Ética científica de la terapia génica de individuos. Urgencia de la Cirugía Génica del ADN

Carlos Y Valenzuela

Scientific ethics of gene therapy for individuals. The urgency for DNA gene surgery

Gene therapy for individuals is mainly directed to somatic or germ cells. The present technology aims to insert a DNA segment in the recipient cells. This therapy is useful in Mendelian recessive diseases. There is an ethical moratorium to perform insertion gene therapy in germ cells, because this procedure increases the human genome. Somatic cell gene therapy cures individuals but increases the gene frequency of genetic diseases in the population. This occurs because the descendants of the cured patient should carry his or her «ill» genes. We denote by «DNA gene surgery» the procedure that replaces «ill» nucleotide(s) by healthy one(s) conserving the genome size and the gene context of expression and regulation. Several procedures for gene surgery have been applied to cells and animals. Those based on DNA repair as Chimeric RNA/DNA, one stranded oligonucleotides and tristranded DNA. Those based on DNA recombination with oligo-DNA or one stranded DNA, and transposable DNA segments. Gene surgery can be applied to germ cell gene therapy without ethical contraindications. It can cure Mendelian dominant diseases and it can be applied to heterozygotes. It preserves the regulation and expression gene context. If a technical safe procedure is available, the entire mankind could be treated and cured of all the Mendelian diseases, in one generation. Susceptibilities for all diseases could also be treated. The moratorium for research on germ cell gene therapy by gene surgery should be interrupted. Safe gene surgery is a moral imperative for gene therapy of patients and their descendants, for the treatment of dominant genetic diseases and for heterozygous carriers of recessive disorders (Rev Méd Chile 2003; 131: 1208-14).

(Key Words: Gene Therapy; Gene surgery; Genetic techniques; Germ cells).

Recibido el 16 de mayo, 2003. Aceptado en versión corregida el 17 de agosto, 2003.
Programa de Genética Humana. Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM).

Correspondencia a: Carlos Y Valenzuela. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Independencia 1027, Casilla 70061, Santiago, Chile. Fax (56-2) 7373158; Phone (56-2) 6786456-6786302. E mail: cvalenzu@machi.med.uchile.cl

La terapia génica satisface el anhelo de la medicina de curar etiológicamente (remover la causa de) una enfermedad. La biología actual sostiene que todo ser vivo resulta de la interacción de su genoma con el medio ambiente, historia o circunstancias. Aquí el medio ambiente incluye al intracelular. Todo carácter (las enfermedades lo son) resulta de un genotipo interactuando con el medio. Según su componente genético, las enfermedades pueden clasificarse en un gradiente que va desde casi 100% genético a aquellas con un componente exiguo o nulo. Las enfermedades Mendelianas simples, monogénicas, dominantes o recesivas, ligadas al sexo (X o Y) o autosómicas son casi 100% genéticas. Entre ellas tenemos a la hemocromatosis, fibrosis quística o mucoviscidosis, hemofilia, fenilcetonuria y cerca de 5.800 enfermedades o síndromes genéticos Mendelianos o mitocondriales ya descritos (ver en www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/Omim/). Otras enfermedades tienen un gran componente genético, son multifactoriales u oligogénicas y el ambiente tiene un componente no nimio. Entre ellas podemos mencionar a la hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo I, malformaciones congénitas, vicios de refracción ocular, psicosis, epilepsia, etc. En otro grupo el agente es ambiental, como son todas las infecciosas y parasitarias, pero, los genes dan susceptibilidad o resistencia diferencial a ellas. Hay otros grupos intermedios y podemos terminar con aquellas donde todos los seres humanos sometidos al agente ambiental resultan enfermos. Entre ellas están las carencias nutritivas, vitamínicas, de elementos trazas, etc., en las que dado el elemento carente la enfermedad cura por completo, si no ha dejado secuelas irreversibles; también están aquí los accidentes (aunque la susceptibilidad a tener accidentes tiene algún componente genético). Se puede estimar en 85% el componente genético de toda la patología humana, de allí que de disponer de terapia génica para este componente, podríamos aliviar mucho a la humanidad. La situación dista de ser tan sencilla.

