficioso para el cultivo, suponen agentes agresivos y contaminantes del medio ambiente y los acuíferos. En contraste con los riesgos que se les atribuyen, las plantas transgénicas permiten rebajar o eliminar la aplicación de los productos fitosanitarios, algunos tan peligrosos como los derivados órgano-fosforados, que dejan residuos contaminantes. Aunque la semilla comercial es más cara, una variedad transgénica reduce considerablemente los gastos de los agricultores en este tipo de productos.

La idea inicial de la transgénesis en plantas y animales es que pueden proporcionar respuestas concretas a problemas concretos en menos tiempo e inabordable por los métodos tradicionales de mejoramiento. Sin duda, el principal de estos problemas es el de la alimentación, al que los OMGs están contribuyendo considerablemente desde hace años. En el informe de la FAO de 2017 se señala que a finales de 2016 había 815 millones de personas crónicamente desnutridas, aproximadamente el 11% de la población mundial, con una especial incidencia en el África subsahariana⁴⁶. Uno de los mayores desafíos con los que se enfrenta el mundo es el de asegurar que la población mundial –con una previsión de cerca de 10.000 millones de personas para el 2050–, disponga de suficiente alimento para satisfacer las necesidades nutricionales de todos. Según las previsiones de la FAO, para alcanzar este objetivo, sería necesario una producción de un 50% más de alimentos que el actual a nivel mundial.

A pesar de sus grandes aportaciones, los OMGs, se sitúan en un contexto ideológico enrarecido. La oposición de determinados sectores políticos y movimientos ecologistas se centra paradójicamente en unos infundados riesgos de su impacto ambiental y en absurdos

peligros alimenticios. A continuación, se analizan estas imputaciones.

b) *Los riesgos de los OMGs para el medio ambiente*

El primer tipo de argumentos en contra de los OMGs se refiere a los problemas de seguridad para el medio ambiente. Se exagera el riesgo de que los genes insertados en el genoma de los OMGs, pudieran escapar desde el organismo modificado genéticamente a otras especies. Así, se advierte sobre la posibilidad de que las plantas transgénicas resistentes a insectos, hongos, etc. transfieran sus genes a la flora natural, o se escapen de los cultivos y desplacen a las plantas silvestres, dando lugar a superespecies o supermalezas con consecuencias imprevisibles para el equilibrio ecológico. Sin embargo, este peligro no existe cuando las especies que viven en la proximidad de los cultivos de plantas transgénicas son biológicamente distantes, con las que no se cruzan por existir mecanismos naturales de aislamiento reproductor. Por ello, y en evitación de los problemas indicados, se debe evitar el cultivo de plantas transgénicas en lugares donde pudiera haber especies silvestres evolutivamente cercanas. En cualquier caso, no cabe considerar a las plantas transgénicas en general como un peligro para el ambiente, sino estudiar los riesgos en cada caso y tomar las medidas preventivas o prohibir el cultivo en determinadas regiones. Un ejemplo de estos riesgos lo presentan los maíces transgénicos portadores del gen *Bt* obtenidos por la empresa Monsanto, y su cultivo en México u otros países de Centroamérica en donde el maíz fue domesticado⁴⁷. Para ello, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos –OCDE–, propuso ya en 1992, la creación de comités de expertos y normas internacionales reguladoras que estudiaran caso por caso los riesgos potenciales del cultivo de las plantas y los microorganismos transgénicos⁴⁸.

47 Gilbert, N., «A hard look at GM crops». *Nature* 497(7447), (2013), 24–26.

48 OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). *Safety considerations for biotechnology, Part 2 Good Developmental Principles (GDP): guidance for the design of small-scale field research with genetically modified plants and microorganisms*. Organization for Economic Cooperation and Development. (1992), Paris.

