

# LA SÍNDROME DE TREACHER COLLINS I LA TÈCNICA CRISPR. UN AMOR IMPOSSIBLE?



Autor/a: Sirigüana

Data: 21/12/2018

*“La ciència serà sempre una recerca, mai un descobriment real.*

*És un viatge, mai una arribada.”*

Karl Raiumd Popper.

# ÍNDIX

AGRAÏMENTS .....	5
1. JUSTIFICACIÓ.....	6
2. INTRODUCCIÓ.....	7
3. ESTRUCTURA DEL TREBALL .....	8
3.1 Marc teòric: .....	8
3.2 Marc pràctic/ metodologia: .....	8
3.3 Àmbits psicològics:.....	8
4. HIPÒTESIS .....	9
5. ANTECEDENTS.....	10
MARC TEÒRIC .....	12
6. SÍNDROME DE TREACHER COLLINS .....	12
6.1 Què és la Síndrome de Treacher Collins? .....	12
6.2 Causes de la STC.....	12
6.3 Síntomes.....	15
6.4 Característiques específiques.....	16
6.5 Trastorns relacionats .....	19
6.6 Teràpies.....	20
6.6.1 Teràpies estàndard.....	20
6.6.2 Teràpies addicionals.....	22
6.6.3 Teràpies d'investigació .....	23
6.7 Proves clíniques per la detecció de la Síndrome de Treacher Collins....	23
7.TÈCNICA CRISPR .....	26
7.1 Què és la tècnica CRISPR? .....	26
7.2 Com funciona? .....	26
7.3 Qui va impulsar la tècnica CRISPR? .....	28
7.4 Evolució de la tècnica CRISPR.....	29
7.5 Aplicacions de la tècnica CRISPR .....	36
7.6 Quines malalties s'intenten curar amb la tècnica CRISPR?.....	37
7.7 Pot causar efectes negatius?.....	38
7.8 Podem utilitzar la tècnica en embrions?.....	39
7.9 La CRISPR i les malalties rares.....	39
7.10 És el futur de la CRISPR prometedor? .....	40
8. LA BIOÈTICA .....	41

8.1 Què és la bioètica? .....	41
MARC PRÀCTIC .....	42
9.RESULTATS .....	42
9.1 Resum entrevistes .....	42
9.2 Estudi genètic de la pacient. ....	47
10.CONCLUSIONS .....	49
10.1 Conclusions hipòtesis. ....	49
10.2 Conclusions de la bioètica .....	51
10.3 Conclusions reacció social davant la STC .....	51
11.GLOSSARI .....	53
12. ÍNDEX IMÀTGES .....	57
13.ANNEXOS.....	59
13.1 Annex: Entrevista 1 .....	59
13.2 Annex: Entrevista 2 .....	63
13.3 Annex: Entrevista 3.....	65
13.4 Annex: Entrevista 4.....	67
13.5 Annex: Entrevista 5.....	69
13.6 Annex 6: Entrevista 6.....	73

## **AGRAÏMENTS**

En primer lloc vull agrair al meu tutor del treball de recerca, que des d'un principi va acollir la meva proposta amb molta il·lusió i que va confiar en mi cegament.

Al meu pare per fer-me descobrir la magnífica entrevista del Món a RAC 1 on és parlava de la síndrome de Treacher Collins d'una manera molt propera i on l'Eva Puga i la seva filla Laura Reixarch parlaven del seu cas.

A l'Eva Puga per concedir-me una entrevista i deixar que m'endinsés al món de la Treacher Collins des d'una vessant molt humana i propera.

A la Mònica Bosch per donar-me la idea de compartir la necessitat d'ajuda d'experts per a poder realitzar el meu treball a través de les xarxes socials. A totes les persones que van compartir la publicació del Facebook com en Joan Galiano que va posar-me en contacte amb la Dra. Judith Dalmau Bassades i la biòloga Aranzazu Balfagón.

Al meu cosí per posar-me en contacte amb el seu amic Robert Tejedor que va donar-me els contactes de diferents metges i metgesses de l'Hospital Clínic.

A totes les expertes, la Dra. Esther Titos, la Dra. Aurora Sánchez i la Dra. Cristina Fillat, que m'han ajudat a aprofundir més en la meva recerca i que m'han aportat coneixements nous.

Gràcies a la meva família per posar-me al meu abast tot allò que he necessitat.

Gràcies a la meva mare per revisar tot allò que m'ha creat inseguretat.

Gràcies als meus germans per estar sempre disposats a escoltar-me.

A tots els amic que han compartit el patiment.

I finalment a l'experiència que m'ha donat aquesta gran recerca.

## 1. JUSTIFICACIÓ

La Síndrome de Treacher Collins és una malaltia que afecta a la formació cranioencefàlica dels embrions.

Aquestes anomalies els hi dificulten la vida ja que es veuen sotmesos a diferents intervencions per tal de millorar la seva qualitat de vida.

A més d'haver de patir diferents intervencions, també han de sofrir la repercussió de la societat no educada per a acceptar allò que no s'anomena normal. Durant la meua recerca he pogut visualitzar testimonis que han estat increpats i assetjats per com són.

Per això crec necessària la justificació del meu treball perquè amb la meua recerca vull aconseguir una cura per als fetus que puguin estar afectats, vull una cura per la seva qualitat de vida i en cap cas perquè consideri que sigui anormal l'existència dels malalts amb la síndrome de Treacher Collins sinó que també vull donar-l'hi visibilitat a una síndrome tant poc comú.

Amb la recerca m'agradaria ensenyar que l'educació en la diferència es necessària. No tothom neix amb les mateixes característiques, per tant nosaltres hem d'aprendre a conviure amb cordialitat amb tots els éssers vius que comparteixen l'espai amb nosaltres.

Un cop justificat i aclarit l'objectiu d'aquesta recerca us convido a gaudir tant com jo d'aquesta bonica recerca on he après tant de la Síndrome de Treacher Collins com de la teràpia CRISPR.

## 2. INTRODUCCIÓ

Només iniciar primer de batxillerat la tutora ja va introduir-nos el Treball de Recerca, el tan temut Treball de Recerca. El que semblava una gran muntanya el segon trimestre ja començava a tenir color amb el tutors ja assignats.

Puc dir que des d'un principi tenia bastant clar el que volia fer, tenia la idea d'estudiar alguna malaltia genètica rara, degut al que estàvem estudiant a les classes de biologia: una malaltia genètica anomenada Fibrosis Quística. I també mirar un tractament que ajudés a corregir els gens incorrectes.

Tot i que sabia el que volia encara no tenia clar quina seria la malaltia que escolliria i suposo que va ser sort o un conjunt de causalitats les que em van portar a descobrir la Síndrome de Treacher Collins.

Primerament vaig anar a veure amb una amiga la nova pel·lícula *WONDER* dirigida per Stephen Chbosky i basada en el llibre escrit per Raquel Palau l'any 2012. Totes dues vam coincidir que el missatge de la pel·lícula era molt clar però jo volia saber més d'aquella síndrome.

I seguidament, gràcies al meu pare, aficionat a la ràdio i especialment a l'emissora RAC1, on va escoltar l'entrevista que li feien a l'Eva Puga i la seva filla Laura Reixach on parlaven de la seva malaltia, i de com s'havia donat a conèixer la síndrome que patien amb la pel·lícula *WONDER*. I conscient de que ja havia vist la pel·lícula i del meu interès, el meu pare em va comentar que havia d'escoltar l'entrevista perquè m'agradaria molt.

Vaig estar 15 minuts 29 segons meravellada amb l'entrevista i les meves ganes de saber més s'incrementaven, així que amb un Treball de Recerca per fer no podia trobar res més que em motivés tant per a realitzar una bona recerca.

### **3. ESTRUCTURA DEL TREBALL**

La manera en que estructuraré el meu treball consistirà en plantejar-me diferents objectius, entenent com a objectius la fi o la fita que pretenc obtenir.

Per tant amb uns bons objectius podré dur a terme una recerca elaborada i que m'ajudi a verificar o falsar la meva hipòtesis.

Diviso dels meus objectius:

#### **3.1 Marc teòric:**

Recollir tota la informació de forma sintètica i entenedora dels següents termes:

- La Síndrome de Treacher Collins.
- La tècnica CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats).
- Les intervencions que duen a terme els metges.
- El diagnòstic genètic preimplantacional.
- La bioètica.

#### **3.2 Marc pràctic/ metodologia:**

Mètodes que em permetran verificar o refutar la meva hipòtesis:

- Contactar amb pacients que em donin el seu testimoni de com viuen la malaltia.
- Contactar amb metges que m'ajudin a aprofundir en el meu coneixement en les intervencions que duen a terme.
- Contactar amb genetistes que m'expliquin la tècnica CRISPR i si ja és efectiva.
- Fer un estudi genètic d'un pacient.
- Fer enquestes per a veure el coneixement de la malaltia, com reaccionarien davant d'un malalt i que n'opinen sobre la correcció del genoma.

#### **3.3 Àmbits psicològics:**

- Recollir la intolerància dels individus que no saben conviure amb afectats de la síndrome de Treacher Collins.



## 4. HIPÒTESIS

La hipòtesi d'una investigació és aquella afirmació que funciona com a base d'un procés d'investigació. Durant un treball de recerca, es realitza un procés rigorós d'estudi, anàlisi i examen dels resultats que s'obtinguin, fent que ens serveixi de comprovació o refutació de la validesa de la hipòtesi plantejada inicialment. Com a tal, la hipòtesi és la part fonamental de tot treball de recerca, bé sigui al camp científic, humanístic, social o tecnològic.

Per tant per a poder formular una hipòtesis primerament he hagut d'informar-me sobre la síndrome de Treacher Collins contactant amb l'ANSTC (Asociación Nacional del Síndrome de Treacher Collins) on m'han proporcionat informació de la malaltia i la seva esperança en la nova tècnica CRISPR per a eradicar la malaltia.

Això m'ha portat a formular la pregunta/tesi següent: ***Amb una detecció primària de la Síndrome de Treacher Collins podríem utilitzar la tècnica CRISPR per eliminar la mutació genètica?***

Amb la meva pregunta ja realitzada puc enunciar la meva hipòtesis basada amb el poc coneixement que tinc de la malaltia i la tècnica CRISPR.

- **Sí**, la tècnica CRISPR ens permetrà corregir el gen afectat per la síndrome de Treacher Collins.

## 5. ANTECEDENTS

La síndrome de Treacher Collins és una malaltia genètica minoritària que va ser detectada per primera vegada l'any 1864 per Thompson i Toynbee però no va ser fins l'any 1900 quan Edward Treacher Collins (1862-1932), metge oftalmòleg i cirurgià anglès va descriure les estranyes característiques de dos nens que tenien pòmuls petits i osques en les seves parpelles així que va denominar-ho com la Síndrome de Treacher Collins.

Més tard a l'any 1949, Franceschetti i D. Klein van recollir les mateixes característiques però al no conèixer la síndrome van nombrar-ho distosis mandibulofacial.

La síndrome de Treacher Collins és una malaltia que pateix un de cada 50.000 nadons que neix i afecta tant a homes com a dones per parts iguals, molts dels casos particularment un 60% és donen de manera inusual, es a dir, sense cap antecedent familiar que abans hagi sofert la malaltia.

Avui en dia la curació d'aquesta malaltia és impossible ja que la seva afecció en la formació cranioencefàlica una vegada ha nascut el nadó és impossible modificar-la amb una teràpia gènica, el "mal" ja està fet.

Recentment però va sorgir una nova teràpia on els afectats i les famílies dels afectats van posar totes les seves esperances. La innovadora tècnica CRISPR.

L'any 2015 la investigadora francesa Emmanuelle Charpentier i la seva companya nord-americana Jennifer Doudna rebien el premi Princesa d'Astúries de Recerca "pel desenvolupament d'una tecnologia que permet modificar gens, amb gran precisió i senzillesa". Es tractava de CRISPR, una tècnica anomenada a canviar el món i que apareix en totes les paperetes pel premi Nobel.

El que no sap molta gent és que el Dr. Francis Mojica, investigador de la Universitat d'Alacant, va descobrir l'any 1993 unes seqüències repetides a les quals va denominar CRISPR. El seu article, publicat a Molecular Microbiology, va anticipar el descobriment d'aquest mecanisme d'immunitat adaptativa en els microorganismes. Mojica afirma que, aquella eina "semblava tenir aplicació en

l'àmbit de la biotecnologia". I 23 anys després del seu descobriment, CRISPR-Cas9 ha demostrat ser una eina molt útil per a l'edició genòmica.

Mojica va ser el primer en saber del potencial que tenia CRISPR-Cas9, i el sorprenent és que sigui utilitzada per teràpia en l'edició genòmica ja que ell mai va plantejar-se utilitzar-la per això.

## MARC TEÒRIC

### 6. SÍNDROME DE TREACHER COLLINS

#### 6.1 Què és la Síndrome de Treacher Collins?

La síndrome de Treacher Collins (STC) està caracteritzada per anomalies cranioencefàliques que tendeixen a implicar un subdesenvolupament del complex zigomàtic, dels pòmuls, mandíbules, paladar i cavitat bucal que poden provocar dificultats per respirar i menjar.

A més a més, les persones que estan afectades per aquesta síndrome poden tenir malformacions als ulls que inclouen una inclinació cap a baix de l'obertura entre les parpelles superiors i les inferiors (anomalies palpebrals\*) i també anomalies en les estructures de l'oïda externa i mitjà que poden provocar pèrdua d'audició.

Les anomalies cerebrals i de comportament, com la microcefàlia i el retràs psicomotor també es poden trobar ocasionalment.



Figura 1. Nen que pateix la STC

#### 6.2 Causes de la STC

La STC està causada per la mutació dels gens TCOF1, el POLR1C o el POLR1D. En el cas del TCOF1, el mode d'herència és autosòmic dominant mentre que pel que fa al POLR1C és autosòmic recessiu i pel POLR1D pot ser autosòmic dominant o autosòmic recessiu.

Les malalties genètiques estan determinades per la combinació de gens amb uns trets particulars que es troben en els cromosomes rebuts del pare i la mare.

Durant la combinació genètica, el nadó rep un al·lel del pare i un al·lel de la mare per a formar finalment el cromosoma. Els trastorns genètics de caràcter dominant són aquells que no deixen expressar-se i per tant només es necessita una còpia d'un al·lel anormal per a que aparegui la malaltia.

Per al TCOF1 i el POLR1D, gen anormal mutat, pot heretar-se de qualsevol dels progenitors, o pot ser el resultat d'una nova mutació (canvi de gen) en l'individu afectat. Aproximadament el 60% dels casos afectats per la Síndrome de Treacher Collins la mutació és una nova mutació que es produeix aleatòriament sense un historial familiar previ (mutació de novo\*). No obstant això, un dels progenitors pot veure's afectat lleugerament i no adonar-se'n de que té el trastorn. El risc de transmetre el gen anormal dels pares afectats per el gen TCOF1 o POLR1D (quan és de caràcter dominant) és del 50% per cada embaràs, independentment del sexe o si els embarassos anteriors han resultat en nenes/ns afectats o no.

Els trastorns genètics recessius ( mutacions del POLR1C o POLR1D) es donen quan la persona hereta el mateix gen mutat que tenen els seus progenitors. Si un individu rep un al·lel normal i un al·lel per a la síndrome, la persona serà portadora de la malaltia, però generalment no en mostrarà els símptomes.

El risc de que dos pares portadors transmetin el gen defectuós i per tant, que el seu fill/a estigui afectat és del 25% en cada embaràs. El risc de tenir un bebè que és portador com el pare i la mare és del 50% en cada embaràs. La possibilitat de que un infant rebi gens normals d'ambdós progenitors i que no es vegin afectats genèticament per aquet tret tan particular té un risc del 25%.

En la següent taula es veu com seria la possible herència dels descendents que tenen progenitors portadors d'un al·lel recessiu mutat.

Genotip:

- Pare Tt
- Mare Tt

	T (al·lel no mutat)	T (al·lel mutat)
T (al·lel no mutat)	TT (al·lels no mutats, no portador)	Tt (portador)
T (al·lel mutat)	Tt (portador)	tt (afectat)

Els investigadors han determinat que les mutacions del gen TCOF1, ubicat en el braç llarg del cromosoma 5 (5q32), causa la majoria dels casos. Els cromosomes, que estan presents en el nucli de les cèl·lules humanes, porten la informació genètica de cada individu. Les cèl·lules del cos humà normalment tenen 46 cromosomes; els parells dels cromosomes humans estan numerats de l'1 al 22 i els cromosomes sexuals es designen en X i Y. Els homes tenen un cromosoma X i un Y i les dones tenen dos cromosomes X.



Figura2. Al·lel 5 mutat.

Cada cromosoma té un braç curt designat com a "p" i un braç llarg designat com "q". Els cromosomes es subdivideixen en moltes bandes que estan numerades i les bandes numerades especifiquen la ubicació dels milers de gens que estan presents a cada cromosoma.

EL TCOF1 conté instruccions que codifiquen una proteïna coneguda com la *treacle*, i el seu paper precís en el desenvolupament de la síndrome no s'acaba de comprendre completament.

Els investigadors han determinat que la *treacle* desenvolupa un paper important en la creació de certes estructures petites que es troben dins les cèl·lules que aparellen proteïnes (ribosomes\*). Aquest fet és molt important per a la formació d'un grup de cèl·lules anomenades cèl·lules de la cresta neural\* que es formen precoçment durant el desenvolupament embrionari i donen pas a la majoria dels ossos i cartílags que es troben sota de la cara. Les condicions que sorgeixen de defectes en la formació (biogènesis\*) dels ribosomes es denominen *ribosomopathies\**.