Al comienzo las enfermedades hereditarias se tomaban como una fatalidad incurable. Sin embargo, desde hace tiempo se trataban enfermedades con un alto componente genético mediante fenocopias, como las miopías, diabetes, hemofilia (con concentrados de factor VIII), etc. El tratamiento

«ambiental» de algunas enfermedades metabólicas genéticas abrió perspectivas y terminó con su fatalismo. Tal fue el caso de la idiocia fenilpirúvica con dieta muy pobre en fenilalanina desde el nacimiento. Sin embargo, estas soluciones no llevaban a cambiar el gen «patológico». Buscando soluciones radicales se introdujo genes «normales» en células de pacientes (o de animales) con enfermedades recesivas y se consiguió «curaciones» celulares, evaluadas por la producción de una proteína que «funcionaba» correctamente. El paso de las células al individuo vivo ha sido más difícil y con conflictos éticos. La terapia génica apareció hace más de 30 años y desde su origen provocó controversias éticas, filosóficas y teológicas¹⁻¹⁴. No sería posible siquiera dar una revisión somera del tema por su extensión y riqueza de conflictos técnicos y éticos. La red mundial de información biomédica PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/PubMed/) menciona más de 20.000 títulos bajo las palabras *gene therapy*. Recomendamos leer textos actualizados de medicina o de medicina molecular que resumen bien el estado del arte en su parte aplicada^{15,16}. Debatiremos los elementos éticos más generales y relevantes de la terapia génica de individuos (completos) con sus proyecciones poblacionales, desde la Ética Científica como alternativa a la Filosófica¹⁷. No nos referiremos a la terapia génica de tumores u órganos circunscritos de los pacientes que no forman parte de la enfermedad general que portan todas sus células.

DESARROLLO

Hay dos intenciones fundamentales en la terapia génica de individuos. Terapia de células somáticas y terapia de células germinales^{5,18}. La terapia génica de células somáticas pretende curar las células de órganos y tejidos que no sean las gonadales de la línea germinal (la curación de las células tecales y de la granulosa del ovario y, de las células de Leydig y de Sertoli del testículo debería considerarse terapia de células somáticas). La terapia génica de células germinales pretende curar incluso esta estirpe celular (formadora de gametos) para curar también a la descendencia. La terapia de células somáticas cura a los individuos pero no cura a su descendencia, lo que produce

un problema ético grave. En una enfermedad recesiva ligada al sexo como la hemofilia, los pacientes son casi todos varones. Antiguamente, los hemofílicos no se reproducían ya que morían por las hemorragias o por las complicaciones de ellas. Con los tratamientos médicos aumentó su esperanza de vida y algunos llegaron a la edad reproductiva y tuvieron hijos, pero en número inferior a los normales. Con la terapia génica de células somáticas, prácticamente todos podrán tener hijos en número similar a los normales. Todas sus hijas serán portadoras y la mitad de sus nietos varones serán enfermos. Si los normales, debido a la norma social, limitan el número de hijos, la situación se hace más extrema¹⁹. Los pacientes con enfermedades autosómicas recesivas son homocigotos, darán hijos portadores (la mitad enfermos si su cónyuge es heterocigoto) y, sus nietos tendrán una probabilidad no despreciable de tener la enfermedad según la frecuencia del gen en la población. Esta complicación ética estaba presente en cualquier tipo de terapia, pero la terapia génica por su eficiencia ha hecho la situación más crítica. Se produce una relajación de la selección natural y en la especie (en la humanidad) las enfermedades genéticas suben su frecuencia en forma notable en cada generación.

El factor poblacional no ha sido considerado ni en la Ética Médica ni en la Bioética. Sólo se considera al paciente o individuo. Desde la Ética Científica¹⁷, que acepta la evolución como un proceso real, e incorpora toda la genética (genómica) poblacional, esta exclusión es un grave error, por omisión. Se invocan varios motivos para no incorporar la población como considerando ético. Desde cualquiera ética, especialmente desde la principalista, varios principios resultan contradictorios entre el individuo y la población²⁰. Ya mencionamos uno, respecto del aumento de la patología genética. Al considerar la población, todos los individuos valen lo mismo (justicia de correspondencia de la Ética Científica), pero, se observa que en la sociedad no es así en cuanto al acceso y calidad de la atención en salud (o en cualquiera variable sociocultural, como poder, prestigio, ingreso, educación, etc.), con lo que se contradice el principio de justicia de la ética principalista (distributiva o de equivalencia intra e internacional). Se hace patente la desigualdad producto de los sistemas económicos y la ideolo-