46 FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. *The State of Food Security and Nutrition in the World 2017. Building resilience for peace and food security*. Rome, FAO. 2017 [publicación en línea] <http://www.wfp.org/>

Por otra parte, con relación a las variedades de plantas que han incorporado el gen *Bt*, se dice que después de un tiempo, las plagas de insectos se terminarán adaptando y se volverán inmunes al *Bt*. Las empresas no lo niegan, pero investigan para obtener nuevas variedades con genes variantes del gen efectivos frente a las nuevas plagas. Existe suficiente evidencia científica que desmiente este tipo de riesgos. Así, unos investigadores de la Universidad de Cornell, estudiaron el posible impacto de los cultivos del maíz *Bt* en las poblaciones naturales de la mariposa monarca *Danaus plexippus*, y otras especies de insectos que habitan en gran parte de Norteamérica y América central. Los insectos se alimentan del polen del maíz depositado sobre otras plantas que crecen de forma espontánea dentro y alrededor de los campos de cultivo de los maíces *Bt*. El estudio demostró que la afectación de los insectos por esta causa no era mayor que la que sufren por los tradicionales tratamientos con insecticidas⁴⁹. Un estudio amplio de laboratorio y de campo, desarrollado por diversos departamentos de investigación agrícola de Estados Unidos y Canadá, demostraron igualmente que la expresión del gen *Bt* en el polen de los maíces transgénicos es baja, que su alcance es limitado y que no causan efectos tóxicos agudos sobre insectos de otras especies distintas a las destinatarias⁵⁰. Un trabajo posterior, llevado a cabo por investigadores de la Universidad de Newcastle en el Reino Unido concluyó que el maíz *Bt* no representa ningún riesgo para las poblaciones naturales de otras especies de insectos sino que blindó específicamente a los cultivos contra la especie destinataria de la defensa que se trata de proporcionar al cultivo⁵¹.

En 2018 se publicó un meta-análisis, que compendia la literatura científica sobre las características agronómicas y los efectos ambientales y toxicológicos del maíz transgénico, en revistas de impacto entre 1996 y 2016. Los resultados proporcionaron pruebas sólidas de

que el maíz transgénico tiene un rendimiento entre un 5,6 y un 24,5% mayor en los cultivos que las líneas isogénicas no transgénicas, mayor calidad del grano y unas concentraciones más bajas de micotoxinas. Además se confirmaba la gran efectividad de la resistencia a diversos tipos de insectos y la ausencia de efectos sobre otros organismos⁵².

c) Los riesgos de los alimentos transgénicos

De acuerdo con Aparisi, la aplicación de la técnica del ADN recombinante a especies vegetales sólo podría ser hipotéticamente aceptada si tuviera como finalidad la promoción del bien común humano y ambiental, de tal modo que se garantizara la inexistencia de cualquier implícito atentado o riesgo para la biodiversidad⁵³. Como veremos a continuación, del mismo modo que frente al ambiente, existe un consenso general de la seguridad para el hombre y para los animales de los alimentos derivados de OMGs, así como de los métodos utilizados para probar su seguridad, avalados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002).

Los principales motivos de preocupación, en este sentido son tres: a) que el ADN incorporado al OMG interfiera negativamente en la cadena alimentaria de los consumidores que ingieran sus derivados en la alimentación; b) que los genes marcadores de resistencia que se utilizan en la construcción génica en la transgénesis en los OMGs se transfieran a la flora bacteriana, y por lo tanto potencialmente a otras bacterias de la microflora humana o de los animales que los consumieran en su alimentación; c) que los alimentos transgénicos puedan generar alergias.

Respecto al primer punto, no debe ser motivo de preocupación, dado que los ácidos nucleicos que se transfieren en la ingesta de los organismos transgénicos se metabolizan y degradan por la acción de las nucleasas presentes en la boca, el páncreas y las secre-

49 Losey, J.E. «Transgenic pollen harms Monarch larvae». *Nature* 99, (1999), 214.

50 Sears, M.K., Hellmich, R.L., et al. «Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (21) 1, (2001), 1937–11942

51 Gatehouse, A.M.R. Ferry, N. Raemaekers, R.J.M. «The case of the monarch butterfly: a verdict is returned», *Trends in Genetics* 19, (2002), 249–251.

52 Pellegrino, E., Bedini, S., Nuti, M., Ercoli, L. «Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data». *Scientific REPortS* 8, (2018), 3113.