El gen POLR1C i el POLR1D que codifiquen subunitats de les ARN polimerases I i III, també són essencials per a la biogènesis dels ribosomes.

Sembla probable que les mutacions en el gen TCOF1, el POLR1C i el POLR1D son els causants d'un acoblament insuficient de proteïnes que no permeten que les cèl·lules de la cresta neural durant la formació de l'embrió es desenvolupin.

Degut a que la STC és molt variable , els investigadors fan especulacions sobre quins altres factors genètics i possiblement ambientals puguin desenvolupar variables del trastorn genètic.

Recolzant aquest concepte, les dades experimentals recents ens indiquen que el *treacle* exerceix un paper molt important en la protecció contra el dany de l'ADN induït per l'estrès oxidatiu en les cèl·lules neurals, així com en la orientació de l'ús durant la divisió de les cèl·lules neurals, que posteriorment afecten al desenvolupament del cap i la cara.

### **6.3 Síntomes.**

Els símptomes i la severitat del STC poden variar dramàticament d'una persona a una altra, inclús entre membres de la mateixa família, algunes persones poden veure's lleument afectades i no ser diagnosticats i en canvi d'altres poden presentar anomalies molt significatives, patint complicacions respiratòries potencialment mortals.

És molt important tenir en compte que les persones afectades per la síndrome no tindran totes la mateixa simptomatologia.



Figura 3. Tres generacions d'una família afectada per la Síndrome de Treacher Collins. En el primer cas és inapreciable, al segon ja està més desenvolupat i al últim te una afecció bastant greu.

#### 6.4 Característiques específiques.

Les principals característiques d'aquesta síndrome abasten a alguns ossos de la cara, les orelles i els teixits tous del voltant dels ulls.

Les persones afectades presenten trets facials distintius i desenvolupen problemes d'audició i visió.

Les irregularitats de la Síndrome de Treacher Collins solen ser simètriques (gairebé idèntiques en ambdues parts de la cara) i estan presents al néixer. El desenvolupament del llenguatge es pot veure afectat per la pèrdua d'audició, el palada fes\* o problemes a la mandíbula i en les vies respiratòries.

La intel·ligència generalment no es veu afectada, ja que les anomalies cerebrals i de comportament, com la microcefàlia i el retràs cognitiu poques vegades formen part d'aquesta.

Els infants amb la Síndrome de Treacher Collins mostren unes galtes subdesenvolupades (hipoplàsia\*) o absents (molars\*), l'os de la mandíbula



inferior no està completament desenvolupada (hipoplàsia mandibular\*), el que fa que la barbeta i la mandíbula inferior semblin anormalment petites (micrognàtia\*).

Certes estructures òssies que ancoren parts de l'os de la mandíbula inferior al múscul poden ser inusualment planes o absents. També poden presentar una evolució de la gola anormal (hipoplàsia faríngia\*).

Aquest subdesenvolupament a la gola juntament amb la hipoplàsia mandibular i la micrognàtia poden contribuir a que presentin problemes en la alimentació i/o insuficiència respiratòria durant la primera infància.

Els infants poden experimentar apnea obstructiva de la son que es caracteritza per irrupcions breus i repetitives de la respiració normal i el moviment de l'aire mentre dormen (apnea infantil\*). En casos on els infants estan molt afectats per la síndrome es poden desenvolupar dificultats respiratòries que amenacen la seva vida.

Les anomalies addicionals que poden contribuir a les dificultats respiratòries o d'alimentació inclouen l'estretament o obstrucció de les vies respiratòries nassals (estenosis nasal o atrèsia\*).

Els nens i nenes poden desenvolupar també les característiques de "Seqüència de Pierre Robin": micrognàtia severa, llengua que es desplaça més cap endarrere de la boca del que és habitual, glosoptosis\*, i paladar fes.

A més a més, les malformacions de la boca i de la mandíbula poden produir anomalies dentals, dents poc desenvolupades i/o mal alineats (maloclusió\*) i/o dents perdudes (agenèsia dental\*), opacitat o decoloració de l'esmalt dental i erupció impròpia (ectòpica\*).

Les persones amb la Síndrome de Treacher Collins poden desenvolupar pèrdua d'audició degut a la falta d'ones de so a través de la oïda mitjà (pèrdua de l'audició conductiva). Aquesta pèrdua d'audició generalment es deguda a les anomalies que afecten a les estructures de dins de la oïda mitjà i/o també la malformació o absència dels ossicles\* (enclusa, martell i estrep). També moltes vegades hi ha absència de les estructures de l'oïda extern, són petites o estan mal formades (micròtia\*), amb estretament (estenosis\*) o bloqueig (atrèsia\*) dels canals externs de la oïda.

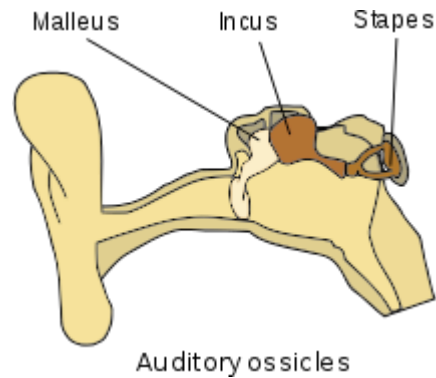


Figura 4. Estructura de l'interior de l'oïda, ossicles

Les orelles solen ser arrugades o rotades, però generalment no es veuen afectades, encara que es troben casos amb malformacions de l'òrgan espiral a l'oïda intern (còclea\*) i les estructures de dins de l'oïda intern que són els que es cuiden de l'equilibri (aparell vestibular\*).

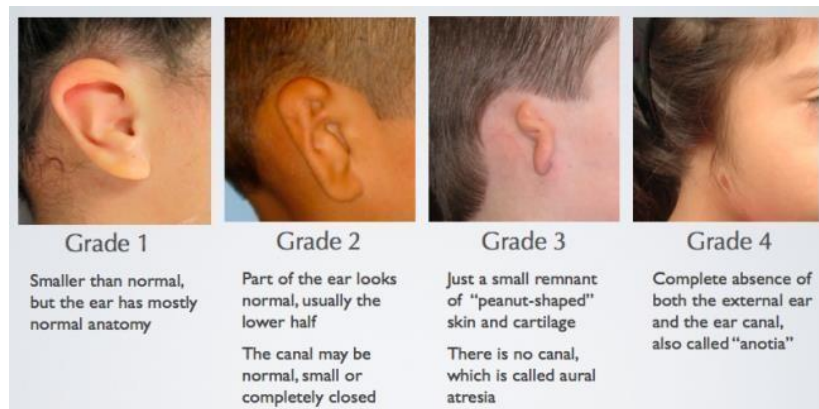


Figura 5. Diferents malformacions l'oïda extern característics de la STC.

Altres símptomes addicionals poden incloure la presència de pell o foses davant de l'oïda extern (etiquetes preauriculars\*) i un passatge anormal que està tancat en un extrem (fístula cega\*) que normalment drena les oïdes al nas.

Molts bebès amb STC presenten anomalies en el teixit que envolta els ulls. Aquestes diferències oculars poden donar una aparença facial trista. El símptoma ocular més comú és la inclinació cap a baix en l'obertura de les parpelles superiors i inferiors (fissures palpebrals\*), també s'inclou una osca de la parpella inferior o una esquerdada en el teixit de la parpella que falta, absència parcial de pestanyes en les parpelles inferiors, ulls creuats (estrabisme\*) seqüedat d'ulls i els conductes dels llagrimalls estrets (dacriostenosis\*).

Ocasionalment es poden observar malformacions del globus ocular i poden incloure osques o esquerdes del teixit que falta a l'iris o ulls anormalment petits (microftàlmia\*).

En alguns casos també podem trobar pèrdua de visió. El grau de ceguesa variarà segons la gravetat i la combinació de les anomalies oculars.

D'altres presenten característiques físiques addicionals com els ulls molt separats, osques en les parpelles superiors, deformitat nasal, boca molt ampla (macrostomia\*), paladar molt arquejat, creixement inusual del cabell del cap cap a les galtes i / o cardiopaties congènites.

Aproximadament un 5% dels individus mostren dèficits en el desenvolupament o problemes neurològics com retràs psicomotor. La intel·ligència, però, normalment no es veu afectada amb el normal desenvolupament del llenguatge. No obstant això, el problemes associats amb la parla són deguts a les dificultats que poden presentar amb la audició, el paladar fes o la distorsió estructural.

## 6.5 Trastorns relacionats

Els símptomes dels següents trastorns poden ser similars als de la Síndrome de Treacher Collins.

<b>Disostosis acro facial</b>	<u>La síndrome de Nager</u> : malformacions craniofacials que inclouen el subdesenvolupament del pòmuls (hipoplàsia malar); desenvolupament incomplet de la mandíbula inferior (hipoplàsia mandibular), que fa que la mandíbula aparegui anormalment petita (micrognàtia); orelles externes hipoplàsiques i / o mal formades (displàsiques) i canals auditius externs amb terminacions cega o absent (microtia), que resulten en una deficiència auditiva (pèrdua auditiva conductiva); i / o fissures palpebrals inclinades cap a baix , falta o absència de les pestanyes inferiors, i / o parpelles superiors caiguts (ptosis)
	<u>La síndrome de Miller</u> : les malformacions craniofacials que inclouen el subdesenvolupament dels pòmuls, una mandíbula inferior

	<p>anormalment petita, tancament incomplet del sostre de la boca, orelles petites, que sobresurten en forma de copa i /o absència de teixit.</p>
	<p><u>La distosis acro facial tipus Cincinnati:</u> és un trastorn hereditari rar caracteritzat per arcs zigomàtics subdesenvolupats (hipoplàsia malar), maxil·lar i mandíbula (micrognàtia). A més els individus afectats tenen fenotips variables.</p>
<p><b>La microsomia hemifacial</b></p>	<p>És un trastorn rar caracteritzat per anomalies craniofacials que afecten les mandíbules, la boca i les orelles</p>
	<p><u>Síndrome de Goldenhar:</u> subdesenvolupament dels pòmuls, la mandíbula superior i la mandíbula inferior (hipoplàsia malar, maxil·lar i mandibular), subdesenvolupament d'alguns músculs de la cara, anomalies de la llengua i paladar fes, i/ o llavi viperí, oïda externa mal formada (pinna) amb terminacions cegues o absència de canal auditiu extern (microtia), que resulten en una discapacitat auditiva, creixement anormal de la pell de les orelles (etiquetes de la pell).</p>

## 6.6 Teràpies

### 6.6.1 Teràpies estàndard

#### Tractament

No hi ha cura per a la Síndrome de Treacher Collins i el tractament està dirigit cap als símptomes específics que són evidents en cada individu. El tractament pot requerir esforços coordinats d'un equip d'especialistes. Els pediatres, els especialistes pediàtrics d'otorinolaringologia, dentistes, cirurgians plàstics, infermers, patòlegs de la parla, audiòlegs, oftalmòlegs, genetistes i altres professionals de la salut poden necessitar un pla sistemàtic i comprensiu per al tractament de l'infant.

Els metges monitoritzen regularment a les persones amb STC per detectar certes anomalies que poden estar associades amb el trastorn. L'audició de l'infant és crítica i ha de ser monitoritzada curosament per detectar qualsevol inici de pèrdua auditiva. La avaluació de l'audició d'un infant és crítica, s'ha de realitzar una avaluació completa precoç abans de l'any i després anualment per garantir un desenvolupament adequat de la parla.

S'utilitza el oftalmoscopi\* per poder veure l'interior de l'ull per detectar qualsevol possibilitat de discapacitat visual. Aquest examen és molt important per garantir passos preventius apropiats i/o un tractament ràpid per aquells que exhibeixen anomalies en els ulls associats amb el STC. Les persones afectades també han de ser monitoritzades per detectar anomalies dentals i de la mandíbula .

La intervenció quirúrgica primerenca és important per assegurar que els afectats aconseguixin el seu potencial. Els serveis especials que poden ser beneficiosos inclouen teràpies de la parla, recolzament social especial i altres serveis mèdics, socials i/o vocacionals. L'assessorament genètic serà beneficiós per a les persones afectades i per a les seves famílies.

### Cirurgia

En alguns pacients pot ser necessari la reconstrucció quirúrgica de malformacions craniofacials. La cirurgia es pot realitzar per reparar el paladar fes, per reconstruir la mandíbula o per reparar altres ossos del crani. Els procediments quirúrgics específics utilitzats i l'edat en la que es realitza la cirurgia dependran de la gravetat de les malformacions, la salut en general i les preferències personals.

Per exemple, diferents anomalies es poden tractar a diferents edats, el paladar fes normalment es corregeix entre els 1 o 2 anys d'edat, la reconstrucció zigomàtica i orbital generalment es fan entre els 5 i els 7 anys, la reconstrucció de la oïda externa o interna cap als 6 anys, l'allargament o reconstrucció de la mandíbula pot variar des de recents nascuts fins a l'adolescència, depenent de la extensió i la gravetat de la afecció.

Les vies respiratòries obstructives poden ser un problema un problema greu no sempre obvi per a les famílies o pels especialistes. Es poden fer servir estudis de la son per ajudar a determinar la gravetat de l'obstrucció i pot influir en el pla de tractament. En individus greument afectats es pot inserir un tub quirúrgicament a la tràquea per mantenir una via aèria efectiva (traqueotomia\*). A vegades es necessari un procediment conegut com distracció mandibular\*, es pot inserir un tub a l'estómac quirúrgicament per assegurar que els bebès afectats puguin alimentar-se i rebir la quantitat suficient de calories. (gastrostomia\*)

Es poden requerir múltiples cirurgies per tractar diverses anomalies craniofacials que estan potencialment associades amb la síndrome. A pesar del nombre de cirurgies, els resultats varien d'uns individus a uns altres i el resultat final poques vegades és totalment correctiu.

En alguns pacients, es pot realitzar una operació per tal d'ajudar a corregir malformacions de l'oïda mitjà i la pèrdua d'audició conductiva associada. No obstant això, els audiòfons especialitzats com els audiòfons amb ancoratge ossi (BAHA) poden ser suficients per a la majoria dels pacients. Aquests audiòfons transmeten el so directament a través de l'os cap a l'oïda intern sense passar pel canal auditiu extern i l'oïda mitjà. Es pot realitzar una cirurgia reconstructora per ajudar a corregir malformacions de l'oïda extern amb finalitat funcional i per raons cosmètiques. Generalment la reconstrucció de l'oïda extern és el primer que s'ha de fer.

### **6.6.2 Teràpies addicionals**

En persones amb STC que presenten anomalies oculars i deficiències visuals associades es poden utilitzar ulleres correctives, lents de contacte, cirurgia i altres tècniques de recolzament per ajudar a millorar la visió en alguns casos. Les dents artificials, els implants, els aparells ortopèdics, la cirurgia dental i/o altres procediments correctius poden utilitzar-se per corregir anomalies dentals.

#### Consideracions de anestesia

Els problemes estructurals de les vies aèries associades amb la síndrome de Treacher Collins poden dificultar que els anestesistes manegin i mantinguin una via aèria durant la cirurgia. S'ha de realitzar una avaluació adequada que inclogui una avaluació preoperatòria integral i una història clínica completa per tal de millorar una estratègia anestèsica.

### **6.6.3 Teràpies d'investigació**

En els gens TCOF1, POLR1C i POLR1D, dels models animals de STC, la proteïna p53, que ajuda al cos a eliminar les cèl·lules danyades, malaltes o no desitjades; s'activa de manera anormal. Això acaba produint la pèrdua de cèl·lules de la cresta neural cranial i, en conseqüència, les característiques del cartílag i de l'os craniofacial, produint les característiques de la STC.

Avenços recents estan investigant formules per poder inhibir la funció de la proteïna p53 o bloquejar els mecanismes que condueixen a l'activació de la p53 com a possibles tractaments terapèutics per tal de poder prevenir el desenvolupament de la Treacher Collins.

Estudis recents en models animals que imiten la STC en humans indiquen que la suplementació amb antioxidants en la dieta poden protegir les cèl·lules neurals i així protegir a l'embrió del dany que podrien patir i així facilitar el desenvolupament craniofacial normal.

Alguns investigadors estan estudiant l'ús de cèl·lules mare\* trobades en els teixits adiposos com a teràpia complementària per millorar els resultats de la cirurgia en persones amb trastorns craniofacials com la STC. Resultats inicials han demostrat que els resultats quirúrgics poden millorar-se utilitzant aquestes cèl·lules mare per ajudar a estimular el recreixement de les zones afectades. No obstant, aquesta teràpia és experimental i controvertida, i requereix més investigació per determinar la seva viabilitat com a teràpia potencial.

## **6.7 Proves clíniques per la detecció de la Síndrome de Treacher Collins**

Els estudis de raigs X especialitzats confirmaran la presència i/o l'abast de certes anomalies craniofacials observades. Les proves d'imatge poden mostrar la micrognàtia, la hipoplàsia mandibular, i a partir d'aquí la presència i/o el grau d'hipoplàsia que afecten a certes parts del crani i/o la presència de malformacions addicionals de la oïda que no es poden fer durant l'avaluació clínica.

A més a més, en aquells individus afectats que mostren pocs trets característics de la síndrome, un examen clínic complet i una imatge de raigs X de l'àrea craniofacial poden mostrar la presència subtil de certs trets característics associats al STC com la hipoplàsia d'arcs zigomàtics\*. Degut a que la STC comparteix algunes de les característiques anòmales a altres malalties rares\*, molts investigadors recomanen que la confirmació diagnòstica es porti a terme a través de proves genètiques moleculars i/o en alguns casos un historial familiar acurat.