gía que los sustenta. No cabe duda que para la igualdad poblacional los sistemas fraternos y solidarios son mucho más afines que los capitalistas liberales o no liberales. El acceso a y la calidad de (promedios) la salud y educación es muy superior en Cuba (socialista) que en Chile (neoliberal). Es claro que no hay ética sin ideología o religión que la sustente y el debate comunismo-individualismo tiene que ser realizado. Es interesante que en la Academia de Platón se dio este debate y, Aristóteles condenó el comunismo de Platón por ser iluso y menos ético que el liberalismo basado en la propiedad privada²¹. Un tercer obstáculo filosófico es el probabilismo ético, que plantea que lo que es probable es incierto por lo que no debe incidir como factor ético decisional. Como los argumentos poblacionales son probabilísticos (frecuencia de ocurrencia), se ha extrapolado a que el paciente es algo cierto presente, la población es algo probable incierto. Este es un error grave por ignorancia y confusión. Las probabilidades de la ciencia son ciertas (por ejemplo en medicina forense la identificación de un individuo o la asignación de paternidad). Los riesgos de una intervención son medibles y probables. El error viene de confundir el probabilismo filosófico con la probabilidad científica. No tienen nada que ver. Decir que 25% de los nietos de hemofílicos serán hemofílicos implica una certeza estocástica sujeta a las varianzas del caso. Lo mismo sucede al lanzar una moneda no sesgada al aire en que la probabilidad de salir cara es 1/2. Al contrario, la ciencia actual ve con sospecha la invarianza de lo individual. La probabilidad que un ser humano se convierta en un cerdo (o sane de cáncer terminal) existe y es muy baja, pero esto no quita que pueda suceder.

La ética de la terapia génica depende, además de las variables clásicas de toda ética o bioética, de la tecnología utilizada. Actualmente hay «terapias génicas» que insertan genes «sanos» en varias partes del genoma o que se mantienen por poco tiempo en partículas vectores en el citoplasma donde ejecutan su labor transitoria. Nos interesan los que se insertan en el genoma y tienen un rol más permanente. La inserción de genes sanos es efectiva en el caso de enfermedades Mendelianas monogénicas recesivas, en las que, los pacientes son homocigotos para genes «enfermos». Basta una copia del gen sano para que el fenotipo sea

sano. La inserción debe incluir el contexto o marco de expresión y regulación del gen para que sea efectiva (materia que no podemos tratar aquí). La inserción no «cura» las enfermedades Mendelianas monogénicas dominantes, pues para producir el fenotipo enfermo basta la existencia de un alelo enfermo que el paciente ya tiene. No hay terapia génica concebible para las enfermedades genéticas poligénicas, multifactoriales o de interacciones complejas²². Las enfermedades dominantes sólo podrían curarse eficientemente si se cambiara el «gen dominante» que produce la patología y que habitualmente se da en un genotipo heterocigoto (con el alelo normal). La inserción génica puede tener complicaciones como reacciones alérgicas o autoinmunes, inducción de cáncer e interferencia con otras funciones génicas^{23,24}. Se discute si aún con estas complicaciones debe continuarse con terapia génica por inserción²⁵⁻²⁷. Esta terapia no puede sanar a los portadores (heterocigotos sanos) de una enfermedad recesiva. Tampoco puede ser utilizada en terapia génica de células germinales por motivos éticos y técnicos, algunos de los cuales hemos mencionado y otros que veremos más en detalle.

Internacionalmente se ha decretado una moratoria para investigar y realizar terapia génica de células germinales. Esta moratoria se basa en que al insertar un segmento de ADN en cualquier parte del genoma, que además puede ser en más de un inserto, éste se alarga. Si esta inserción ocurre en los gametos, los descendientes a los que den origen estos gametos tendrán un genoma más largo. Ahora si un varón que tiene uno de estos insertos para una enfermedad se casa con una dama que tiene un inserto para otra enfermedad, comprendemos que el genoma humano se puede ir llenando de insertos que pueden dar una distorsión en la expresión génica impredecible. Además no sabemos lo que puede ocurrir en individuos con más de dos copias génicas funcionales.