53 Aparisi Miralles, A. «Alimentos transgénicos y derecho humano a la salud». *Cuadernos de Bioética*. 2004; 15(53): 59-75.

ciones intestinales. Se ha demostrado en experimentos de cultivo *in vitro* que la digestión de proteínas transgénicas es casi completa en cinco minutos en presencia de la enzima pepsina⁵⁴. Debe tenerse en cuenta que el gen modificador que se incorpora al genoma del OMG, para conferirle una propiedad que no poseía, se procesa como cualquier otra región de ADN en los alimentos derivados de él. El ADN modificador, en caso de permanecer en el producto alimenticio, sufrirá una degradación metabólica como cualquier otro ADN que forma parte de la alimentación habitual. Este mismo motivo es tranquilizador frente al temor hacia los múltiples medicamentos que incluyen en su composición moléculas de origen transgénico.

Una revisión de 15 artículos publicados entre 1995 y 2001 sobre la ingesta de OMGs en ganado porcino, vacuno y pollos alimentados con piensos de maíz y soja convencionales o transgénicos, resistentes a insectos y/o herbicidas, demostró la inexistencia de efectos adversos de los productos transgénicos en los animales. En dos de los estudios se demostró una ligera mejoría en las tasas de conversión de los piensos en los animales alimentados con maíz transgénico resistente a insectos, posiblemente debido a las concentraciones más bajas de aflatoxinas, nocivos para estos organismos⁵⁵.

En los procesos de obtención de los OMGs, junto al transgén y los factores de expresión, se usan con frecuencia genes de resistencia a antibióticos como marcadores de selección para distinguir las bacterias que incorporaron la construcción transformante de aquellas en que no se afianzó la transformación. Carece de fundamento pensar que los genes marcadores de selección, que pueden permanecer en los alimentos derivados de los OMGs, puedan seguir un proceso de transferencia horizontal y pasar al genoma de las bacterias de la microflora del tracto gastro-intestinal humano o de los animales que ingiriesen estos alimentos, u otras bacterias patogénicas presentes en sus consumidores. Una revisión encargada por la F.A.O. ha conclui-

do que esto es extremadamente improbable, aunque recomienda que en la producción de plantas transgénicas no se utilicen marcadores que codifiquen para la resistencia a los antibióticos clínicamente significativos para el tratamiento de enfermedades infecciosas humanas⁵⁶. De hecho, lo que se está haciendo es utilizar nuevos marcadores de selección, que no tienen que ver con factores de resistencia a antibióticos. Este tipo de riesgo no tendrían fundamento en el caso de que la modificación de los OMGs se hubiera hecho con las técnicas de edición génica, como CRISPR-Cas9 u otras, que inciden directamente en el ADN y en cuya aplicación no se introducen marcadores de selección.

La tercera causa de preocupación para la salud de los alimentos derivados de los organismos transgénicos, se refiere a las alergias, que de forma epidémica parecen haber aumentado de frecuencia en las últimas décadas. De acuerdo con un amplio informe del International Council for Science (ICS), todos los alimentos modificados genéticamente que salen al mercado son previamente probados respecto a potenciales alérgenos y toxinas conocidos y nunca se ha encontrado ninguno⁵⁷. Los científicos se esmeran en la evaluación y mejoramiento continuo de estas pruebas y su aplicación a todos los nuevos alimentos derivados de los organismos modificados genéticamente. Está menos justificado buscar la causa del incremento de las alergias en la ingesta de los OMGs, que, en la utilización masiva de conservantes, aditivos y múltiples productos químicos utilizados en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica u otras, que inundan el ambiente que nos rodea.

56 Chambers, P., Heritage, J. «Transgenic crops and antibiotic marker genes». AGRIPPA Peer-reviewed electronic journal. 2004 [publicación en línea] <http://www.fao.org/agrippa>.

57 El International Council for Science (ICS) es una organización no gubernamental que reúne a 40 Asociaciones Científicas Internacionales y a más de 140 organizaciones científicas nacionales y regionales, incluidas las Academias y los Consejos de Investigación de los Estados Unidos. En 2003, publicó un Informe sobre "New Genetics, Food and Agriculture: Scientific Discoveries – Societal Dilemmas". Este informe se basa en 50 evaluaciones científicas independientes realizadas por grupos autorizados en diferentes partes del mundo, entre ellos la Comisión FAO/OMS del Codex Alimentarius, la Comisión Europea, la OCDE y las academias nacionales de ciencias de muchos países como Australia, Brasil, China, Francia, India, el Reino Unido y los Estados Unidos

54 Liu, Y., Zhang, Y., Dong, P. *et al.* «Digestion of Nucleic Acids Starts in the Stomach». *Sci. Rep.* 5, (2015), 11936.