Les proves genètiques moleculars que poden confirmar el diagnòstic es troben en laboratoris d'investigació comercials i acadèmics per tal de detectar mutacions en els gens TCOF1, POLR1C i POLR1D.

Entre el 95% i el 98% de les persones afectades tenen una mutació identificable del gen TCOF1. A més a més, la confirmació genètica d'una mutació en els gens TCOF1 o POLR1C o un POLR1D es poden detectar prenatalment, mitjançant la amniocentesis i un mostratge de vellositats coriòniques si s'ha identificat una mutació en algun membre de la família afectat. En alguns casos l'ecografia fetal, on s'utilitzen ones sonores reflectides per a crear una imatge del fetus en desenvolupament pot aportar troballes característiques que suggereixen la STC. Els familiars, especialment els pares i germans d'un individu diagnosticat han de ser examinats curosament perquè com s'ha dit anteriorment, els casos lleus sovint passen desapercebuts i no es diagnostiquen.

#### Diagnòstic genètic preimplantacional (DGP)

El DGP és un procés que es realitza dins de programes de fecundació in vitro. Consisteix en l'estudi del material genètic d'òvuls o embrions que permetrà



detectar les alteracions hereditàries i així seleccionar els embrions que no presenten cap alteració cromosòmica i transferir-los al úter de la matern.

És una tècnica molt útil quan hi ha antecedents de malalties genètiques o cromosòmiques a una família per a poder evitar una transmissió d'alteracions hereditàries.

Aquest estudi dels embrions es produeix a la fase on tenen entre 6 a 8 cèl·lules, generalment el tercer dia del seu desenvolupament. Es realitza una biòpsia de totes les cèl·lules per a poder descartar aquelles que presenten l'anomalia genètica concreta que s'estigui determinant per finalment seleccionar únicament els embrions sans.

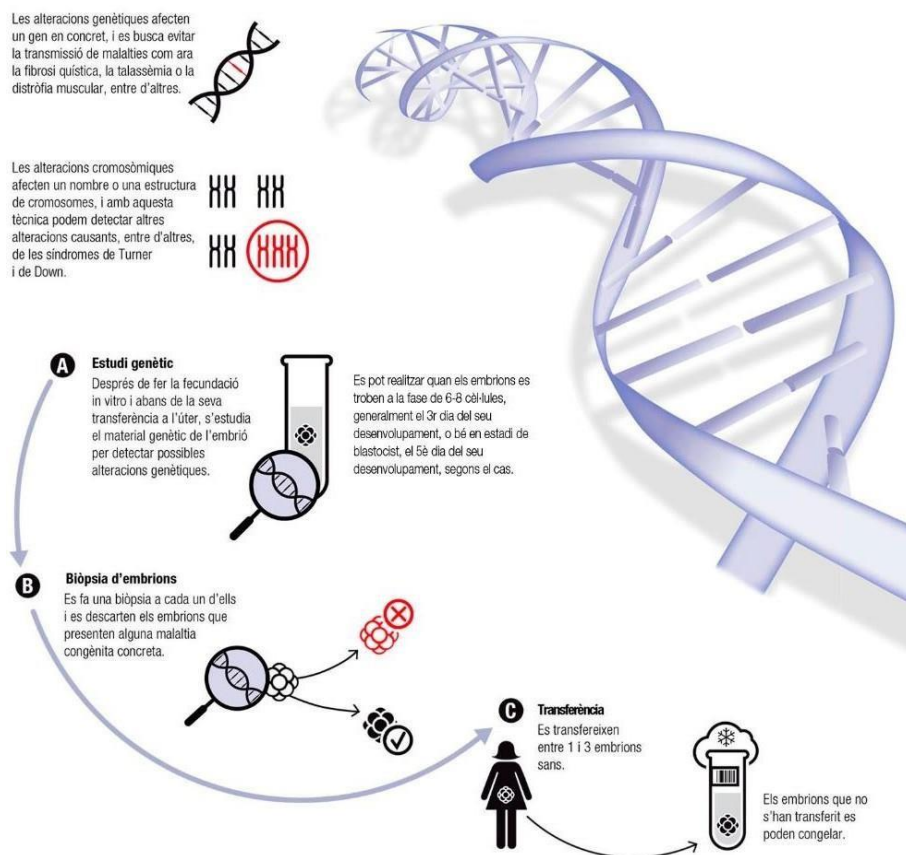


Figura 6. Esquema dl funcionament de la tècnica DGP

## 7.TÈCNICA CRISPR

### 7.1 Què és la tècnica CRISPR?

L'acrònim CRISPR, és el nom de unes seqüències repetitives presents a l'ADN dels bacteris, que funcionen com autovacunes. Contenen el material genètic dels virus que han atacat el bacteri al passat, i que permet reconèixer si es repeteix la infecció i defensar-se davant d'ella tallant l'ADN dels invasors.

Els científics han après a utilitzar l'eina CRISPR fora de dels bacteris per a tallar i enganxar trossos de material genètic a qualsevol cèl·lula. El poder d'aquestes estisores moleculars es immens. Per això, va ser considerat l'avenç científic més gran del any 2015. Justament pel seu gran poder les pròpies creadores adverteixen que s'ha de controlar la seva utilització.

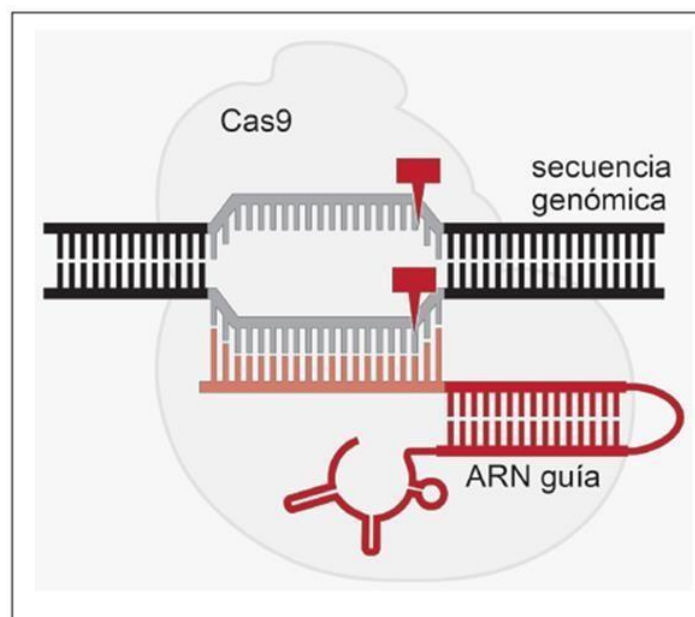


Figura 7. Simulació tècnica CRISPR-Cas9

### 7.2 Com funciona?

En les últimes dècades els investigadors s'han centrat en superar les limitacions amb l'objectiu de desenvolupar un mecanisme d'edició genòmica capacitada per generar nombrosos canvis en el genoma de la cèl·lula de forma coordinada i precisa. Avui dia, les estratègies emprades als laboratoris per manipular de forma específica i directa seqüències del genoma d'organismes vius són disperses.

Les eines que destaquen avui en dia són les nucleases de dits de zinc (ZFN) , les nucleases tipus activadores de transcripció (TALEN) i les revolucionàries nucleases\* de seqüències palindròmiques repetides inverses (CRISPR-Cas). Les dues primeres estan basades en proteïnes enzimàtiques constituïdes per una regió catalítica d'escissió de l'ADN i una regió guia de reconeixement del gen diana que s'hagin de manipular.

Les TALENs són més fàcils de dissenyar que les ZFN; no obstant això, ambdues degut a la seva mida són difícils d'administrar complicant la capacitat de generar múltiples canvis genètics simultanis.

Pel contrari les nucleases CRISPR-Cas9 ofereixen als científics la possibilitat de canviar una seqüència d'ADN d'una forma més fàcil, ràpida i precisa en diferents punts concrets del genoma dins d'un organisme viu.

El sistema CRISPR-Cas9 és un mecanisme de defensa emprat per alguns bacteris per tal d'eliminar virus o plasmidis invasors. Aquest sistema té un component proteic Cas9\* amb activitat de nucleasa, que talla l'ADN, i un ARN guia que dirigeix a l'anterior domini catalític cap a la seqüència d'ADN que es vol editar.

El procés d'edició genòmica amb CRISPR-Cas9 inclou dues etapes:

- A la primera etapa l'ARN guia complementari a la regió de l'ADN que es vol modificar, i sintetitzat prèviament, s'associa amb l'enzim Cas9. A més a més, gràcies a les regles de complementarietat de nucleòtids, l'ARN hibrida amb la seqüència d'interès present en el genoma, dirigint la nucleasa Cas9 a tallar l'ADN a la regió concreta.
- En la segona etapa s'activen els mecanismes naturals de reparació de l'ADN fragmentat. Aquesta reparació de mutacions d'inserció o deleció\*, que si estan localitzades dins d'un gen poden donar lloc a la pèrdua de producció de la proteïna que codifica, fa possible una aplicació per tal d'inhabilitar gens.

Si es proporciona a la cèl·lula una molècula d'ADN que serveixi com a motlle durant la reparació a la que s'afegeix un canvi, la cèl·lula el copiarà i el canvi quedarà incorporat en l'ADN. Aquesta altra aplicació, la introducció de canvis específics en posicions concretes, suposa un dels aspectes més prometedors de

la tècnica, ja que permetrà corregir errors en els gens responsables de causar malalties.

A més els sistemes poden ser utilitzats per regular l'expressió gènica, o inclús per introduir modificacions epigenètiques\*, inactivant l'activitat nucleasa de Cas9 i incorporant-la en mòduls que interaccionen amb elements reguladors de l'expressió gènica capaces de portar a terme canvis en la metilació o modificacions de les histones.

El desenvolupament de la tecnologia CRISPR-Cas9 ha inaugurat una nova era per a la enginyeria genètica en la que es pot editar, corregir i alterar el genoma de qualsevol cèl·lula d'una manera fàcil, ràpida, econòmica i molt precisa.



Figura 8. Pas a pas la tècnica CRISPR-Cas

### 7.3 Qui va impulsar la tècnica CRISPR?

La funció va ser anunciada anteriorment pel microbiòleg Francis Mojica l'any 2005. En els següents anys, diferents equips científics van emprar els seus mecanismes i, entre els anys 2012 i 2013, el equips de Jennifer Doudna,

Emmanuelle Charpentier i Feng Zhang, entre d'altres, van desenvolupar una eina senzilla, versàtil i amb una gran potència amb la capacitat d'editar l'ADN de qualsevol tipus de cèl·lula.

#### 7.4 Evolució de la tècnica CRISPR

- 1- Francisco Mojica, de la Universitat d'Alacant va descobrir unes repeticions en el genoma dels arqueobacteris\*. L'any 2005 va postular que les seqüències són un sistema immunològic adaptatiu. Va ser el primer en crear i utilitzar (encunyar) les sigles "CRISPR".

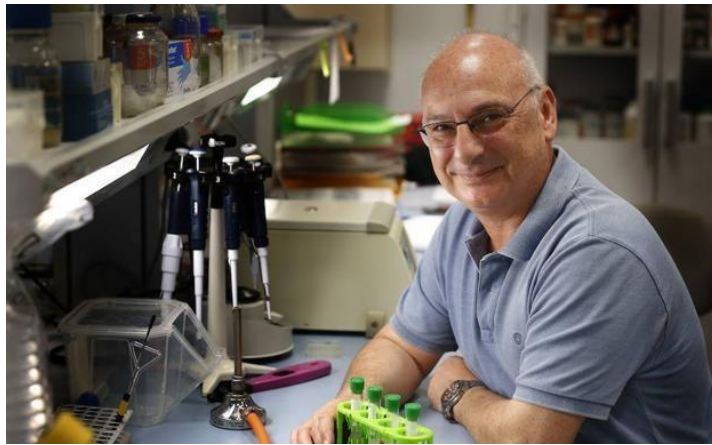


Figura 9. Francisco Mojica.

- 2- Al maig del 2005 l'equip d'Alexander Bobtin, a França, descobreix el sistema de proteïnes Cas 9 que acompanya la CRISPR.

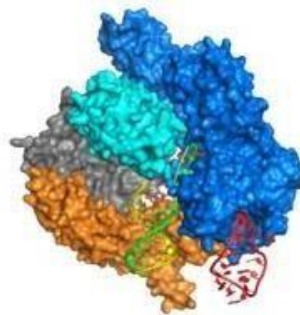


Figura10. Cas9

- 3- Al març del 2006, Eugene Koonin, del Centre Nacional per a la informació Biotecnològica de EEUU, proposa un esquema per a la immunitat adaptativa del CRISPR.

- 4- Al març del 2007, Científics de la companyia de iogurts de Danislo France, proven experimentalment que CRISPR està formada per l'ADN de virus, que permeten a la bactèria lluitar contra les pròximes agressions.
- 5- Agost del 2008, el grup de John van der Oost, de la Universitat de Wageningen (Holanda), descobreix que la informació del virus es transcriu en molècules d'ARN que guien a la Cas 9 cap al seu objectiu.



Figura 11. John van der Oost.

- 6- Desembre del 2008, sorprenentment se'n adonen que l'objectiu de CRISPR es tallar l'ADN i no l'ARN com es pensava.

Això ho descobreixen, Luciano Marraffini i Erik Sontheimer de la Universitat Northwestern a Illinois.



Figura 12. A la dreta Luciano Marraffini.

- 7- Desembre 2010, Sylvain Moineau, de la Universitat de Laval a Quebec, Canadà, confirma que les estidores de Cas9 poden tallar posicions precises de l'ADN.



Figura 13. Sylvain Moineau.

- 8- Març del 2011, Emmanuele Charpentier, de la Universitat de Umea (Suècia), completa el mecanisme que emprava el ARN per a guiar el Cas 9.

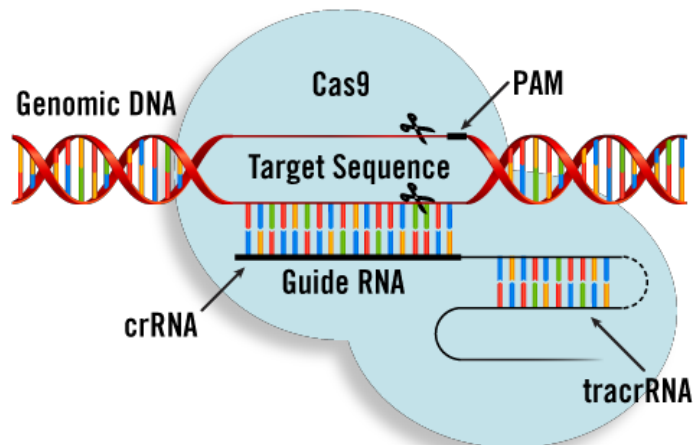


Figura 14. Sistema CRISPR-Cas9 guiat.

- 9- Juny del 2012, Charpentier, junt amb Jennifer Doudna de la Universitat de Califòrnia a Berkeley, anuncia la creació de un sistema artificial per Cas 9 cap el lloc desitjat.



Figura 15. Charpenyier i Doudna recollint el Premi Princesa d'Astúries.

10- Setembre del 2012, Virginijus Siksnys, de la Universitat de Vilna, a Lituania, aconsegueix reprogramar Cas 9 per a que talli l'ADN al lloc escollit. Els seus resultats són anàlegs als de Charpentier i Doudna.



Figura 16. Virginijus Siksnys.

11- Gener del 2013, Feng Zhang, de l'Institut Broad (EEUU), adapta CRISPR-Cas 9 i aconsegueix editar l'ADN de les cèl·lules complexes, com les de ratolins o humans.

George Church, de la Universitat de Harvard, obté també resultats similars.



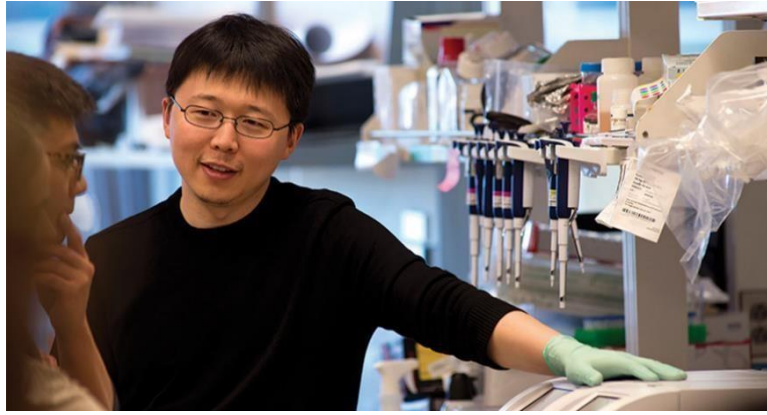


Figura 17. Feng Zhang.

12- Desembre 2013, Investigadors de la Xina, liderats per Yaxuan Wu, i corregeixen una mutació causant de les cataractes sobre les zigots de ratolins.



Figura 18. CRISPR va corregir un defecte genètic causant de cataractes en un ratolí mutant (esquerra); del ratolí del model de cataractes (dreta)

13- Gener del 2014, L'equip de XihgXu Hueng, de la Universitat de Xanjing (Xina), modifiquen embrions de monos.



Figura 19. Bessons de macaco modificats genèticament.

14- Març del 2014, Científics del MIT curen amb la CRISPR una malaltia metabòlica a ratolins en edat adulta.