Enfatizamos la gravedad del problema poblacional que ocurre al disponer sólo de terapia génica por inserción. Las mutaciones que originan patología genética y que antes eran mantenidas en muy baja frecuencia por la selección natural, ahora, con la terapia médica general y mucho más con la terapia génica, pierden su deficiencia adaptativa y su frecuencia aumentará rápida e inexorablemente. Esto ocurrirá con la patología

genética recesiva para la cual haya terapia génica. Como no se puede realizar terapia génica de células germinales por inserción, no hay solución por esa vía. La ética médica y la bioética no introducen la población en sus análisis, lo que nos ata de manos. La ética y la bioética en vano evitan estos referentes que se impondrán de todas maneras, porque no es ético «sanar» a un individuo para asegurar la enfermedad de sus descendientes. Tampoco es ético que la población se llene de enfermedades hereditarias aunque haya tratamiento para ellas. El gasto en salud en pocos años se haría imposible de soportar y habría que sortear los pacientes a tratar. Tenemos la idea que esto ocurrirá lentamente. Ignoramos las tasas de mutaciones y frecuencias génicas para estas enfermedades, por lo que no puede hacerse un cálculo. Si suponemos un aumento de 2% por generación (30 años), en 120 años aumentarán estas enfermedades en 6% de la población. No es tanto el problema del aumento de la frecuencia en relación a la población total, insistimos, lo importante es el aumento del gasto en salud, que sí se notará en cada generación, y se hará insostenible.

Se hace urgente estudiar y desarrollar técnicas de terapia génica de células germinales sin alargar (inserciones) su genoma. Estas técnicas podrían servir también para tratar las enfermedades dominantes y a los heterocigotos de enfermedades recesivas. Denomino Cirugía Génica del ADN (*DNA Gene Surgery*) a la terapia que reemplaza o cura *in situ* sólo el segmento anómalo de ADN por el sano o reemplaza el o los nucleótidos anómalos por el o los sanos, respectivamente, sin alterar el resto de la secuencia en donde el segmento o los nucleótidos que se reemplazan están insertados, sin alterar el genoma residual (aquel que no es el del segmento tratado), ni la regulación ni la expresión del gen tratado. Podría aceptarse una pequeña variación en el segmento a reparar (por ejemplo en segmentos flanqueadores), pero que ocurra en partes no codificantes para proteínas y que no altere la regulación del gen ni su expresión. La utilidad de su aplicación dependerá del estado del desarrollo del ser humano en el que se aplique. En patología genética cuyo fenotipo depende del desarrollo de órganos o tejidos, la terapia debe aplicarse antes que se produzcan las anomalías del desarrollo. Esto hace pensar que el momento más oportuno es la vida

intrauterina y, si es posible en estado de cigoto. Pero, al tratar al cigoto o al embrión antes que se diferencien las células germinales, se «trata» también a las células precursoras de las germinales y, queriendo sólo hacer terapia somática se hace también terapia germinal. Esta terapia germinal estaría prohibida al ser por inserción, pero no lo estaría al ser por cirugía génica. Entonces la cirugía génica es una necesidad urgente para la humanidad. Quise bautizar este método como Cirugía Génica solamente, pero este término se ha aplicado a cirugía realizada por o con algún componente de ingeniería genética (micro-plasmas). Podría llamarse también Cirugía Nucleotídica o Genoplastia.