55 MacKenzie, D. McLean, M. «Who's afraid of GM feed?» *Feed Mix.* 10(3), (2002), 16–19.

Perspectivas y consideraciones bioéticas

A pesar de la ausencia de riesgo de la utilización de los OMGs, persisten las dudas y no cesan las campañas de recelo, en particular hacia una agricultura basada en la ingeniería genética. Las acciones contra las empresas multinacionales han acarreado la adopción de medidas para restringir el uso de las plantas modificadas genéticamente, especialmente rigurosas en la Unión Europea. Las exigencias son menores en los EE.UU., primer productor y fuente de las primeras obtenciones de los organismos transgénicos de uso comercial, o en China, con un potencial enorme de crecimiento en los sectores económico, industrial y agro-alimentario. Frente a ello, las empresas biotecnológicas defienden sus intereses y señalan que los OMGs que producen, obedecen a la demanda de los sectores agrícolas, ganaderos o industriales interesados. Sin duda, el equilibrio entre todos los sectores interesados está en manos de decisiones políticas, que deben vigilar los intereses sociales, el beneficio alimentario y para la salud, y regular las tasas de producción, sin descuidar los potenciales efectos sobre el ambiente, de acuerdo con las aplicaciones a que van destinadas los OMGs.

Por otra parte, en contra de la biotecnología aplicada a la agricultura, han surgido una serie de argumentos de carácter ambientalista, que llegan a proponer un retorno a una agricultura ecológica, en sustitución de la explotación masiva de las variedades manipuladas genéticamente. Estas razones chocan con la necesidad de alimentar a una población en progresivo aumento. Las ideas románticas no pueden competir con los avances de la ciencia y de la técnica cuando está en juego la atención a las necesidades de la humanidad para los próximos años. Norman Borlaug, con ocasión de la recepción del Premio Nobel de la Paz en 1970 dijo que: «*los más grandes males que acechan a nuestro planeta Tierra son la ignorancia y la opresión, y no la ciencia, la tecnología o la industria, cuyos instrumentos, cuando se manejan adecuadamente, son herramientas indispensables para salvar la sobrepoblación, el hambre y las enfermedades mundiales*»⁵⁸.

58 Borlaug, N. *Nobel Lecture: The Green Revolution, Peace, and Humanity*. Nobel Peace Prize [Publicación en línea] 1970: <https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1970/borlaug/lecture/>

El ISAAA –Servicio Internacional para la Adquisición de Usos Agro–biotecnológicos–, una organización sin fines de lucro que entrega los beneficios de las nuevas tecnologías agrícolas a los países pobres en vías de desarrollo, ha señalado que, a finales de 2018, son ya 70 los países que cultivan e importan plantas modificadas genéticamente. Veintiséis países –21 en vías de desarrollo y 5 industrializados–, plantaron 191,7 millones de hectáreas de plantas transgénicas, con una tendencia al alza respecto a años anteriores. Esto demuestra que los cultivos biotecnológicos siguen ayudando a hacer frente a los desafíos mundiales del hambre, la desnutrición y el cambio climático.

En 2018, el informe de las Naciones Unidas sobre *Food Security and Nutrition in the World*, indicó que el hambre ha crecido año tras año durante los tres últimos consecutivos, llegando a niveles equivalentes a los registrados hace una década. Además, el Informe Mundial sobre las Crisis Alimentarias de 2017 reveló que el hambre y la desnutrición siguen aumentando, con alrededor de 108 millones de personas en 48 países en grave riesgo o en inseguridad alimentaria. El cultivo de las plantas modificadas genéticamente, que incorporan propiedades de mayor producción, más resistencia a las plagas, mejor calidad, etc., son ineludiblemente necesarios para hacer frente a estos desafíos que afectan a la vida de muchas personas en todo el mundo. De acuerdo con el Dr. Paul S. Teng, Presidente de la Junta directiva de la ISAAA: «*Aunque la biotecnología agrícola no es la única clave para mejorar la seguridad alimentaria mundial, es una herramienta científica importante en el conjunto multidisciplinario de herramientas disponibles*».