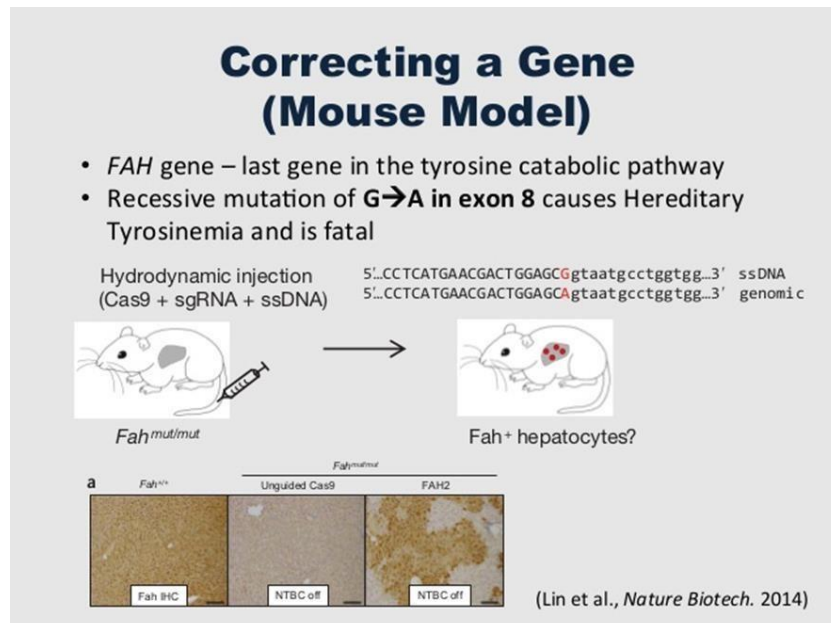


Figura 20. Esquema experiment.

15- Novembre del 2016, CRISPR es prova per primer cop en humans. Un grup de la Universitat Dr. Sichuan (Xina), talla un gen que afavoreix al càncer de pulmó i l'injecta a una persona afectada cèl·lules amb el gen modificat.

16- Febrer 2017, la *Oficina de Patentes de EEUU* atorga una sèrie de patents de CRISPR- Cas 9 a Zhang, davant a Doudne i Charpentier.

El *Broad Institute* lluita per el control de les amplificacions més lucratives en plantes, bestiar i humans.



Figura 21. El *Broad Institute*

17- Agost 2017, científics de EEUU, Xina i Corea del Sur reparen per primera vegada en embrions humans una mutació que causa miocardiopatia\*. El polèmic experiment, encara en revisió, es va realitzar als EEUU amb més d'un centenar d'embrions.



Figura 22. Embrions dos dies després de injectar-los components CRISPR amb esperma del donant

18- Agost 2017, el Laboratori eGenesis de la Universitat de Harvard (EEUU) emprà CRISPR- Cas 9 per eliminar en porcs vius gens de retrovirus. Aquest avanç facilita els trasplantaments d'òrgans dels porcs als humans.



Figura22. Porcs lliures de retrovirus endògens creats així gràcies a la tècnica CRISPR.

19- Octubre 2017, l'equip de Feng Zhang crea una nova versió de CRISPR que edita l'ARN, en lloc de l'ADN. Amb això altera l'expressió genètica sense fer canvis en el genoma, el que provoca alleujament per les preocupacions ètiques.

20- Novembre del 2018, el Doctor He Jiankui i el seu equip de Southern University of Science and Technology de la Xina anuncien el naixement de les primeres bessones a les que se lis ha modificat l'ADN amb la tècnica CRISPR-Cas9. El procés va consistir en desactivar el gen CCR5 per tal de que no formes proteïnes que permetessin l'entrada del virus VIH ja que uns dels progenitors n'està afectat.



Figura 24. Doctor He Jiankui a una roda de premsa per a anunciar el seu estudi ja realitzat.

## 7.5 Aplicacions de la tècnica CRISPR

Es pot aplicar en quasi bé qualsevol situació en que es desitgi modificar la seqüència d'ADN. Està sent molt útil a la investigació bàsica per generar models de malalties que abans a penes podien ser estudiades, així com per a estudiar noves dianes i fàrmacs.

També està deixant produir amb major seguretat plantes transgèniques, el que porta a conflictes legals, ja que en realitat no s'introdueix cap gen, sinó que es modifica un ja existent.

La tècnica CRISPR a més permet dur a terme projectes de caràcter genètics on un gen modificat s'hereta amb una possibilitat casi del 100%, i fa que es modifiquin poblacions senceres en només unes generacions.

Les aplicació més esperada però, es en el camp de la medicina ja que és on s'anhela més la utilització d'aquesta teràpia gènica.

## **7.6 Quines malalties s'intenten curar amb la tècnica CRISPR?**

Inicialment, les investigacions per a la seva aplicació estaven dirigides al tractament de malalties causades per alteracions d'un sol gen, tot i que addicionalment altres podrien beneficiar-se.

Les malalties en les que més es treballa per a poder dur a terme assajos estan manifestades a llocs accessibles, com l'ull, la sang o els músculs. En alguns assajos clínics esperats, estan dirigits a les dolències greus com l'amaurosi congènita de Leber (un tipus de ceguera), l'anèmia de Fanconi o la distròfia muscular de Duchenne.

### Primer assaig clínic de la tècnica CRISPR.

El passat 28 d'octubre del 2016 es va dur a terme a Xina el primer assaig clínic mundial que va injectar cèl·lules amb gens editats mitjançant la tecnologia CRISPR-Cas 9 a un pacient amb càncer de pulmó.

Van injectar limfòcits genèticament modificats com una estratègia terapèutica per promoure la resposta del sistema immune i així eliminar les cèl·lules tumorals malignes. Per assolir aquest objectiu, el gen que codifica la proteïna PD-1, (Programmed Death-1), va ser apagat amb la tecnologia CRISPR-CAS9, per la qual cosa s'espera que l'acció del sistema immune intervingut pels limfòcits en contra del càncer sigui més efectiva. Tot i que ja existeixen tractaments aprovats per al càncer de pulmó, on la proteïna PD-1 és bloquejada per immunoteràpia, s'espera que la inactivació del gen PD-1 sigui una estratègia terapèutica amb major eficiència i estabilitat

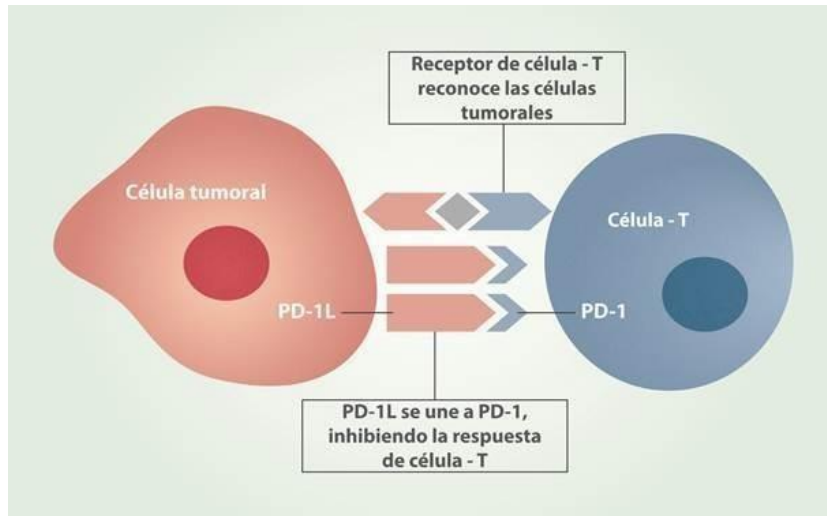


Figura 24. Esquema que indica la inhabilitació del gen PD-1 amb la tècnica CRISPR

Les cèl·lules tumorals poden inhibir la resposta immune de l'organisme mitjançant la unió a proteïnes en la superfície de les cèl·lules T, com ara PD-1. La tecnologia CRISPR-CAS9 que desactiva el gen PD-1 reactiva la resposta immune.

### 7.7 Pot causar efectes negatius?

Al ser una tècnica tant recent, no se sap tots els efectes secundaris que pot tenir per tots els casos, per això es necessari anar pas per pas i cas per cas i valorar individualment el risc-benefici de cada un.

Tot i això, hi ha dos problemes principals, el primer és que es produeixin talls a zones no desitjades de l'ADN (*off-target*), o que les alteracions *on-target*, puguin donar lloc a mutacions perilloses o inclús més perjudicials al mateix lloc que volem editar.

L'altre problema és poder fer arribar els components de la tècnica CRISPR fins la cèl·lula. Actualment el que més s'utilitza són un tipus de virus amb una perillositat molt petita que els transporten i introdueixen sense inserir-los a l'ADN. Encara que ara hi ha nombroses investigacions per a dur-ho a terme a través de nanotecnologia\* que faria que fos més específica i eficaç.

## **7.8 Podem utilitzar la tècnica en embrions?**

Igual que podem utilitzar-la per a la modificació de cèl·lules adultes, també pot fer-se servir per a gàmetes o amb cèl·lules embrionàries. D'aquesta manera es podria corregir una alteració genètica i la seva malaltia en totes les cèl·lules futures del individu i per tant dels seus descendents. Els problemes estan quan es tracta de trastorns com la síndrome de Down, que afecta a un cromosoma sencer.

Ja hi ha dos experiments publicats a la Xina entre els anys 2015 i 2016 en els que s'han modificat amb la tecnologia CRISPR-Cas9 embrions humans que eren incompatibles amb la vida. En l'últim, un equip d'investigadors de la Universitat Mèdica de Canton (sud de la Xina) va alterar zigots per fer-los immunes al VIH.

També, investigador de la Universitat de Ciències de la Salut d'Oregon a Portland (EE. UU.) Shoukhrat Mitalipov, l'agost del 2018 va informar que havia aconseguit corregir amb èxit una mutació genètica a dotzenes embrions humans. Aquests embrions van ser posteriorment destruïts com a part de l'experiment.

Tot i aquests experiments, encara no es pot assegurar que durant l'aplicació de la CRISPR és produeixin errors que després crearan nadons amb terribles defectes. A més aquí entren en joc els problemes de la bioètica.

"La incapacitat de detectar grans parts eliminades del genoma podria tenir resultats desastrosos a les potencials aplicacions clíniques"- diu Paul Thomas de la Universitat de Adelaida (Austràlia).

"La medicina va desenes d'anys per davant de la societat perquè en l'afany d'innovar no tenim barreres, però hem d'intentar traslladar aquests models bàsics a models més humans"- destaca Pablo Menéndez, de la International Computer Room Experts Association (ICREA) .

## **7.9 La CRISPR i les malalties rares**

La tècnica CRISPR, també s'està utilitzant per a estudiar les malalties rares que tenen origen genètic i així poder tractar-les de de l'arrel modificant el seu ADN.

Però alguns assajos clínics que havien d'arrancar durant el 2018 han hagut de ser aplaçats, tot i això l'esperança no és perd; avui en dia CRISPR està sent investigada per a poder cercar cures a les malalties més minoritàries. Per a EEUU i Europa al 2019 podrien veure desenes de sol·licituds per a poder dur a terme diferents assajos.

Així que entre els anys 2018 i 2019, nombroses malalties rares posaran a prova les capacitats de la CRISPR per a evitar l'afecció dels pacients de les malalties.

### **7.10 És el futur de la CRISPR prometedor?**

La tècnica CRISPR dona moltes esperances per a la curació de moltes malalties que mai han estat estudiades o se'ls hi ha trobat un fàrmac. Els experts asseguren que mantenir les esperança en ella no és una disbarat, la seva investigació està avançant molt ràpidament tot i que potser no es podrà utilitzar fins d'aquí a uns anys. Un cop sigui possible, els resultats resultaran molt beneficiosos.

Però primer s'han d'assegurar com utilitzar la CRISPR per a que sigui totalment eficient i que no provoqui més problemes. Aquests problemes podrien causar rebuig per part de la societat i, amb això, dificultar el desenvolupament de la tècnica.



## 8. LA BIOÈTICA

Les noves tècniques que és desenvolupen en el camp de la ciència són cada vegada avenços més grans per a la humanitat, però també poden generar debats amb molta controvèrsia. Els dilemes ètics que sorgeixen a partir d'aquestes noves investigacions són analitzades per la bioètica.

### 8.1 Què és la bioètica?

Es tracta d'una disciplina que tracta tant la investigació biològica com les seves possibles aplicacions. L'objectiu per tant, és brindar uns principis que proporcionin una conducta adequada respecte les distintes formes de vida i l'ambient en el que es genera les condicions vitals de vida de les espècies.

Principis bioètics fonamentals:

- Principi d'autonomia: capacitat del pacient per poder establir les regles i normes sense influència de pressions externes a la seva decisió
- Principi de beneficència: els investigadors han de tenir com a objectiu el benestar dels participants en un assaig clínic o un altre estudi d'investigació. En el cas de la salut pública, el principi de beneficència implica actuar en el millor interès de la població o la societat en conjunt.
- Principi de no maleficència: evitar qualsevol acte que pot causar perjudicis o mals al pacient. En alguns casos s'ha de fer mal per ha poder dur a terme el que es vol aconseguir, per tant s'interpreta com que no s'ha de fer mal innecessàriament.
- Principi de justícia: tots els individus han de ser tractats per igual, sense que intervinguin prejudicis per les seva ideologia, ètnia o situació econòmica, entre altres aspectes.

## **MARC PRÀCTIC**

Com he explicat a l'inici, el meu treball de recerca consisteix en fer entrevistes a pacients, genetistes i metges que em puguin ajudar a confirmar la meua hipòtesis i a més fer un estudi genètic del cas d'una de les pacients.

## **9.RESULTATS**

En els resultats he fet un resum de totes les entrevistes que he dut a terme i de l'anàlisi que he fet a l'arbre genealògic de la família d'una pacient.

### **9.1 Resum entrevistes**

Les entrevistes completes estan als annexes; aquí només he fet un resum d'allò més essencial.

#### Entrevista 1

L'Eva Puga és una dona de 40 anys que pateix la Síndrome de Treacher Collins i la seva filla de 14 anys també la pateix.

Quan ella va néixer la STC era una malaltia que mai havia estat vista pels metges que la van tractar fet que fa fer que durant un any estigues a l'Hospital de la Vall d'Hebron per a diagnosticar-li.

En el seu cas la seva afecció no és molt greu, ella només ha tingut problemes auditius i va començar a tractar-se amb 15 anys però les pròtesis d'orelles que li van posar van ser rebutjades pel seu organisme i per tant només porta l'audiòfon que necessita per a escoltar.

En canvi en el cas de la seva filla Laura, està més afectada; ella va néixer amb la fissura palatina\* fet que va portar-la a passar per intervencions repetides des de petita, també ha hagut de fer-se els implants de Baha per a escoltar. A més ella està decidida que vol la reconstrucció total de la seva facis per tal de assemblar-se el menys possible a una persona amb STC.

L'Eva també em va explicar quina era la reacció de les persones respecte a la seva síndrome i com això complica la convivència amb un mateix ja que viure amb una discriminació constant pot fer que la teva autoestima baixi molt. Per sort ella ha après a conviure amb les mirades mal educades i de pena i ha intentat transmetre a la seva filla que una facis no comú no et fa pitjor. En el cas de la Laura, la seva filla, vol desfer-se totalment de ser una nena Treacher Collin i ser només la Laura Reixach.

## Entrevista 2

L'Aranzazu Balfagón, és una biòloga de la branca genètica i a més és professora sanitària.

Durant la meua entrevista a la biòloga Aranzazu Balfagón, m'he focalitzat principalment en entendre el perquè de l'error genètic que presenten els afectats de la STC, com detectar-la, en que consisteix la tècnica CRISPR, com aplicar-la, i conèixer la seva opinió.

La STC te dos tipus d'afecció, la d'herència autosòmica i la d'herència recessiva però realment són tres els gens els que poden estar alterats per a provocar una afecció de la STC. El gens TCOF1 i POLR1D que són els dominants i el POLR1C, el recessiu.

M'ha explicat que hi ha la creença de que aquests són responsables per a un bon desenvolupament de les estructures craniofacials durant l'inici del desenvolupament de l'embrió, per tant si estan alterats fa que l'evolució facial pari prematurament.

Per a detectar la STC, m'ha dit que pot fer-se a través de tècniques moleculars buscant mutacions i que si hi ha anomalies congènites importants és poden sospitar a les ecografies. Però per a poder detectar-ho s'ha de tenir una sospita perquè sinó no es durà a terme.

També m'ha dit que la millor manera per a evitar la STC és a través del diagnòstic genètic preimplantacional ja que amb aquesta tècnica descartes directament els embrions afectats i implantas al úter els correctes.

La Dra. Balfagón m'ha comentat que no li trobava sentit al fet de que volgués aplicar-li a una malaltia congènita una tècnica quan el mal ja estava fet. Exposant-li la meva idea de fer-ho abans de que es produís, ella m'ha dit que considera que pot ser un experiment molt estimulants, però que creu que tot i així avui en dia no és una opció viable.

### Entrevista 3

La Dra. Judith Dalmau Bassadas, és metgessa i la directora del EAP de la Vall del Tenes i treballa al CAP la Cruïlla de Llicà d'Amunt.

En aquest cas les meves preguntes han estat dirigides principalment a la STC, com detectar-la i a presentar-li la tècnica CRISP.

La Dra. Judith m'ha explicat que ella coneix la STC degut a que una persona propera va veure's afectada sobtadament. El nadó que va néixer presentava una síndrome que mai havia estat present a la família. Per tant van ser víctimes d'una mutació de novo com el 60% d'afectats per malalties genètiques.