Se han desarrollado varios métodos para realizar cirugía génica. Los detalles técnicos están fuera del alcance de este artículo, pero una somera descripción es necesaria. Los métodos pueden clasificarse en dos grupos según su mecanismo (aun hipotético): i) basados en la reparación del ADN; ii) basados en la recombinación del ADN que incluye a la transposición. I) Entre aquellos basados en la reparación del ADN tenemos A) Las técnicas del ARN/ADN quimérico²⁸⁻³¹ o RDOs (*RNA-DNA oligonucleotides*)³², con la que se ha conseguido «curación» de células en cultivo o en animales. Este ARN/ADN reemplazaría a los vectores de la terapia génica por inserción y se posicionaría en el sitio preciso donde se requiere la reparación nucleotídica (targeting que es por el momento intraducible). En ese sitio el ARN/ADN formaría un híbrido con las hebras del ADN patológico. Las enzimas correctoras o «reparadoras» pueden convertir este híbrido en un ADN corregido, tomando como molde el ARN/ADN sano o conservar el ADN anormal al usar como molde el ADN antiguo³³. Teóricamente la probabilidad de ambos procesos debería ser un medio. En la práctica el rendimiento es muy inferior, por lo que el método se ha discontinuado³⁴. B) También se han utilizado oligodeoxinucleótidos de hebra simple (monofilar o *single-stranded*) con la secuencia sana para corregir el nucleótido enfermo denominados ODNs (*oligo-deoxy-nucleotides*)^{35,36}. C) Una tercera técnica la constituye la formación de oligonucleótidos trifilares transientes (TFOs *triple-helix-forming oligonucleotides*)^{36,37}. Lo que se intenta es, técnicamente, realizar una conver-

sión génica por una conversión de base³⁰. Como se ha dicho, para las quimeras ARN/ADN, todos estos métodos introducen un oligonucleótido de ARN o ADN bifilar o monofilar que incluye la secuencia con la base normal (sonda o bisturí nucleotídico o *nucleotide scalpel*). Estos segmentos nucleotídicos introducidos reconocen por su secuencia el sitio de apareamiento en el locus ADN preciso y se hibridan con una de las hebras del ADN dando un híbrido molecular que se repara como se ha descrito. No está claro el mecanismo fino en ninguno de los métodos. Para garantizar un alto porcentaje de reparación o conversión a la normalidad habría que hacer varias terapias o bien desarrollar técnicas que aseguren que la secuencia del ARN o ADN de reemplazo va a ser la copiada. II) las técnicas basadas en la recombinación usan la propiedad del ADN que al encontrarse con otra hebra o cadena de ADN pueden producirse inserciones de una en otra por dobles recombinaciones moleculares. En este caso el ADN sano portaría una secuencia prótesis que reemplazaría a la enferma (prótesis de ADN o *DNA prothesis*); la diferencia con las prótesis corrientes es que estas prótesis de ADN son mejores que el órgano natural que reemplazan porque reparan la base del ser humano mismo que es su genoma. Entre estas técnicas se encuentran: A) El reemplazo del ADN enfermo por fragmentos homólogos pequeños de ADN mono o bifilar (*SFHR small fragment homologous replacement*) que al utilizar pequeños segmentos de ADN bifilar constituye la técnica SDFs (*short DNA fragments*)³²; B) Otro método de cirugía génica, que usa la inserción (recombinación) es el que asegura que la inserción del segmento completo de ADN sano o de una gran parte de él suceda exactamente donde reemplace al segmento «enfermo» y, en ninguna otra parte más (actualmente no se tiene una herramienta tan precisa y específica). Esto ocurre en baja frecuencia en la terapia somática por inserción. Se conoce un proceso que cumple estas características en forma poco específica. Se trata de la inserción génica por transposones, que pueden insertarse en varios sitios, por lo que se trabaja por aumentar su especificidad^{37,38}. Es necesario conocer secuencias flanqueadoras únicas de esos segmentos para poder lograrlo; desafortunadamente esto requiere de segmentos demasiado largos para ser técnica-

mente útiles. Es probable que cuando conozcamos más los mecanismos de estas correcciones cambiemos esta clasificación preliminar.

La cirugía génica al cambiar solamente el o los nucleótidos anómalos no alarga ni acorta el genoma, salvo el caso que se trate de una delección o inserción de uno o pocos nucleótidos; con lo que no tiene la crítica ética de la terapia génica por inserción de segmentos de ADN. Luego puede utilizarse en terapia génica de células germinales. Otra ventaja es que puede utilizarse para enfermedades dominantes, si se realiza en etapas tempranas del desarrollo cuando no haya aún secuelas tisulares u orgánicas irreversibles. La tercera ventaja es que pueden tratarse los heterocigotos para enfermedades recesivas, que de cambiarse sus células germinales ya no darán hijos con estas enfermedades. Es decir, podría tratarse en una generación a toda la humanidad y quedaría «sana» de las enfermedades Mendelianas simples. También podrían tratarse las susceptibilidades a enfermedades infecciosas. Hay actualmente limitaciones técnicas y éticas. El rendimiento es bajo. No hay certeza que se corrija sólo el nucleótido que desea corregirse. Puede haber varias secuencias similares correspondientes a diferentes genes, que serían corregidas y no sabemos a que podría conducir esto. También una proteína nueva con otro(s) posible(s) epitopo(s) reemplaza a la antigua por lo que pudiere ser antigénica conduciendo a autoinmunidad. En el caso de la inserción queda la proteína antigua y se