Mención especial merece la utilización cada vez más intensa de la tecnología de la edición genómica CRISPR–Cas9, por contribuir a una modificación mínima, más precisa y controlada del genoma de las plantas cultivadas y los animales domésticos, que se parecen más a los alimentos mejorados por métodos tradicionales que a los organismos transgénicos, anteriores a esta tecnología. Las normas reguladoras de la utilización de las plantas cultivadas y los animales domésticos editados genéticamente, como fuentes de alimentación, son di-

ferentes en distintos países, siendo más tolerantes en EE.UU., que en la Unión Europea.

La Administración Alimentaria y del Medicamento de los Estados Unidos –FDA–, ha propuesto una evaluación regulatoria obligatoria para todos los productos alimenticios de origen animal cuyos genomas hayan sido modificados utilizando tecnologías moleculares modernas, incluida la edición de genes, lo que contrasta con la política sobre productos biotecnológicos de los Estados Unidos de que la supervisión regulatoria debe ser desencadenada cuando existe un riesgo razonable. Por ello, en la actualidad en los Estados Unidos está en estudio la armonización de las regulaciones asociadas con la edición de genes en especies alimentarias que sean compatibles con el mejoramiento de rasgos útiles de sostenibilidad, como la resistencia a las enfermedades, la adaptabilidad climática y la calidad de los alimentos⁵⁹.

En Europa, las normas son más restrictivas. El Tribunal de Justicia de la Unión Europea, con sede en Luxemburgo, dictó el 25 de julio de 2018 una sentencia según la cual las obtenciones de plantas cultivadas derivadas de la tecnología de la edición génica, debían ser sometidas a las mismas normas restrictivas que operan contra los organismos modificados genéticamente, plasmadas en la Directiva 2001/18/EC de la Unión Europea, que modificaba otra anterior –90/220/EC–, de 1990, cuando aún no había apenas experiencia de los efectos de los OMGs y no habían nacido las nuevas tecnologías de CRISPR–Cas9. La mínima modificación, siempre contralada y dirigida a una secuencia concreta del ADN, nada tiene que ver con las obtenciones con los métodos menos precisos de la introducción de un transgén o una secuencia de ADN en una planta cultivada, incluso procedente de otras especies⁶⁰.

Probablemente, el problema estriba en considerar erróneamente que la edición génica es un método de mutagénesis, al producir pequeñas deleciones, sustituciones u otros cambios en las bases nucleotídicas. Esto, siendo formalmente correcto, no es asumible, pues no

se trata de mutaciones aleatorias, sino de una corrección génica puntual, dirigida y precisa del propio genoma de la especie sobre la que se opera, sin que afecte al resto del genoma. De ningún modo es equiparable la edición génica, a la mutagénesis, o a una inserción de un transgén o secuencia de ADN procedente de otros organismos. Urge, por tanto, reforzar en Europa la confianza general en la ciencia y reforzar el papel del asesoramiento científico en cuestiones que tienen una base científica importante, como la aprobación de las obtenciones de plantas y animales modificados o editados genéticamente, frente a criterios políticos y económicos que predominan en las negociaciones de los distintos estados de la Unión Europea⁶¹.

Los beneficios inmediatos son demasiado tangibles para desestimar o abandonar la utilización de los OMGs. No se puede frenar una tecnología con grandes perspectivas de aplicación y una gran diversidad de variantes, con múltiples aplicaciones aun en vías de exploración, especialmente en la alimentación y muy particularmente en la clínica como una importante y prometedora vía de terapia génica.

Referencias

- Aparisi Miralles, A. «Alimentos transgénicos y derecho humano a la salud». *Cuadernos de Bioética*. 2004; 15(53): 59-75.
- Barampuram, S., Zhang, Z.J. «Recent advances in plant transformation». *Methods Mol. Biol.* 701, (2011), 1–35.
- Berg, P., Baltimore, D., Brenner, S., Roblin III, R.O., Singer, M.F. «Summary Statement of the Asilomar Conference on Recombinant DNA Molecules». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72 (6), (1975), 1981–1984
- Beyer, P. y otros, «Golden Rice: Introducing the {beta}-Carotene Biosynthesis Pathway into Rice Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency». *J. Nutr.* 132, (2002), 506–510.