Amb fermesa la Dra. Judith m'ha dit que detectar una STC en un sistema públic amb les proves rutinàries que se li fan a una dona es impossible, a no ser que tinguem una sospita de l'afecció que pot presentar el nadó. I en cas de que ho detectéssim, al ser una malaltia congènita ja seria impossible fer-hi alguna cosa per a corregir-ho, així que el deure està en intentar millorar la vida dels afectats amb cirurgies.

Ella amb prou feines coneix la tècnica CRISPR, però m'assegura que en un sistema públic és inviable; per tant creu que on ens hem de centrar és en donar-los la oportunitats a aquells que estan afectats a tenir fills normals i sense mutacions.

I ha finalitzat la seva entrevista dient-me que no pot comprendre les injustícies que hi ha en centres públics sanitaris que se suposa que haurien de ser justos i donar les mateixes oportunitats a tots els ciutadans.

### Entrevista 4

La Dra. Esther Titos, és una metgessa que treballa al Centre de Diagnòstic Biomèdic de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Les meves qüestions en aquest cas han estat dirigides en descobrir a quina setmana els ossos facials de la cara comencen el seu desenvolupament, com podríem detectar-li a un embrió la seva afecció de la STC i si seria compatible aplicar la tècnica CRISPR.

La Dra. Esther Titos no està especialitzada en malalties genètiques però sí que va poder ajudar-me per a explicar-me que l'evolució dels ossos facials inicia en la setmana 4, és a dir molt d'hora, cosa que fa que no podem detectar la STC abans del seu desenvolupament facial i per tant no és pugui arreglar l'error cromosòmic que presenta el zigot. En canvi, si sabem que hi ha antecedents familiars que pateixen la síndrome, a través d'un diagnòstic prenatal podem detectar si l'embrió també està afectat i a partir d'aquí aplicar in vitro les tècniques que vulguem.

Respecte a la tècnica CRISPR, la Dra. Esther Titos va verificar-me que és possible utilitzar-la per a malalties genètiques però que aquestes han de ser conegudes. A més aquesta tècnica encara presenta moltes limitacions ja que les "tisoires" no acaben de ser del tot específiques i podrien crear problemes.

### Entrevista 5

La Dra. Cristina Fillat, és una metgessa cap del grup de Teràpia Gènica i Càncer de l'IDIBAPS ( Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer)

L'entrevista amb la Dra. Cristina ha estat una de les més fructíferes, ja que he après molt de teràpies gèniques, la seva utilització, els problemes que pot presentar dur-les a terme tan físicament com èticament, i els seus beneficis.

La CRISPR a Catalunya és una de les principals eines de laboratori, a més és una tècnica relativament fàcil i això explica perquè està sent tan utilitzada i se sent a parlar tant. I a més aporta unes funcions molt interessants.

Fins ara la tècnica CRISP s'ha utilitzat només per a reparar cèl·lules concretes o eliminar gens que no ens són beneficiosos de manera ex vivo, ja que són

cèl·lules extretes d'un cos viu que posteriorment s'introduiran novament. En processos in vivo però, tracta de introduir al pacient a través de sistemes de vehicle i que arribi al lloc que desitges modificar.

D'assajos in vivo fins fa poc no s'havia fet cap, i els que han començat encara no han donat cap resultat. A més el sistema CRISPR pot tenir problemes de *off-target* provocant talls no desitjats a llocs de de l'ADN que són essencials.

Li he comentat a la Dra. Cristina el perquè estava fent la recerca sobre la CRISPR i ella m'ha dit que utilitzar-la per a la STC no és un disbarat, sinó que com que és tracta d'una malaltia congènita, el que s'hauria de fer és crear un assaig pre-clínic experimental amb models animals. I després, veure en diferents estats del desenvolupament del nadó durant l'embaràs quina seria la utilitat de la CRISPR, i a partir d'aquí veure si és possible o no un assaig clínic.

També m'ha comentat que està segura que una evolució tan prematura i ràpida de la tècnica CRISPR acabarà creant problemes i amb això un rebuig per part de la societat. Però ella creu que tot i així aquests errors també poden beneficiar-nos i ajudar a millorar la tècnica, encara que ella no voldria ser responsable d'un assaig d'aquestes característiques.

## Entrevista 6

La Dra. Aurora Sánchez, és una metgessa del Servei de Bioquímica i Genètica Molecular de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Amb la Dra. Aurora Sánchez també he tingut una de les entrevistes més interessants i en les que he après més sobre la STC. Durant el qüestionari hem aprofundit molt en l'expressió dels gens, tècniques que porten a detectar-los i explicacions per a les malalties genètiques sobtades.

Inicialment m'ha explicat les principals característiques que presenta un afectat de STC, també m'ha parlat que el gen més usual que els afecta és el TCOF1 però que hi ha un percentatge més minoritari en el qual les persones tenen alterats els gens POLR1C i POLR1D. També m'ha dit que el POLR1C és un al·lel recessiu a diferència dels altres dos. A més m'ha dit que en les malalties

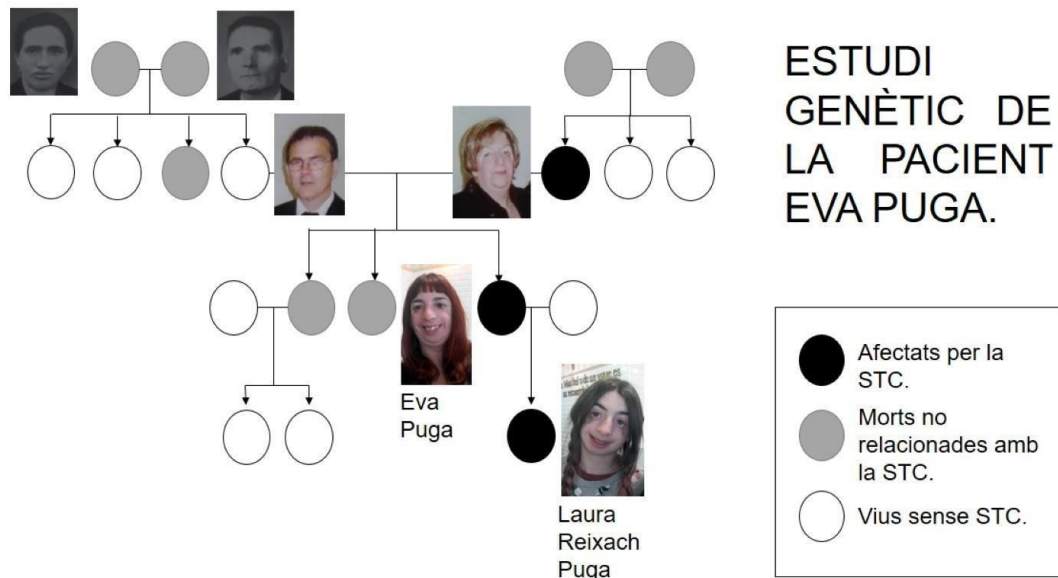
genètiques existeix un axioma no escrit que, a mida que passa el temps, la seva gravetat és més gran.

Per tant quan tenim algú que està afectat per STC i vol saber si el fill també la pateix, ella fa una seqüenciació completa del gen que el progenitor pateix i detecta si també està afectat.

El problema és que el 70% de nens que neixen amb mutacions genètiques són causades per una mutació "de novo", fet que és inexplicable, i per tant detectar un STC sense cap sospita prèvia és molt impossible.

Ella ha vist un total de sis casos d'afectats de STC i considera que és una síndrome molt espectacular perquè, el que observes quan veus a una persona amb les característiques de la Treacher Collins, el que es veu pràcticament és com un cadàver. I clar, per una persona que ha de conviure amb ella és molt complicat ja que se'n adona perfectament del que succeeix al seu voltant i que és el centre de les mirades. A més ells no tenen cap altre problema sinó que només els característics de la malaltia.

## 9.2 Estudi genètic de la pacient.



A l'hora d'analitzar l'arbre genealògic de l'Eva Puga, he pogut observar que la seva mare també està afectada per la STC, tot i que quasi bé és inapreciable veure les característiques d'un malalt de STC, amb la hipoplàsia mandibular i la inclinació cap a baix dels ulls. La mare de l'Eva mai va ser diagnosticada i, per tant, quan ella va néixer va ser rebuda molt sobtadament.

Per aquesta raó podria afirmar que la mare de l'Eva Puga va ser la primera generació afectada per la STC i degut a una mutació "de novo", a no ser que algun altre familiar ho hagués patit, però no puc verificar-ho ja que no he rebut més detalls.

En el cas de la filla de l'Eva, la Laura, ja tenia un 50% de possibilitats d'estar afectada per la STC, i així va ser. En el cas de l'Eva i la Laura ja s'observen millor les característiques d'una persona amb la STC.

Finalment, amb aquests fets també podem observar el que va explicar-me la Dra. Aurora Sánchez, on es confirma que durant el canvi de generacions la malaltia s'ha anat expressant d'una manera més agressiva.



## **10.CONCLUSIONS**

### **10.1 Conclusions hipòtesis.**

Un cop he redactat completament el meu treball i sentint-me totalment complaguda amb tota la recerca que he dut a terme, estic preparada per a verificar o refutar la hipòtesis que vaig plantejar-me des d' un principi.

En la meva recerca m'he centrat principalment en fer una bona descripció de la síndrome de Treacher Collins i la tècnica CRISPR per a poder arribar a resoldre la meva tesi.

Durant la recerca, però, m' han anat sorgint més i més preguntes que amb l'ajuda d'expertes les he pogut resoldre, però que en un principi em dificultaven molt arribar al meu objectiu últim: saber si la síndrome de Treacher Collins podia ser tractada amb la tècnica CRISPR.

Abans de trobar-me amb mil inconvenients, vaig afirmar positivament que la CRISPR era la nova tècnica que ens ajudaria a evitar el desenvolupament de la Síndrome de Treacher Collins.

Ara bé, un dels principals problemes és que la síndrome de Treacher Collins és una malaltia genètica que, en la majoria dels cassos, ve donada per una mutació "de novo", la qual cosa fa que no es pugui sospitar que la dona embarassada esperi un nadó afectat.

Un cop vaig arribar a aquest problema vaig preguntar-me si a les dones els hi podríem fer una prova que verifiqués, abans de les sis setmanes, si el fetus té la STC, ja que és quan s'inicia la formació de les estructures del coll i el cap. I la resposta va ser negativa perquè, primer, a les dones embarassades només se'ls hi fan les proves pertinents per saber com va evolucionant l'embrió, i a més, que si no hi ha sospita, pot ser una despesa molt important si haguéssim de fer proves de seqüenciació dels gens de la STC a totes les dones en estat de gestació.

Per tant, quan és fa la seqüenciació d'un gen primer hi ha la sospita de que el nadó pot estar afectat perquè un dels progenitors n'està afectat o hi ha

antecedents familiars de la malaltia genètica, i després els experts donen els resultats a la setmana 11a de gestació. Sí que és un moment molt avançat, però per a la síndrome de Treacher Collins és massa tard si considerem que, a partir de la setmana 6a, ja no hi ha res a fer.

Amb tot això tenia clar que la STC difícilment podria ser tractada amb la tècnica CRISPR, i que per tant la meva hipòtesis es refutava. Però durant l'entrevista que vaig tenir amb la Dra. Cristina Fillat vaig canviar de parer.

I és que realment jo no puc ni verificar ni refutar la meva hipòtesis, ja que inicialment la tècnica CRISPR pot considerar-se vàlida per a qualsevol edició genòmica que decidim dur a terme. A nivell teòric, tot i els inconvenients trobats, és perfectament compatible la tècnica CRISPR amb el tractament de la STC. I finalment, per a valorar realment la compatibilitat d'ambdues, el que hauria de fer és una assaig preclínic amb models animals que estiguin dotats d'aquesta síndrome, com per exemple ratolins, i a partir d'aquí comprovar en quins estadis de l'embaràs seria funcional aplicar la teràpia de la CRISPR, i com és millor aplicar-la, de manera *ex vivo* o *in vivo*. Amb això podria, a més de veure en quina setmana/punt de la gestació és útil utilitzar la tècnica CRISPR, verificar si utilitzar-la ens crearia més problemes dels que tenim, ja que durant la recerca he pogut comprovar que la utilització de la CRISPR amb l'enzim Cas9 encara té moltes mancances degut a la seva poca precisió. Aquest és el fenomen que he descrit anteriorment com a *off-target*.

En el cas que els assajos preclínic em donessin els resultats esperats, podria iniciar uns assajos clínics, i amb aquets veuria quines són les variacions que pot patir l'aplicació en els éssers humans, ja que el model animal i el model humà, tot i tenir una semblança en els seu desenvolupament, poden presentar diferents reaccions.

Com a conclusió, no puc afirmar en cap cas si realment la meva hipòtesis és certa o falsa ja que científicament no puc demostrar-ho. Podria "mullar-me" però considero que com a persona que estima la ciència no haig de fer-ho, ja que aquesta no només es basa en el coneixement teòric sinó que també en l'empíric. Per tant, avui amb la meva recerca el que faig és un punt i seguit per, en un futur,

poder redactar uns resultats que finalment em puguin donar una resposta a tot allò que m'he preguntat.

## **10.2 Conclusions de la bioètica**

Arribant a la conclusió de que la meva hipòtesis no la puc resoldre, durant la recerca també he volgut endinsar-me una mica en els problemes bioètics que afectarien a l'hora d'aplicar la tècnica CRISPR. La legislació d'Espanya no permet la experimentació amb embrions humans tot i que els objectius de la recerca siguin millorar el benestar del pacient. A més, els principis bioètics també parlen de l'autonomia del pacient que en aquest cas no és podrien aplicar, perquè estem parlant d'embrions els quals no tenen la capacitat de decidir i per la qual cosa genera molta controvèrsia a la comunitat científica. Amb tot això cal afegir el principi de no-maleficència que parla de no provocar més danys al pacient i com he confluït abans amb el fenomen off-target, no és pot assegurar que la CRISPR sigui del tot beneficiosa.

## **10.3 Conclusions reacció social davant la STC**

Per finalitzar el meu treball de recerca, no volia deixar de banda la reacció de la societat envers a convidaure amb algú que pateix la STC.

I es que, tant l'Eva com la seva filla Laura, han patit discriminació en algun moment de la seva vida per persones alienes que no coneixen els seus casos ni el patiment que tenen per ser diferents, per patir una malaltia genètica que no han escollit.

Amb la meva entrevista amb l'Eva, vaig poder sentir a una dona que ja era totalment immune a les mirades i comentaris que poguessin fer-li; vaig conèixer algú que havia après a viure amb ella mateixa sense fer cas a la resta. Però tot això ella no pot sentir-se igual quan el casos d'assetjament afecten a la seva filla.

La Laura és una noia de catorze anys que ha decidit que no vol ser una nena Treacher Collins, que no vol viure sota l'etiqueta de la seva malaltia genètica, que vol ser algú normal per a passar desapercibuda.

Això amb les afirmacions de les expertes sobre l'espectacularitat d'aquesta síndrome considero que, la societat no està acostumada a conviure entre persones que presentin diferents característiques que no estiguin estipulades per allò que es fa anomenar normal.

Per tant crec, i arribo a la conclusió que s'ha d'educar en la diferència per a poder evitar el mínim patiment a les persones que pateixen no només síndromes com la Treacher Collins, sinó que també altres característiques que els fan diferents. Aquesta solució però és molt complicada d'aplicar i posar-la a la pràctica tot i que si treballem i donem visibilitat a allò que no és normal ja estem iniciant el canvis.

## 11.GLOSSARI

**Agenèsia dental:** és una patologia congènita que provoca l'absència d'un o més dents.

**Anomalia:** Irregularitat, manca de conformitat a una regla general.

**Anomalia palpebral:** alteració de la posició de les parpelles.

**Aparell vestibular:** contribueix al nostre equilibri i el nostre sentit de l'orientació espacial, és el sistema sensorial que proporciona l'entrada dominant sobre el moviment i l'equilibri.

**Apnea infantil:** patologia respiratòria que es caracteritza per la suspensió més o menys prolongada de la respiració del infant quan dorm.

**Arcs zigomàtics:** són una part del crani humà, concretament de la cara del ésser humà. Estan formats per a la unió de l'apòfisi zigomàtica del os temporal, pròpia dels ossos de la crani i de l'articulació del apòfisis malar, pròpia dels ossos de la cara, ubicat a un costat de les fosses orbitals.

**Arqueobacteris:** són un grup de microorganismes unicel·lulars que, igual que els bacteris, tenen morfologia procariota (sense nucli ni, en general, orgànuls membranosos interns), però són fonamentalment diferents a aquestes, de tal manera que conformen el seu propi domini i regne.

**Atrèsia:** absència congènita d'un orifici natural o oclusió de la llum d'un òrgan tubular.

**Biogènesis:** és el principi segons el qual la vida només s'origina a partir d'una altra vida preexistent ( que ha existit abans). Tots els organismes procedeixen dels organismes del mateix tipus i mai de matèria orgànica, ha hagut d'aparèixer en forma d'una cèl·lula organitzada , ja que la investigació científica ha establert una cèl·lula com la unitat més simple i petita de vida independent.

**Cas9:** és una enzim d'endonucleasa ADN guiada per RNA associada amb la tècnica CRISPR.

**Cèl·lules mare:** cèl·lules que tenen la capacitat de especialitzar-se en diferents tipus de cèl·lules del metabolisme durant la vida i el creixement. A més, en molts teixits serveixen com a sistema de reparació interna, que es divideix essencialment sense límit per reposar altres cèl·lules sempre que la persona o animal estigui viu. Quan una cèl·lula mare es divideix, cada cèl·lula nova té el potencial de romandre una cèl·lula mare o convertir-se en un altre tipus de cèl·lula amb una funció més especialitzada, com ara una cèl·lula muscular, un glòbul vermell o una cèl·lula cerebral.