agrega la nueva (también potencialmente antigénica). En todo caso estos problemas parecen menores al lado de los que genera la inserción génica. Así, en la cirugía génica no puede haber alteración de encendido o apagado de genes (oncogenes por ejemplo), como sucede en la inserción; no hay alargamiento del genoma; la antigenicidad puede ser menor que en la inserción génica (el cambio es probablemente menor); no se alteran los contextos de regulación ni de expresión génicas.

La cirugía génica se ve muy adecuada para enfermedades Mendelianas simples (la inserción génica sólo para recesivas). La interacción génica y las enfermedades complejas plantean un problema no resuelto para cualquier terapia génica. Con 3 loci y 2 alelos en cada uno de ellos se generan más de 134 millones de modelos genéticos³⁹ que producen fenotipos sano-enfermo. ¿Qué segmento genómico se elegirá para iniciar la terapia si no se conoce el modelo de enfermedad? Las interacciones no lineales generan problemas insolubles. ¿Cómo se trata una patología en donde se necesita heterocigocidad para estar sano? Supongamos que los individuos AA y BB están enfermos y los AB sanos. Si tratamos a los AA con segmentos de ADN B, convertimos a los individuos AA en BB que también están enfermos. Si la terapia da resultado en 30% (en cadenas de ADN), podríamos pensar que, en cada individuo AA tratado con B tendremos 49% de células AA, 42% de AB y 9% de BB lo que puede llevar a la muerte del paciente.

REFERENCIAS

1. OSTERMAN JV, WADDELL A, APOSHIAN HV. DNA and Gene Therapy: Uncoating of Polyoma Pseudovirus in Mouse Embryo Cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970; 67: 37-40.
2. OSTERMAN JV, WADDELL A, APOSHIAN HV. Gene Therapy Systems: the Need, Experimental Approach, and Implications. *Ann NY Acad Sci* 1971; 179: 514-9.
3. FRIEDMANN T, ROBLIN R. Gene Therapy for Human Genetic Disease? *Science* 1972; 175: 949-55.
4. ANDERSON FA. Gene Therapy. *JAMA* 1981; 246: 2737-9.
5. BECKMANN J. Germ-line gene therapy a misnomer? *Nature* 1984; 312: 408.
6. STEINMETZ M. Immune response restored by gene therapy in mice. *Nature* 1985; 316: 14-5.
7. GRIFFIN JA. Recombinant DNA-potential for gene therapy. *Am J Med Sci* 1985; 289: 98-105.
8. ANDERSON WF. Human gene therapy: scientific and ethical considerations. *J Med Philos* 1985; 10: 275-91.
9. FLETCHER JC. Ethical issues in and beyond prospective clinical trials of human gene therapy. *J Med Philos* 1985; 10: 293-309.
10. KANTOFF PW, KOHN DB, MITSUYA H, ARMENTANO D, SIEBERG M, ZWIEBEL JA ET AL. Correction of adenosine deaminase deficiency in cultured human T and B cells by retrovirus-mediated gene transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6563-7.
11. WALTERS L. The ethics of human gene therapy. *Nature* 1986; 320: 225-7.