59 Van Eenennaam, A.L., Wells, K.D. Murray, J.D. «Proposed U.S. regulation of gene-edited food animals is not fit for purpose». *Npj Sci Food* 3, 3 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0035-y>.

60 Callaway, E. «CRISPR plants now subject to tough GM laws in European Union». *Nature*, 2016. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-05814-6>

61 Casacuberta, J. M., Puigdomènech, P. «Proportionate and scientifically sound risk assessment of gene-edited plants». *EMBO Reports*, 19(10), (2018) e46907. <https://doi.org/10.15252/embr.201846907>

- Boch, J., Scholze, H., et al. «Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors». *Science*. 326(5959), (2009), 1509–1512.
- Callaway, E. «CRISPR plants now subject to tough GM laws in European Union». *Nature*, 2016. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-05814-6>
- Casacuberta, J. M., Puigdomènech, P. «Proportionate and scientifically sound risk assessment of gene edited plants». *EMBO Reports*, 19(10), (2018) e46907. <https://doi.org/10.15252/embr.201846907>
- Chang, A. C. Y., Cohen, S. N. «Genome construction between bacterial species in vitro: replication and expression of *Staphylococcus* plasmid genes in *Escherichia coli*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71 (4), (1974).1030–1034.
- Chilton, M.D., Drummond, M.H., Merio, D.J., et al. «Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis». *Cell* 11, (1977), 263–271.
- DeMayo, F.J., Spencer, T.E. «CRISPR bacon: a sizzling technique to generate genetically engineered pigs». *Biol. Reprod.* 91 (3), (2014), 79.
- Echelard Y., Ziomek C., and Meade H. (2006). «Production of recombinant therapeutic proteins in the milk of transgenic animals». *BioPharm Intern.* 2, (Agosto 2006).
- Gaj, T., Gersbach, C. A. & Barbas, C. F. 3rd. «ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering». *Trends Biotechnol.* 31, (2013), 397–405.
- Gatehouse, A.M.R. Ferry, N. Raemaekers, R.J.M. «The case of the monarch butterfly: a verdict is returned», *Trends in Genetics* 19, (2002), 249–251.
- Gilbert, N., «A hard look at GM crops». *Nature* 497(7447), (2013), 24–26.
- Gómez-Tatay, L., Aznar, J. «CRISPR-Cas9. El mayor avance en técnicas de edición genética requiere una reflexión ética». *Cuadernos de Bioética.*; 30(99) (2019), 171-185.
- Hammer, R.E., V.G. Pursel, C.E. Rexroad, Jr., R.J. Wall, D.J. Bolt, K.M. Ebert, R.D. Palmiter, and R.L. Brinster. «Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection». *Nature* 315, (1985), 680–683.
- Hansen G., Chilton M-D. «“Agrolistic” transformation of plant cells: integration of T-strands generated *in planta*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, (1996), 14978–14983.
- Hansen G., Wright M.S. «Recent advances in the transformation of plants». *Trends in Plant Sci.* 4, (1999), 226–231.
- Heimpel, A.M., Angus, T.A. «The site of action of crystalliferous bacteria in Lepidopteran larvae», en *J. Insect Pathol.* 1, (1959), 152-170.
- Hryhorowicz, M., Zeyland, J., Słomski, R., Lipiński, D. «Genetically Modified Pigs as Organ Donors for Xenotransplantation». *Mol. Biotechnol.* 59(9-10), (2017), 435–444.
- Jauhar, P.P. «Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: the prospects and challenges. *Crop Sci.* 46, (2006), 1841–1859.
- Lee, H. et al. «Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted *in vivo* siRNA delivery». *Nature Nanotechnol.* 7, (2012), 389–393.
- Lile, J., Doran, A.G., Keane, Th.M. et al. «Sixteen diverse laboratory mouse reference genomes define strain-specific haplotypes and novel functional loci». *Nature Genetics* 50, (2018), 1574–1583.
- Liu, Y., Zhang, Y., Dong, P. et al. «Digestion of Nucleic Acids Starts in the Stomach». *Sci. Rep.* 5, (2015), 11936.
- Losey, J.E. «Transgenic pollen harms Monarch larvae». *Nature* 99, (1999), 214.
- MacKenzie, D. McLean, M. «Who’s afraid of GM feed?». *Feed Mix.* 10(3), (2002), 16–19.
- Maksimenko, O.G., Deykin, A.V., Khodarovich, Y.M., Georgiev, P.G. «Use of transgenic animals in biotechnology: prospects and problems. *Acta Naturae* 5(1), (2013), 33–46.
- Melo-Martín, I., Meghani, Z. «Beyond risk. A more realistic risk–benefit analysis of agricultural biotechnologies». *EMBO reports.* 9 (4), (2008), 302-306.
- Mojica, F. J. M. «Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *Haloferax mediterranei* and *Haloferax volcanii* and could be involved in replicon partitioning». *Mol. Microbiol.* 17, (1995), 85–93.