**Cresta neural:** és una població de cèl·lules migratòries i pluripotents que es formen durant el desenvolupament dels vertebrats. Aquesta població s'origina en les vores del tub neural i l'epidermis de l'embrió. La cresta neural de vegades es coneix com la quarta capa germinal donada la seva gran importància en el desenvolupament.

**Còclea:** cavitat cònica de l'oïda intern en forma de caragol.

**Dacriostenosis:** és l'obstrucció o estenosi del conducte nas-lacrimonal que produeix un excés de llagrimaig.

**Deleció:** tipus d'alteració cromosòmica en la qual hi ha una pèrdua d'un fragment de cromosoma.

**Distracció mandibular:** tècnica de cirurgia maxil·lofacial que permet allargar els ossos de la cara des de l'etapa neonatal fins a la vida adulta.

**Ectòpica:** desplaçament o mala col·locació d'un òrgan de l'organisme.

**Estenosis:** estrenyiment patològic d'un orifici o d'un conducte corporal.

**Estenosis colon:** és l'estretor de l'intestí gros que provoca la disminució o l'impediment del pas de les deixalles a través de l'intestí gros.

**Etiquetes preauriculars:** petit papil·loma cutani a la pell en front de la part exterior de l'oïda.

**Estrabisme:** és un defecte visual que consisteix en la pèrdua de paral·lelisme dels ulls, de manera que cada ull mira en una direcció.

**Fístula cega:** és el conducte que no s'obre a l'exterior, és a dir, no té orifici extern i que provoca un abaltiment perineal o perianal.

**Fissures palpebrals:** obertura el·líptica entre les parpelles.

**Gastrostomia:** consisteix en la col·locació mitjançant endoscòpia d'una sonda o tub a l'estómac a través de la paret abdominal. S'usa fonamentalment per administrar alimentació a pacients amb disfàgia (dificultat per empassar els aliments) deguda a un problema mecànic o neurològic.

**Glosoptosis:** desplaçament cap enrere o retracció de la llengua.

**Hipoplàsia mandibular:** desenvolupament incomplet o subdesenvolupat de la mandíbula inferior.

**Malalties rares:** són aquelles malalties que afecten a un petit percentatge de la població. La major part són genètiques i són presents durant tota la vida encara que els símptomes no es presentin immediatament.

**Maloclusió:** oclusió defectuosa de les dents superiors sobre les inferiors.

**Macrostomia:** allargament exagerat de la fesa bucal.

**Microftàlmia:** petitesa anormal dels ulls.

**Micrognàtia:** petitesa anormal del maxil·lar inferior, congènita o adquirida.

**Micròtia:** malformació congènita on el nadó neix sense la totalitat de l'orella o amb petites aurícules i sense canal auditiu exterior i mitjà, encara que sí té format l'oïda intern.

**Miocardiopatia:** és una malaltia en la qual el miocardi resulta debilitat, dilatat o té un altre problema estructural. Sovint passa quan el cor no pot bombejar o funcionar bé.

**Modificacions epigèniques:** canvis heretables en l'ADN i histones que no impliquen alteracions en la seqüència de nucleòtids i modifiquen l'estructura i condensació de la cromatina, per la qual cosa afecten l'expressió gènica i el fenotip.

**Molars:** són dents que serveixen per mastegar, amb un paper més important que el de les premolars. La seva posició és posterior a la de les canines. Són el

tipus de dent més complex en la majoria de mamífers. Els humans en tenen entre vuit i dotze, segons l'aparició o no dels queixals del seny.

**Mutació de novo:** és una mutació que apareix per primera vegada en una família, ni els pares ni els avis presenten tal alteració genètica. És el resultat d'una mutació nova en una cèl·lula germinal dels pares (òvul o espermatozou) o en el zigot.

**Nanotecnologia:** és un camp de les ciències aplicades dedicat al control i manipulació de la matèria a una escala menor que un micròmetre, és a dir, a nivell d'àtoms i molècules.

**Nucleases:** enzim que hidrolitza els àcids nucleics.

**Paladar fes:** fissura o esquerda que comunica la boca amb la cavitat nasal.

**Palpebral:** relatiu o pertanyen a les parpelles.

**Oftalmoscopi:** instrument òptic que permet l'examen de l'interior del globus ocular i consisteix en un mirall còncau amb un petit orifici central

**Ossicles:** és una formació situada en la caixa timpànica de l'orella mitjana composta per tres petits ossos martell, enclusa i estrep.

**Ribosomes:** són els orgànuls de les cèl·lules. En aquestes estructures que no tenen membrana es duu a terme els últims passos de la síntesis de les proteïnes. La seva composició química està donada per proteïnes vinculades a l'àcid ribonucleic ribosòmic (ARNr) que procedeix del nuclèol.

**Ribosomopathies:** són malalties provocades per anomalies en l'estructura o la funció de les proteïnes del component ribosomal.

**Traqueotomia:** procediment quirúrgic per a crear una obertura a través del coll dins de la tràquea. Normalment, es col·loca un tub que s'anomena cànula de traqueotomia o tub traqueal a través d'aquesta obertura per subministrar una via respiratòria i retirar secrecions dels pulmons.



## 12. ÍNDEX IMÀTGES

**Figura 1.** <https://www.semanticscholar.org/paper/Treacher-collins-syndrome.-Chang-Steinbacher/a4fe3a3bede8b0b648de7c9025d28a620a34581b>

**Figura 2.** <http://elmundodelabiologa.blogspot.com/2007/12/sndrome-de-treacher-collins.html>

**Figura 3.** <https://www.imagenesmy.com/imagenes/treacher-collins-syndrome-e6.html>

**Figura 4.** <https://wiki.kidzsearch.com/wiki/Ossicles>

**Figura 5.** <http://www.4vientos.net/2018/02/15/mexicana-crea-tecnologia-para-atender-a-pacientes-con-deformacion-de-oreja/>

**Figura 6.** <https://www.eugin.es/diagnostico-genetico-preimplantacional-dgp/>

**Figura 7.** <http://www.medicinabuenosaires.com/PMID/29044017.pdf>

**Figura 8.** Carl Zimmer. Nature News.

**Figura 9.** Renato Chávez. El mostrador, 28 de novembre de 2018

**Figura 10.** Anders et al en el seu paper de Nature del 2014. Es va dur a terme utilitzant al software Chimera de UCSF.

**Figura 11.** Rafaël Philippen. NWO, 15 de juny 2018.

**Figura 12.** The Rockefeller University, 15 agost 2017.

**Figura 13.** Chu de Québec, 11 gener del 2018.

**Figura 14.** Mirus. Març del 2011 Marc Robitaille.

**Figura 15.** EFE. 28 de maig del 2015.

**Figura 16.** Universitat de Vilina.

**Figura 17.** Susan Gaidos. Science News for the students, 22 de setembre del 2015.

**Figura 18.** RTV. 16 de novembre del 2016.

**Figura 19.** Font: Cell. 31 de gener del 2014.

**Figura 20.** Lin at al. Natural Biotech, 2014.

**Figura 21.** Broad Institute.

**Figura 22.** OHSU. PAÍS VÍDEO, 3 d'agost de 2017.

**Figura 23.** eGenesis. Agost 2017.

**Figura 24.** Josep Corbella. La Vanguardia, 29 de desembre del 2018.

**Figura 25.** Scielo Colombia. Desembre 2016.

**Figura 26.** <https://www.orpha.net>

## **13.ANNEXOS**

### **13.1 Annex: Entrevista 1**

**-Sabem que la Síndrome de Treacher Collins és una malaltia genètica motes vegades donada inesperadament. Va ser aquest el teu cas?**

Sí, el meu cas va ser una mutació genètica que quan vaig néixer ningú la esperava, no hi havia cap antecedent a la meva família.

**Quan vas néixer, els metges que van dir als teus pares? Sabies quina malaltia era la que paties?**

Fa 39 anys quan vaig néixer, els metges tampoc sabien que tenia; van veure que tenia una anomalia però no sabien quin síndrome era ni que passava.

**-Degut a això quan i com van detectar-te la síndrome? Vas ser dels primers casos?**

Amb tres dies de vida em van enviar a Barcelona i allà em van començar a fer proves al cervell de tot tipus per a saber si podia caminar, menjar, el meu nivell intel·lectual, el nivell de sordesa, tot.

Van trigar més d'un any a saber quina era la malaltia que patia, vaig ser el primer cas de Catalunya i crec que dels primers del país ja que a l'Associació Nacional de Síndrome de Treacher Collins només hi ha un adult més.

**-La síndrome afecta principalment al desenvolupament facial fent que tingueu uns trets característics. Quins són aquets?**

Les principals característiques que tenim els malalts són: manca de pòmuls, obstrucció de les vies respiratòries, parpelles enfonsades o amb fissura, alteracions en el paladar com esquerda o fissura, boca ampla, nas prominent, mentó petit i malformacions a les orelles tant internament com externament.

**-Degut això presenteu problemes oculars, auditius, digestius i respiratoris. Quins són els que tu has patit?**

Jo tinc una afectació molt lleu així que els únics problemes que he tingut han estat auditius però hi ha nens molt més afectats que necessiten traqueotomies

per a respirar i sondes gàstriques per a menjar i per tant per a poder sobreviure i millorar la seva qualitat de vida. Hi ha casos però on no s'ha pogut subministrar el tractament o no s'ha arribat a temps i els nadons han mort.

**-Quin tractament has rebut? Quins metges especialistes t'han tractat?**

Jo començar a rebre tractament als 15 anys quan van voler-me posar pròtesis d'orelles amb uns claus els quals el meu organisme van rebutjar per la qual cosa van haver-me de treure'ls. Per tant m'han tractat metges especialistes maxil·lofacials i otorinolaringòlegs.

**-Els malalts de la síndrome podeu arribar a rebre moltes operacions. Quantes n'has rebut tu?**

Jo només he rebut dos operacions però si hagués volgut m'haguessin pogut "reconstruït" tota la cara.

**(cas Laura)**

**-Quan vas quedar-te embarassada sabies que la teva filla tenia un 50% de possibilitats de estar afectada.**

**Van fer-te alguna prova que ho verifiques?**

No, detectar la síndrome de Treacher Collins és molt difícil.

Quan estàs embarassada et fan anàlisis de sang i la amniocentesis i cap de les dues detecta si el teu fill es portador de la síndrome però suposo que avui en dia amb les ecografies 4D quan el fetus ja està totalment format es pot veure si presenta les característiques de la síndrome.

**-Quins problemes ha patit la Laura degut la síndrome?**

La Laura igual que jo també te una afecció molt lleu però ella ha rebut més operacions ja que va néixer amb fissura palatina i a més vol una reconstrucció total de la seva cara.

**-Quins tractament ha rebut fins ara? Quins especialistes ha visitat? Quin total d'operacions ha rebut?**

La Laura ha rebut tres operacions per la fissura platina ja que intentaven ajuntar-la amb el seu propi cartílag i la ferida se li tornava a obrir. A la tercera ho van

aconseguir però va haver d'estar durant una setmana ingressada a la UCI ja que els Treacher Collins tenim la tràquea més petita de lo normal per la qual cosa necessitem que ens intubin amb sondes més petites de lo normal però quan van intubar-la a ella no la van utilitzar. Això li va provocar una inflamació fent que si li treien la sonda s'ofegués.

Després d'aquest incident a l'Hospital de Vall d'Hebron vaig decidir marxar a l'Hospital de Sant Joan de Déu on li han practicat quatre operacions més per als implants de Baha.

Durant aquestes operacions també van sorgir inconvenients, primerament la Laura també va rebutjar els claus, i finalment van decidir provar amb el primer implant d'imant utilitzat a Catalunya. Al ser el primer, el nivell és de 1 a 5 així que van decidir posar-ho lo més fort possible amb la qual cosa a la setmana se li havia menjat la pell, van voler esperar per veure si tornava a créixer però era una falsa pell llavors van haver de canviar l'implant de lloc i li van posar al nivell mes baix, 1.

Els especialistes que l'han tractat han estat maxil·lofacials, otorinolaringòlegs i cirurgians pediàtrics especialitzats en la cirurgia plàstica reconstructora de deformacions orofacials.

#### **-Quines problemàtiques viu ara mateix causades per la síndrome?**

Ara mateix no viu problemes però en un futur li farem la reconstrucció de mandíbula per a que la tingui més endavant i així evitar problemes alhora de mastegar o respirar.

#### **-Has notat el canvi o l'evolució de la medicina cap aquest síndrome?**

Amb el meu cas i el de la Laura he pogut veure un canvi notori, ara quan un nadó neix amb Treacher Collins els hospitals tenen uns protocols per a tractar-los; jo en tot moment vaig ser un conillet d'índies.

Cada vegada hi ha més evolució en la medicina, surten noves tècniques i nous aparells però s'ha de dir que la Síndrome de Treacher Collins al ser una malaltia minoritària no te molts gestos en investigació. Encara queda molt per aprendre d'ella.

## **(Part psicològica)**

**-Tu has viscut els dos casos; de noia afectada i de mare amb filla afectada. Que es el que et fa més mal?**

Jo estic acostumada a que s'enfrontin a mi i jo passo d'ells però quan li diuen qualsevol cosa a la meva filla clar que contesto. Em fa més mal que li facin mal a ella que a mi.

**-Quin es el record de les paraules que mai oblidaràs?**

Recordo que jo era jove, devia tenir uns catorze o quinze anys i estava passant la tarda amb les meves amigues, llavors vaig veure com u noi s'acostava directament a mi i em va dir les paraules que mai se'm oblidaran; "Quítate la máscara que ya se ha acabado carnaval."

**-És dur conviure amb un mateix?**

Sí, és molt dur viure amb un mateix i costa "aprendre a estimar-te", per exemple la Laura de més petita va tenir aquella etapa rebel on no entenia per què li tocava viure a ella aquesta vida i li semblava injust ser com era, però gràcies al treball que vaig fer amb ella he aconseguit que no s'amagui de la vida i que ignori a tots aquells que li volen fer mal.

**-Quin nivell de discriminació heu arribat a viure?**

Quan caminem pel carrer rebem moltes mirades i moltes vegades es el que ens fa més mal però tot i així em après a ignorar-les.

Però a vegades es inevitable; hi ha gent que ens persegueix per veure'ns la cara i inclús han arribat a cridar-nos "Satanàs fora" i coses d'aquest estil que na sentir-te incòmode i observat perquè es crea una escena fora de lloc.

**-Com viu la Laura la seva malaltia?**

La Laura no vol viure sota l'etiqueta de nena Treacher Collins, ella vol ser una més, no vol que la tractin diferent per ser com és. Amb la qual cosa vol deixar de ser una nena Treacher Collins, per això ha decidit fer-se totes les intervencions possibles per a no de tenir les característiques de la síndrome.

## 13.2 Annex: Entrevista 2

**-Sabem que la Síndrome de Treacher Collins és una malaltia genètica d'al·lel de caràcter dominant però hi ha un gran percentatge d'afectats que es donen sense cap antecedent familiar. A que es degut?**

Hi ha dos opcions: Herència Autosòmica dominant però amb mutació *de novo*al descendent o be herència recessiva degut a mutacions al gen POLR1C

**-A quin/quins gens afecta la Síndrome de Treacher Collins?**

POLR1C, POLR1D i TCOF1, afecta a la RNA polimerasa I i III i es produeix menys ARN ribosòmic.

**-Com s'anomena aquesta alteració cromosòmica?**

6p21.1; 5q32

mutacions puntuals, mutacions *de novo*

**-Per què l'alteració d'aquest/s cromosomes afecta a la formació cranioencefàlica?**

Es creu que tenen un paper fonamental al desenvolupament de les estructures de craniofacials a l'inici del desenvolupament embrionari. Hi ha un augment de l'apoptosi cel·lular i menys migració de cèl·lules de la cresta neural, amb problemes als dos primers arcs faringis (estructures de cap i coll com mandíbula)

**-Hi ha alguna tècnica que pugui detectar que el nadó gestat estarà afectat?**

**-En que consisteix aquesta prova i amb quants mesos de gestació es faria?(en cas afirmatiu a l'anterior)**

En cas de sospita (consulta genètica per casos previs familiars) es poden fer tècniques moleculars buscant mutacions amb mostres obtingudes per amniocentesi (15-20 setmanes) o biòpsia corial (12-13 setmanes)

Si hi ha anomalies congènites importants es poden sospitar ecogràficament (a la ecografia morfològica de les 20 setmanes)

**- Existeixen tractaments per a evitar aquesta síndrome avui en dia?**

Diagnòstic genètic preimplantacional

**-Els afectats tenen molta esperança en la recent tècnica CRISPR. En que consisteix?**

Es edició genètica, consisteix en alterar una seqüència gènica. Però aquests afectats ja tenen el desenvolupament embrionari finalitzat, no trobo sentit Maria l'edició genètica a un gen que actua provocant malformacions congènites.

**-Al ser malformacions congènites consistiria en aplicar la tècnica CRISPR abans que es desenvolupessin els ossos facials.**

Ara em quadra. Ho veig molt difícil ja que no veig viable avui en dia fer-ho abans que es comencin a formar les estructures de cap i coll (setmana 6) i que doni temps a diagnosticar-ho abans. Però a nivell experimental es molt estimulant.