12. CULVER KW, ANDERSON WF, BLAESE RM. Lymphocyte gene therapy. *Hum Gene Ther* 1991; 2: 107-9.
13. BLAESE RM. Development of gene therapy for immunodeficiency: adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Res* 1993; 33 (1 Suppl): S49-53.
14. WALTER JJ. Theological issues in genetics. *Theol Stud* 1999; 60: 124-34.
15. KAY MA, RUSSELL DW. Gene Therapy. En Harrison's *Principles of Internal Medicine*. 15ª Edición, New York, NY, USA, McGraw-Hill, 2001; 412-8.
16. JAMESON JL. *Principles of Molecular Medicine*. Jameson JL ed. Totowa, NJ, USA, Humana Press, 1998.
17. VALENZUELA CY. Ética científica y embriones congelados. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 561-8.
18. COUTELLE C, RODECK C. On the scientific and ethical issues of fetal somatic gene therapy. *Gene Ther* 2002; 9: 670-3.
19. VALENZUELA CY. A possible biologic effect of contraception on a balanced genetic polymorphism. *Soc Biol* 1977; 24: 84-6.
20. PELLEGRINO ED. La metamorfosis de la ética médica. Una mirada retrospectiva a los últimos 30 años. *Rev Chil Pediatr* 1994; 65: 184-93.
21. ARISTÓTELES. *Ética Nicomaquea y Política*. México, Editorial Porrúa, S.A. 1992, *Política, Libro segundo*, Cap. II, p 177-8.
22. RISCH NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000; 405: 847-56.
23. TEICHLER ZALLEN D. US gene therapy in crisis. *Trends Genet* 2000; 16: 272-5.
24. HACEIN-BEY-ABINA S, VON KALLE C, SCHMIDT M, LE DEIST F, WULFFRAAT N, MCINTYRE E ET AL. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2003; 348: 255-6.
25. DETTWELER U, SIMON P. Points to consider for ethics committees in human gene therapy trials. *Bioethics* 2001; 15: 491-500.
26. SMITH L, BYERS JF. Gene therapy in the post-Gelsinger era. *JONAS Healthc Law Ethics Regul* 2002; 4: 104-10.
27. NOGUCHI P. Risks and benefits of gene therapy. *N Engl J Med* 2003; 348: 193-4.
28. WU XS, LIU DP, LIANG CC. Prospects of chimeric RNA-DNA oligonucleotides in gene Therapy. *J Biomed Sci* 2001; 8: 439-45.
29. LAI LW, LIEN YH. Therapeutic application of chimeric RNA/DNA oligonucleotide based gene therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2001; 1: 41-7.
30. LIU H, AGARWAL S, KMIEC E, DAVIS BR. Targeted beta-globin gene conversion in human hematopoietic CD34(+) and Lin(-)CD38(-) cells. *Gene Ther* 2002; 9: 118-26.
31. PAREKH-OLMEDO H, CZYMEK K, KMIEC EB. Targeted gene repair in mammalian cells using chimeric RNA/DNA oligonucleotides and modified single stranded vectors. *Sci STKE* 2001; 2001: PL1.
32. THORPE P, STEVENSON BJ, PORTEOUS DJ. Optimising gene repair strategies in cell culture. *Gene Ther* 2002; 9: 700-2.
33. KMIEC EB. Genomic targeting and genetic conversion in cancer therapy. *Semin Oncol* 1996; 23: 188-93.
34. TAUBES G. The strange case of chimeroplasty. *Science* 2002; 298: 2116-20.
35. IGOCHEVA O, ALEXEEV V, YOON K. Targeted gene correction by small single stranded oligonucleotides in mammalian cells. *Gene Ther* 2001; 8: 391-9.
36. LIU CM, LIU DP, LIANG CC. Oligonucleotide-mediated gene repair at DNA level: the potential applications for gene therapy. *J Mol Med* 2002; 80: 620-8.
37. RICHARDSON PD, AUGUSTIN LB, KREN BT, STEER CJ. Gene repair and transposon mediated gene therapy. *Stem Cells* 2002; 20: 105-18.
38. VIGDAL TJ, KAUFMAN CD, IZSAK Z, VOYTAS DF, IVICS Z. Common physical properties of DNA affecting target site selection of sleeping beauty and other Tc1/mariner transposable elements. *J Mol Biol* 2002; 323: 441-52.
39. VALENZUELA CY. Genetic Interaction or Heterogeneity. The Number of Interactive Genetic Models. A Formal and Biological Analysis. *Ind J Hum Genet* 1997; 3: 19-24.

Agradecimientos

Alumnos de postgrado y el Prof. Y Israel, me hicieron sugerencias e indicaciones muy útiles. Un enfoque preliminar fue presentado en el 4th International Symposium on Genetics, Health and Disease, Amritsar (India), 1-4 de diciembre de 1998.