- Montoliu, L. *Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR*. Next Door Publishers. Pamplona, 2019.
- Nadolska-Orczyk, A., Orczyk, W., Przetakiewicz, A. «*Agrobacterium*-mediated transformation of cereals — from technique development to its application». *Acta Physiol Plant.*; 22, (2000), 77-88.
- Niemann, H., Kues Wilfried, A. «Transgenic farm animals: an update». *Reproduction, Fertility and Development* 19, (2007), 762-770.
- Oliver, M.J. «Why we need GMO crops in agriculture», *MO Med.*; 111 (6), (2014), 492-507
- Pellegrino, E., Bedini, S., Nuti, M., Ercoli, L. «Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data». *Scientific REPortS* 8, (2018), 3113.
- Reardon, S. «Genetically modified bacteria enlisted in fight against disease». *Nature* 558, (2018), 497-498.
- Reis, L.F., Van Sluys, M.A., Garratt, R.C., Pereira, H.M., Teixeira, M.M. «GMOs: building the future on the basis of past experience». *An. Acad. Bras. Cienc.* 78, (2006), 667-686.
- Rizzi, A., Raddadi, N., et al. «The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals: implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs». *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52 (2), (2012), 142-161.
- Sadelain, M. et al. «Therapeutic T cell engineering» *Nature* 545, (2017), 423-431.
- Sanford, J.C. «Biolistic plant transformation». *Physiol. Plant.* 79 (1), (1990), 206-209.
- Schmidt, M.A.L., Artelt, P.R. Parrott, B.A.W.A. «A comparison of strategies for transformation with multiple genes via microprojectile-mediated bombardment» *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 44, (2008), 162-168.
- Sears, M.K., Hellmich, R.L., et al. «Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (21) 1, (2001), 1937-11942
- Shah, T., Andleeb, T., Lateef, S., Noor, M.A. «Genome editing in plants: advancing crop transformation and overview of tools». *Plant Physiol Biochem.* 131, (2018), 12-21.
- Townsend, J.A., Wright, D.A, et al. «High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases». *Nature* 459(7245), (2009), 442-445.
- Vaek M, Reynaerts, A., Hofte, A. «Transgenic plants protected from insects». *Nature*.325 (6125), (1987), 33-37.
- Van Eenennaam, A.L., Wells, K.D. Murray, J.D. «Proposed U.S. regulation of gene-edited food animals is not fit for purpose». *Npj Sci Food* 3, 3 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0035-y>].
- Wolt, J.D. « Current risk assessment approaches for environmental and food and feed safety assessment». *Transgenic Res.* 28, (2019), 111-117.
- Yin, H., Kanasty, R., Eltoukhy, A. et al. «Non-viral vectors for gene-based therapy». *Nat Rev Genet.* 15, (2014), 541-555.
- Zhang, C., Wohlhueter, R., Zhang, H. «Genetically modified foods: A critical review of their promise and problems». *Food Science and Human Wellness* 5(3), (2016), 116-123.
- Zhang, Y., Buchholz, F., Muyrers, J. P. Stewart, A. F. «A new logic for DNA engineering using recombination in *Escherichia coli*». *Nature Genet.* 20, (1998), 123-128.