**-En tots els casos que ha estat utilitzada, ha sigut efectiva?**

Passa'm l'enllaç , no trobo informació al respecte

**- Durant la meva recerca vull descobrir, si la teràpia CRISPR seria efectiva per aquesta síndrome. Que n'opines i per què?( en que et bases per justificar la teva afirmació)**

Podria ser una forma d' obtenir zigots lliures de malaltia, per exemple, ja que son capaços d'editar fragments d'ADN. A nivell personal, crec que no es actualment una opció viable (car i complex per obtenir-ne un zigot, es millor el DGP , diagnòstic genètic preimplantacional, i seleccionar-ne els lliures de malaltia.

<http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v15n3/rhcm10316.pdf>

<https://ghr.nlm.nih.gov/condition/treacher-collins-syndrome>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24743236>

Dra. Balfagón



### 13.3 Annex: Entrevista 3

**-Coneixes algun cas de STC? Aquesta persona tenia descendència familiar ja afectada o va ser una mutació de novo?**

Coneixo un cas que va ser una mutació de novo. Aquest nen ja tenia una germana gran no afectada i a més els seus pares eren normals. Mai s'havia donat cap cas a la família i a ell el van rebre molt sobtadament.

**-Hi ha més afectats per descendència familiar o per mutació de novo?**

Pel que sé, hi ha una gran part dels afectats que és causat per una mutació de novo, un 60% i suposo que estan fent estudis per a saber quina és la raó.

**-Sabries dir-me per què es donen en algunes famílies aquestes noves mutacions sense cap sospita?**

Com t'he comentat, encara no hi ha cap resposta per aquesta gran pregunta, les malalties causades per mutacions de novo són totalment aleatòries i inesperades. Pot afectar a qualsevol.

**-Si la sospita s'aixeca més endavant i creiem que l'embrió està afectat amb STC les proves pertinents que se li fan a una embarassada ens podrien verificar la nostra sospita?**

Amb les proves rutinàries com la triple striming, la amniocentesis i les ecografies que se li practiquen a una embarassada no poden assegurar al 100% que el nadó pateix la síndrome de Treacher Collins.

Amb les ecografies 3D podem veure si el nadó te orelles, si són més petites del normal, com són els pòmuls... I ja et dic a les institucions públiques el que miren principalment a les ecografies és el funcionament del cor, com estan els ossos, els ronyons i la bufeta, no gaire més; en la fisonomia de la cara no s'acostumen a fixar i és d'on estan afectats els Treacher Collins

I a més si amb tot això podem detectar-ho no podríem fer res per arreglar-ho. Ja està totalment afectat.

**-Coneixes la tècnica CRISPR? Creus que seria viable utilitzar-la per evitar una STC? L'hauríem d'aplicar abans del desenvolupament dels ossos facials? O després també seria útil(el nadó encara s'estaria desenvolupant)?**

Realment no conec la tècnica CRISPR però se que en els sistemes públics no s'erie viable ja que són tècniques cares que no ens podem permetre.

Considero però que estem avançant ràpidament en les tècniques de cirurgies per a millor la qualitat de vida de tots els afectats per la síndrome de Treacher Collins.

També crec que el nostre avenç en la genètica la sanitat pública ens hauríem de centrar en poder proporcionar als ja afectats la possibilitat de seleccionar els zigots in vitro i evitar que els seus fills també reproduïxin la mateixa malaltia i deixar-los tenir uns fill "normals" i amb una qualitat de vida que ells no han pogut tenir.

***“Vull una sanitat pública per a tothom, que sigui justa”***- No puc arribar a comprendre que hi hagi gent que passi per davant dels altres per ser el fill de o l'amic de, la sanitat pública ha representar-nos a tots per igual i per tant em de tenir les mateixes oportunitats siguem qui siguem. Sense favoritismes.

## **13.4 Annex: Entrevista 4**

**-La síndrome de Treacher Collins és una malaltia genètica on hi ha un percentatge dels afectats per l'alteració que es donen de manera sobtada, es a dir, sense cap antecedent familiar. Quina és la causa d'aquesta nova mutació?**

“sobtada”...Entenc que et refereixes a que no hi ha antecedents familiars de malaltia i apareix un nou membre afecte. Això és degut a que s'ha produït una mutació de novo (mutació esporàdica) o bé en les cèl·lules germinals (òvul o espermatozou) o bé de manera temprana al zigot. La causa més freqüent és per errors durant la replicació de l'ADN, l'ADN polimerasa, l'enzim que sintetitza la nova cadena de ADN pot equivocar-se a l'hora de copiar la cadena motlle. Si l'error no es repara pot donar l'origen d'una mutació de novo.

**-A quina setmana es comencen a desenvolupar els ossos facials del nadó?**

Els ossos facials comencen a desenvolupar-se a partir de la 4 setmana de gestació.

**-Abans d'aquest desenvolupament seria possible detectar la síndrome de Treacher Collins amb alguna prova?**

No sóc experta en el tema però si et refereixes a abans de la 4<sup>a</sup> setmana, sense antecedents familiars ni cap sospita, no és possible (a la 4<sup>a</sup> setmana és molt aviat inclús la mare gestant pot no saber que està embarassada). Ara bé, si algun dels progenitors és afecte de la malaltia i es coneix la variant patogènica causant es pot fer un test diagnòstic prenatal. S'analitzen les cèl·lules procedents del fetus en les vellositats corials (11-13 setmana de gestació) o en el líquid amniòtic (16-18 setmana de gestació) i es busca la variant patogènica concreta en el ADN.

**-En que consistiria aquesta prova?**

Consistiria en analitzar la seqüència codificant del gen TCOF1 (Treacher Collins-Franceschetti 1), el principal gen causant d'aquesta síndrome quan està “mutat”. Si es coneix la variant patològica (tipus de canvi en la seqüència d'un exó concret) i es tracta d'un canvi puntual en la seqüència de bases nitrogenades o

delecions o insercions d'uns pocs parells de bases es pot realitzar la tècnica de seqüenciació Sanger sobre el ADN de la mostra fetal. Altres tècniques de biologia molecular com el MLPA també es poden fer servir per detectar les delecions o insercions.

**-En que consisteix la tècnica CRISPR?**

La tècnica CRISPR-Cas9 és una tècnica d'edició genòmica revolucionària tot i que de fet és un sistema que utilitzen els bacteris per defensar-se d'infeccions víriques. Bàsicament el sistema permet tallar/eliminar una seqüència molt concreta del genoma i afegir en el seu lloc una nova seqüència.

**-Ha estat efectiva per algun cas dels que ha estat utilitzada?**

La tècnica es fa servir actualment a nivell experimental en models animals. Al 2017 Nature va publicar un treball a on aplicaven aquesta tecnologia en embrions humans per corregir una mutació concreta. (Ma H et al Nature 2017)

**-Quines característiques ha de tenir una malaltia per a poder-li aplicar la tècnica CRISPR?**

Ha de ser una malaltia de causa genètica coneguda. Però encara queda molt per fer per poder aplicar-la en humans.

**-Si detectéssim la Síndrome de Treacher Collins al zigot abans del seu desenvolupament facial, seria possible aplicar-li la tècnica CRISPR? (en cas negatiu, quina és la raó?).**

Possible ho seria però encara existeixen moltes limitacions. Entre les limitacions tècniques estaria l'especificitat de les "tissors" per tallar la seqüència específica i que aquest tall es fes amb la mateixa eficiència en totes les cèl·lules del zigot per no crear mosaicismes.

**-En cas afirmatiu, com es faria?**

Una aproximació seria realitzar la fecundació in vitro i microinjectar els components del sistema CRISPR-Cas9 dins de les cèl·lules del zigot durant la fase S del cicle cel·lular per corregir la seqüència en l'ADN.

## 13.5 Annex: Entrevista 5

### **-Què és la Síndrome de Treacher Collins? A quins gens afecta?**

La síndrome de Treacher Collins és una malaltia que afecta principalment a la formació craniofacial dels pacients que la pateixen per tant aquest no tenen per què tindre alteracions a altres nivells sinó que tot a la facis.

Normalment el gen que està afectat és el TCOF1, i et diria que és el cas del 70% que pateixen la malaltia en canvi l'afecció en els gens POLR1C i POLR1D és més inusual. També normalment el afectats amb la síndrome són causats per mutacions de novo.

### **-Això he vist, hi ha un 60% del afectats que la mutació és nova i el cas que conec l'àvia quasi bé no se li notava l'afecció i després en les mutacions de la mare i filla sí.**

Una cosa molt curiosa de les malalties rares és que a la primera generació de la següent no tenen la mateixa afecció tot i que el gen s'ha heretat de la mateixa manera. Llavors hi ha un axioma no escrit que diu que les malalties genètiques a mida que van passant generacions s'aguditzen.

Hi ha Treachers Collins que són molt espectaculars ja que és veure a una persona quasi bé sense mandíbula com si fos una calavera i això dona molta impressió i òbviament quan un nen amb aquestes característiques arriba a l'escola la resta pregunta què li passa i no comprenen per quina raó és així. Per això necessitem fer ràpidament totes les cirurgies per normalitzar al màxim al fenotip.

Jo tinc una pacient que té 30 anys que té la facis parcialment reconstruïda, que ha patit molt durant la seva etapa a l'escola ja que ella era la rara i la lletja. Aquesta també és una part que no està descrita de la síndrome de però que comporta moltes dificultats per els afectats.

És un síndrome molt espectacular sense tenir greus deformacions ja que el cor està bé, la neurologia està tota bé i que el nen podrà sobreviure amb ella, si que hi ha alguns casos en el que es poden ofegar però està molt controlat. És molt injust ja que ells se'n adonen si s'estan rient d'ell o l'estan criticant.

Jo com a experta considero que un nen amb síndrome de Down té una vida més fàcil que algú amb una síndrome de Treacher Collins o una acondroplàsia ja que ambdós són conscients de les seves característiques. En canvi un nen amb Down té el seu propi món. Així que quan em diuen que interromprien abans un embaràs amb Down que amb acondroplàsia o síndrome de Treacher Collins jo no sé que prefereixo per què el patiment que tindrien seria molt gran.

**-Quin percentatge hi ha que un afectat de la STC té transmeti l'al·lel mutat?**

Sí, sempre que tingui una forma dominant perquè el POLR1C és recessiu i és molt poc freqüent, esta al 3%, però el TCOF1 és dominant amb lo qual si una persona té Treacher Collins hi ha un 50% de tenir descendència afectada del mateix quadre i com bé hem dit no sabem com d'afectat estarà ja que la variabilitat clínica a dins de la família és molt variada. La penetrància del gen és total, es a dir sempre dona un Treacher Collins però com s'expressa clínicament no sempre és de la mateixa manera.

**-Les proves rutinàries poden verificar una afecció de la STC?**

No, ja que si és una mutació de novo succeeix és per què el pare i la mare són normals; la mutació de novo està allà per a que tots la gaudim per tant et pot afectar a tu com a mi o com al veí i pot ser en qualsevol dels tres gens TCOF1, POLR1C i POLR1D.

Llavors no la podem detectar però sí que durant les ecografies podem detectar algunes característiques com una mandíbula més petita de lo normal però és molt difícil de valorar ja sigui amb una ecografia 2D o 3D a no ser que tinguis una sospira el diagnòstic ecogràfic és molt improbable.

Ara si jo sospito que pot tenir la síndrome faig una extracció de sang i faig una seqüenciació completa de TCOF1 i els POLR1C i POLR1D. Sempre començaria per el TCOF1 perquè se que el 75% dels casos tenen aquest gen alterat i això no mal gasto diners inútilment.

Un cop se sap que estàs afectat per la síndrome de Treacher Collins s'ha de corroborar quin és el gen.

Si he trobat la mutació ja ho tinc detectat i diagnosticat i sinó ho faig amb els altres dos. Al tractar-se d'un Treacher Collins com que jo se quin és el gen que

té afectat la mare o el pare començaria seqüenciant aquest i a la setmana 11 del embaràs li diria si el nen porta el gen afectat on no. A partir del diagnòstic podran decidir si volen interrompre l'embaràs.

Ara fa uns deu anys que podem fer aquest estudis per a saber si els nadons venen amb errors genètics per tant si una dona o un home està afectat per la síndrome de Treacher Collins saben jo el gen que aquest te alterat puc estudiar el genotip del nadó i veure si també està afectat. D'això li dic diagnòstic prenatal.

Ara bé si jo des de un principi sé que el nadó pot estar afectat per la síndrome de Treacher Collins el que jo puc fer és un diagnòstic prenatal. Utilitzo la fecundació in vitro i quan els embrions tinguin entre 6 i 8 cèl·lules li trec un a cada embrió i miro quins no estan afectats per posar-li a la mare al úter els que no tinguin la mutació amb lo qual puc garantir que l'embaràs anirà bé.

#### **-La STC pot detectar-se a simple vista? És igual de coneguda a tot arreu?**

Normalment el pediatres tenen un mínim coneixement de la síndrome però els nadons sempre són enviats al genetistes per a diagnosticar-los. El problema es que serveis de genètica hi ha a molts pocs llocs i a Catalunya dins de que està molt mal dotat te una gran dotació en estudis de genètica. En canvi en altres llocs escasseja. Ja et dic que no és fàcil detectar-ho i a mi em fan moltes consultes via mel que jo sempre intento resoldre.

El problema també és que és una síndrome que requereix de moltes intervencions i si vius a un lloc amb poques dotacions els problemes s'augmenten.

Ara tinc una mare i un fill, la noia de la que t'he parlat que te trenta anys que ja està diagnosticada i vaig veure dos més ja fa molt de temps. Per tant un total de cinc persones. A i també un altre cas d'una nena que es tractava d'una mutació de novo i que la tieta és volia quedar embarassada i va consultar-me.

El síndrome de Treacher Collins és poc freqüent i n'estic segura que hi ha molts més afectats. La freqüència d'afectats per la síndrome de Treacher Collins és un entre cinquanta mil això ho divideixes entre sis mil i ja veus tots el que deuen haver-hi a Catalunya.

#### **-Quina és la raó/ causa de les mutacions de novo?**

Les raons per les quals és produeixen les mutacions de novo són incertes; el que si que sabem es que hi ha gens que són especialment sensibles i especialment variables com tots els que es dediquen a creixement tumorals com el càncer o el NF1, el TCOF1 que també és molt variable i els quals són molt sensibles als canvis. Hi ha gens que són súper blindats i els tenim des de que som primats, la resta varien i no sabem per què. I pensa que la majoria de nens que neixen al any amb mutacions genètiques el 70% són per mutacions de novo.

I la mutació de novo ha existit tota la vida, simplement perquè si no mutem no evolucionem i això està clar. Ara, no sabem quin és l'estímul que fa que el gen variï, ja que per a fer-ho alguna cosa la d'estimular i no sabem per què. L que podem afirmar és que la mutació de novo és molt freqüent.

Hi ha mutacions que sabem que són pròpies depenent de la població ja que són propensos però hi ha d'altres que no. Les mutacions de novo estan per a que les gaudim tots i quan una dona després de la amniocentesis em pregunta si tot anirà bé perquè les proves són correctes jo, no puc assegurar-ho. La genètica és així, capritxosa i mai saps el que et pot esperar.

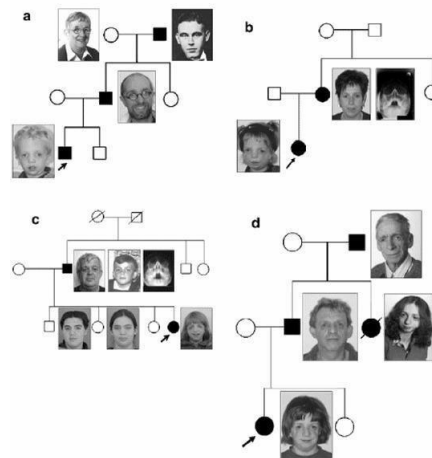


Figura 26. Fenomen no escrit explicat per la Dra. Aurora Sánchez.



## 13.6 Annex 6: Entrevista 6

### **-Quina és la teva especialització? A que et dediques?**

Jo i el meu equip ens dediquem a fer teràpies gèniques, per una banda la utilitzem el tractem per tractar el càncer i ens centralitzem en el de càncer de pàncreas i també la utilitzem per a tractar malalties minoritàries, principalment estudiem una malaltia que és metabòlica. Amb els dos casos utilitzem factors virals amb els que fem estratègies de edició genòmica que és quan utilitzem el sistema CRISPR i a més en el cas del tractament de càncer tenim diferents models en el que fem servir virus però que en aquest cas són virus lipídics que quan afecten a una cèl·lula tumoral generen nous virions que és poden multiplicat i infectar a les cèl·lules. Llavors nosaltres amb la modificació del genoma d'aquestes cèl·lules posem crear unes cèl·lules amb una selectivitat per els tumors i a més a més els hi proporcionem més funcions per a que els ajudi.

### **-Catalunya/ Espanya, en quin moment es troba respecte a l'estudi de la tècnica CRISPR? Hi ha estudis iniciats i amb futurs assajos clínics plantejats?( De que són els estudis, que pretenen amb ells, tenen prosperitat, quins han estat els resultats? )**

A qui a Catalunya la CRISPR s'utilitza molt com a eina de laboratori ja que amb un cert coneixement de biologia molecular ja poden dur a terme aquesta tècnica que és relativament fàcil.

Llavors és una eina molt útil perquè si tu vols estudiar la funció d'una proteïna, si la elimines de la cèl·lula doncs pots veure que li passa a la cèl·lula quan no hi ha aquesta proteïna. Per tant això és una eina que fins ara amb les estratègies que teníem eren imperfectes, es a dir aconseguies baixar bastant els nivells de proteïnes a la cèl·lula però no aconseguies eliminar-la del tot i amb el sistema CRISPR si, llavors la gent la començat a utilitzar molt en aquest sentit però com a estratègia terapèutica no tant.

Amb la CRISPR ja hi ha molts assajos, a nivell germinal ja hi trobem problemes ètics però és més un tema de seguretat ja que el que volem és assegurar-nos que no crearem més problemes i amb aquesta tècnica ens trobem amb els problemes de off-target i això vol dir que de la manera que funciona el sistema

CRISPR tu el que fas es que dirigeixes a l'ADN una seqüència molt petita d'uns 20 nucleòtids de ARN per a trobar la seqüència que tu vols, dirigeixes això i una nucleasa que és un enzim i allà es produeix el tall però només són vint nucleòtids, pensa que son tres mil milions de bases i que hi hagi vint que s'assemblin molt és relativament probable llavors pot ser que a més d'unir-se a la zona on vols se't uneixi a la zona on no vol i produeixi el mateix efecte. I pot ser no se't uneixen tots vint però si disset i això és suficient per a que mig talli i aquets són una mica els problemes de seguretat ja que pot tallar-se en llocs no desitjats i això és una mica complicat.

### **-S'estan buscant una manera per a que no passi això?**

Tot això passa amb la nucleasa Cas9( amb la que més s'ha treballat), que és un enzim que sempre se situa a l'ADN sempre trobi un triplet d'una seqüència PAM de dues G i una N, la N vol dir que pot ser A, T, C o G després del oligonucleòtid de ARN que s'ha unit a l'ADN. Llavors s'estan buscant altres nucleases que en comptes d'aquesta seqüència tant petita en tenen d'altres que és fan més específiques i que ens ajuden a dissenyar estratègies que ens ajudin a millorar en aquest sentit. També s'ha de dir que els estudis que s'han fet fins ara, clar nosaltres diem que el genoma te tres mil milions de parells de bases que són molts nucleòtids però que siguin codifica'ns i funcionals i tot això tampoc són tants, llavors a lo millor se't uneix a una regió que en principi al menys no li coneixem cap funció i que no està impactant molt negativament sobre les cèl·lules. A més nosaltres quan ho fem servir ja tenim uns sistemes per saber que les seqüències que escollim són lo més selectives possibles però després segurament que tallem a uns altres llocs i no ho mirem nosaltres. A més no veiem que ens canviï la funció d'aquella cèl·lula més enllà del que estem canviant nosaltres com seria el cas de la proteïna que t'he comentat abans. Per tant és necessita millorar.

### **-He vist que a nivell internacional s'ha fet algun experiment amb embrions. Quins?**

Això ho ha fet un grup de la Xina que són els primer. Això a Espanya no estaria permès perquè depèn de les legislacions dels països, ja que s'experimenta amb embrions humans.

L'estudi es basava en embrions que eren tri zigots, es a dir que tampoc haguessin evolucionat bé, aquets embrions són producte de processos in vitro que surten malament, per tant són aberracions i ells el que van fer és comprovar que era factible eliminar uns gens. De fet crec que a Canadà o a EEUU posteriorment també és va fer un estudi amb embrions que tenien una mutació a un gen que poden crear una mort sobtada. El que van fer va ser una fertilització in vitro d'un donant que tenia aquest gen mutant, van fertilitzar un òvul i a partir d'aquí van corregir la mutació per a demostrar que després aquell zigot no hauria tingut aquesta mutació.

Tu el que fas es que tens una seqüència amb les seves bases i jo sé que els individus que tenen a la seva cadena de bases una A específica si jo la canvio per C provoca que la proteïna no sigui funcional. Llavors el que tu fas en el zigot és afegir una altre còpia de la correcta i la cadena és molt llarga però a lo millor tu amb aquest tros ja en tens prou, llavors el que és important és que en el punt que vols corregir tinguis a banda i banda una zona suficientment gran perquè quan vingui aquí és pugui aparellar bé i el que fa després és un procés que s'anomena de recombinació homòloga que substitueix un nucleòtid per un altre. Llavors només aquest tros seleccionat es substitueix pel correcte i si no li poses lo correcte pots posar-hi un CRISPR que només talla i ja està. Si talles el que fas és provocar una alteració i això ho fem servir molt en els laboratoris.

T'explico, nosaltres treballem amb els exons i introns; tenim exo1, exo2, exo3 i exo4 i la proteïna és el resultat de la combinació d'aquest quatre. Llavors jo tinc una mutació en un lloc i sé a partir d'uns estudis que si jo pogués generar unes proteïna que fos E1, E2 i E4 seria una proteïna imperfecte perquè li falten dominis de l'E3 però n'hi ha alguns que són una mica funcionals doncs el que puc fer és tallar els que no em són beneficiosos i així podré generar una proteïna que no serà perfecte però és millor perquè a lo millor no se'm generarà res. Per tant a vegades tot i no afegir la seqüència correcte només tallant ja ens pot ser interessant. Ara això sempre dependrà de la malaltia.

**-Et presento la meva recerca. Jo he escollit la teràpia CRISPR per a poder corregir el gen mutat d'una malaltia rara anomenada Síndrome de Treacher Collins on les seves anomalies es presenten de manera congènita. Si poguéssim detectar al embrió amb aquesta alteració abans de que es**

**desenvolupes, podríem aplicar-li la teràpia? *In vivo*? O la CRISPR només es pot aplicar *in vitro*?**

Si tu vols corregir la forma recessiva el que has de fer és fer el CRISPR, tallar una zona i a part afegir la part correcta i això és perquè s'ha vist que quan tu li provoques un tall de doble cadena d'ADN a la cèl·lula, elles activen mecanismes de reparació per tant si no hi ha res per allà la reparació que fan és posar un nucleòtid que acabarà amb resultats no funcionals. Llavors si durant la seva reparació de *homologus repare* tenen la seqüència homòloga que tu has afegit elles substituiran la que has tallat per l'afegida.

**-El problema es que la malaltia de la que parlo és congènita per tant si corregeix-ho l'ADN dels pares els progenitors estaran afectats?**

Per a que els progenitors no estiguin afectats el que s'ha de corregir és la línia germinal, pensa que si estàs tractant a un home afectat perquè els espermatozous siguin correctes, les cèl·lules que han de donar els espermatozous han d'estar correctes i en el cas de la dona els oòcits també haurien d'estar-ho i cada oòcit és diferent vull dir i normalment quan tu utilitzes això en un adult tu normalment has de lliurar aquest DNA a les cèl·lules, que és com el que passa en la teràpia gènica, i per a fer-ho necessites un tipus de vehicle que no anirà a la línia germinal per tant en el teu cas no seria útil ja que és congènita en la malaltia.

En tot cas el que podries fer és intervenir en úter, *in vivo* ja que en el fons la tècnica CRISPR és com la teràpia gènica l'únic que et canvia és que amb la teràpia gènica tu el que faràs expressar és el gen sencer i en canvi, amb la CRISPR tu hauràs d'introduir la Cas9, la guia perquè et vagi-hi al lloc i després una seqüència que et canviï però la manera que tu faràs arribar aquestes coses en el individu sigui adult o un embrió és la mateixa. Necessitaràs col·locar-ho en unes nano partícules, o en uns lípids o en uns virus, en algun lloc per a que pugui entrar a les cèl·lules. Per tant necessites uns sistemes de *deliveri*, de vehicular. Normalment la Cas9 i la guia és posen en un vehicle i l'altre casset en un altre, acostumen a utilitzar-se més el virus.

I jo crec que el més fàcil es vehicular-ho via sanguínia en un estat de desenvolupament X, que no se quin deu ser en el cas de la malaltia que dius tu.

## **-La setmana 6.**

És molt complicat llavors que puguis detectar-ho ja que és molt d'hora.

Per tant el que t'hauries de plantejar és un model animal en primer lloc i en el que poguessis fer aquest tipus de teràpies en diferents moments al llarg del desenvolupament i estudiant aquest model intervenir-lo en diferents moments per a veure l'eficàcia de l'aplicació.

Amb l'embrió del ratolí per exemple és veu molt bé i en el cas dels embrions distribueix tota la sang per tant seria una opció administrar-ho allà per a veure si funciona.

Tu el que has de dir és que has de començar amb uns assajos pre clínics amb models animals i si tu veus que pots revertir una mica el fenotip d'aquets ratolins llavors ja pots plantejar-te fer uns assajos clínics.

La ciència és experimental.

### **(tema bioètica)**

#### **-Quins són els límits de la bioètica per a poder utilitzar la tècnica CRISPR en l'edició genètica?**

A España la legislació funciona pràcticament igual que en la Europea comuna. El que canvia més és tot a nivell de manipulació de la línia germinal i tot això ja es diferent a cada país.

El que és la edició gènica en adults segueix la regulació Europea que en principi te pocs límits però com que és considera un organisme modificat genèticament posa molts problemes i ara mateix hi ha un gran debat ja que des de el punt de vista operatiu és molt difícil però Bueno amb CRISPR aquesta setmana s'ha aprovat per primer cop el tractament per una malaltia a EEUU que és per beta-talassèmia. Fins ara de CRISPR tot el que hi havia amb assajos clínics era modificant cèl·lules com per exemple pacients que tenen SIDA, que resulta que el virus s'escampa perquè infecta als limfòcits T a través de un receptor anomenat CXR5 i això provoca que totes les cèl·lules T morin i tinguin tota la immunodeficiència. Amb que és basa aquesta teràpia? En generar no són les cèl·lules T sinó que cèl·lules amotaiopàtiques que donarà cèl·lules T que amb el

sistema CRISPR s'elimina el receptor. Si tu has eliminat el receptor aquest després aquestes cèl·lules les portes al pacient farà cèl·lules T que no tinguin aquest receptor i per tant el virus no és podrà ni unir ni destruir aquestes cèl·lules. Això, és un assaig clínic que hi ha, però no es un CRISPR que s'ha administrat directament al pacient. Tu abans d'administrar-li al pacient has pogut veure una mica si les cèl·lules eren funcionals i quines eren les seves condicions. Com aquest exemple hi ha molts més assajos que impliquen molècules de càncer i etcètera.

Però ara aquesta setmana per primera vegada s'ha aprovat un tractament per la beta-talassèmia ambels sistema CRISPR i en aquest cas l'administració serà in vivo.

-per tant fins ara han sigut tots in vitro

Si, però això es diria més ben dit ex vivo perquè tu agafes les cèl·lules del pacient, "les agafes del sistema in vivo", les manipules i llavors les tornes a introduir al sistema in vivo.

Fer-ho ex vivo presenta menys risc i per això ara s'està començant a experimentar de manera in vivo; sempre anem de menys risc a més.

**-Hi ha temes com la utilització d'embrions per a editar-los el genoma que generen molta controvèrsia. Què n'opines? A favor o en contra? I per què?**

Totes les seves tècniques poden acabar creant rebuig. Per exemple, la teràpia gènica va començar als anys 90 amb una gran expectativa però després al 2000 hi va haver un "baixon" perquè uns nens van desenvolupar una leucèmia i tot això va crear un gran rebuig per la societat. Tot i que si ho analitzes bé el problema no és tant greu ja que es moner cada dia gent per un tractament mal donat i no passa res però clar al ser nou crea aquets fets. En aquest si que és va morir una persona dels cinc que és van diagnosticar però la resta de nens, que són nens d'aquest que el hi diuen bombolla porten vint anys vivint perfectament.

I, va sortir aquest problema que va ser important i que va ajudar a investigar i estudiar perquè havia passat i això ha ajudat a evolucionar molt ja que tots el vectors que han sortit posteriorment s'han fet amb una modificació determinada

per a que no passes allò que va passar amb aquells i clar és trist però això és diu risc benefici. Ara amb la teràpia gènica hi ha molts productes al mercat, moltes empreses estan interessades en ella i torna agafar un boom.

I n'estic segura que amb la edició genètica també hi haurà algun efecte no desitjat perquè és va ràpid perquè hi ha una gran pressió al voltant que vol que es vagi ràpid i llavors a vegades crearà errors, errors que ajudaran a entendre que s'ha de millorar per...

Que si que abans de fer-ho amb humans s'han fet milers d'experiments amb animals però clar nosaltres no responem de la mateixa forma. Perquè mira hi ha algunes espècies que toleren més bé unes mutacions i altres espècies són més sensibles als canvis i vulguis que no els assajos clínics són experimentació amb humans. Moltes vegades va fantàstic però n'hi ha d'altres que no respon bé i a mi no m'estranyaria que d'aquí a un temps veiem que l'edició genètica te algun fallo i genera un problema.

De fet s'està molt expectant amb el que pugui passar en la edició genètica in vivo, ja que la ex vivo està més controlada i les conseqüències que pot representar són cap avantatge al pacient però ara quan tu poses a dins d'un cos un virus que portarà unes eines que et faran un canvi genètic, si no només et fa aquest sinó que en faci d'altres no desitjats creant així algun problema. Assajos d'aquests tipus en a tot el món o al menys al occident ja que moltes vegades països com a la Xina te'n assabentes a posterior del que han fet i no saps el que ha passat entre mig, que jo conegui hi ha un estudi que conec que estan fent a EEUU un assaig clínic amb una altre tècnica que s'assembla a la CRISPR que s'anomena Infinger nucleases que el van descobrir abans i que utilitza una proteïna que detecta un nombre més gran i diferent de nucleases. A diferència de la CRISPR, aquest sistema és molt complexa d'utilitzar i només una petita part de laboratoris poden fer-ho, jo ara mateix amb el meu equip sóc incapaç.

Tot i això encara no em rebut ni resultats d'aquest assaig que ja porta un any en funcionament ni del beta-talassèmia que porten una setmana. El que puc afirmar és que cap nen ha mort però la comunitat científica estem molt intrigats de que é el que està passant.

**-Que n'opines de la utilització tant prematura de la crispr?**

Jo, per a començar a fer assajos in vivo amb CRISPR o l'altre tècnica que t'he explicat m'hagués esperat més i més sabent que com en el cas de beta-talassèmia ja existeix una teràpia gènica clàssica que ja és viable no m'arriscaria. A mi personalment no m'agradaria ser responsable d'aquest tipis d'assajos.



### 13. WEBGRAFIA

<https://ccakids.org/treacher-collins-syndrome.html>

<file:///C:/Users/Toshiba/Downloads/16285-Texto%20del%20art%C3%ADculo-57595-1-10-20160502.pdf>

<http://microtiaearsurgery.com/microtia-patient-gallery/bilateral-gallery>

<http://maxilofacialsanvicente.obolog.es/paul-tessier-1917-2008-padre-cirugia-craneofacial-196453>

<https://www.treachercollins.es/que-es-treacher-collins/>

<http://elmundodelabiologa.blogspot.com/2007/12/sndrome-de-treacher-collins.html>

<https://rarediseases.org/rare-diseases/treacher-collins-syndrome/>

<https://www.technologyreview.es/s/9870/2018-el-ano-en-que-crispr-puede-llegar-alguien-que-usted-conoce>

<https://www.thinkgenetic.com/diseases/treacher-collins-syndrome/overview/6510>

<https://www.efesalud.com/hasta-donde-puede-llegar-tecnica-edicion-genetica-crispr/>

<https://www.eltiempo.com/vida/salud/estudio-encuentra-danos-imprevistos-en-tecnica-crispr-cas9-244142>

<https://www.muyinteresante.es/ciencia/video/filman-por-primera-vez-la-tecnica-crispr-cas9-en-plena-accion>

[https://elpais.com/elpais/2017/08/02/videos/1501696669\\_775437.html](https://elpais.com/elpais/2017/08/02/videos/1501696669_775437.html)

<https://www.eurordis.org/es/content/%C2%BFque-es-una-enfermedad-rara>

[http://www.wikiwand.com/es/Arco\\_cigom%C3%A1tico](http://www.wikiwand.com/es/Arco_cigom%C3%A1tico)

<https://stemcells.nih.gov/info/basics/1.htm>

<https://www.agenciasinc.es/Reportajes/El-editor-genetico-CRISPR-explicado-para-principiantes>

<https://rarediseases.org/rare-diseases/treacher-collins-syndrome/>

<https://www.elmundo.es/cronica/2018/12/08/5c017611fc6c83d7478b4689.html>

<https://www.lafm.com.co/tecnologia/polemica-por-supuesta-creacion-de-lulu-y-nana-bebes-creados-para-resistir-enfermedades>

[https://sinonims.iec.cat/sinonims\\_cerca\\_sin.asp?pclau2=decendent&button=Cerca+arreu](https://sinonims.iec.cat/sinonims_cerca_sin.asp?pclau2=decendent&button=Cerca+arreu)

<https://www.rac1.cat/programes/el-mon/20171130/433308533074/treacher-collins-wonder-novella-pellicula.html>

<https://www.andrologica.es/crispr-y-el-genoma/>

<https://revistageneticamedica.com/crispr/>

<http://www.diccionari.cat/cgi-bin/AppDLC3.exe?APP=CERCADLC&GECART=anclatge&x=0&y=0>

<https://www.agenciasinc.es/Reportajes/El-editor-genetico-CRISPR-explicado-para-principiantes>

<https://www.the-scientist.com/daily-news/crispr-for-cures-38297>

<https://www.technologyreview.es/s/10448/el-debate-de-usar-crispr-en-embriones-seguridad-contra-progreso>

<https://www.muyinteresante.es/salud/articulo/la-tecnica-crispr-consigue-revertir-la-enfermedad-de-huntington-381497946815>

<https://tvcrecer.com/2011/monitoreo-fetal-ante-parto/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1532/>

