

Artículo de revisión

Edición genómica con CRISPR-Cas9 y su aplicación en trastornos genéticos

Genome editing with CRISPR-Cas9 and its application in genetic disorders

Riber Fabián Donoso Noroña^{1*} <https://orcid.org/0000000291323459>

Nairovys Gómez Martínez¹ <https://orcid.org/0000-0001-7986-8328>

Adisnay Rodríguez Plasencia¹ <https://orcid.org/0000-0002-5293-2817>

¹Universidad Regional Autónoma de los Andes (UNIANDES). Ecuador.

*Autor para la correspondencia: ua.riberdonoso@uniandes.edu.ec

RESUMEN

La edición genómica con CRISPR-Cas9 ha surgido como una herramienta revolucionaria en la investigación biomédica, permitiendo una manipulación precisa de genes en una amplia variedad de organismos. Uno de los campos más prometedores de aplicación de esta tecnología es el abordaje de trastornos genéticos. El objetivo principal de esta revisión bibliográfica es proporcionar una visión completa de los logros actuales y las áreas de desarrollo de la edición genómica en el contexto de trastornos genéticos. Se busca evaluar la eficacia de las estrategias de edición genómica y explorar las posibles implicaciones clínicas de esta tecnología en la terapia de enfermedades genéticas. Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura científica actual en bases de datos

académicas. Se identificaron estudios preclínicos y clínicos relacionados con la aplicación de CRISPR-Cas9 en trastornos genéticos. Se analizaron los enfoques metodológicos utilizados y los resultados obtenidos. Los resultados destacan un crecimiento significativo en la eficiencia y precisión de la edición genómica, así como avances en la adaptación de esta tecnología a trastornos genéticos específicos. Se observa un aumento en los ensayos clínicos y enfoques terapéuticos prometedores. La edición genómica con CRISPR-Cas9 representa una poderosa estrategia para corregir mutaciones genéticas subyacentes a trastornos hereditarios. Aunque existen desafíos técnicos y éticos, los avances actuales sugieren un futuro prometedor para la terapia génica de precisión.

Palabras clave: edición genómica; CRISPR-Cas9; trastornos genéticos; terapia génica; mutaciones genéticas.

ABSTRACT

Genome editing with CRISPR-Cas9 has emerged as a revolutionary tool in biomedical research, allowing precise manipulation of genes in a wide variety of organisms. One of the most promising fields of application of this technology is the approach to genetic disorders. The main objective of this literature review is to provide a comprehensive overview of the current achievements and areas of development of genome editing in the context of genetic disorders. The aim is to evaluate the effectiveness of genomic editing strategies and explore the possible clinical implications of this technology in the therapy of genetic diseases. An exhaustive search of current scientific literature was carried out in academic databases. Preclinical and clinical studies related to the application of CRISPR-Cas9 in genetic disorders were identified. The methodological approaches used and the results obtained were analyzed. The results highlight significant growth in

the efficiency and precision of genome editing, as well as advances in adapting this technology to specific genetic disorders. There is an increase in clinical trials and promising therapeutic approaches. Genome editing with CRISPR-Cas9 represents a powerful strategy to correct genetic mutations underlying inherited disorders. Although technical and ethical challenges exist, current advances suggest a promising future for precision gene therapy.

Keywords: genome editing; CRISPR-Cas9; genetic disorders; gene therapy; genetic mutations.

Recibido: 12/10/2023

Aprobado: 29/11/2023

Introducción

La edición genómica mediante CRISPR-Cas9 representa una de las innovaciones más prometedoras en biotecnología, ofreciendo un método preciso y eficiente para modificar el genoma de organismos vivos. Este estudio se justifica dado que los trastornos genéticos, muchos de los cuales carecen de tratamientos efectivos, pueden potencialmente ser corregidos o mitigados mediante esta tecnología.

Al realizar una revisión bibliográfica exhaustiva, se busca consolidar el conocimiento actual sobre la eficacia, seguridad, y ética de la aplicación de CRISPR-Cas9 en trastornos genéticos, identificando áreas de consenso y controversia, así como posibles caminos para futuras investigaciones. Esta revisión permitirá a la comunidad científica y médica entender mejor las aplicaciones y limitaciones de esta técnica, guiando el desarrollo de terapias

genéticas más seguras y eficaces, al tiempo que informa el debate ético y regulatorio en torno a su uso clínico.

La edición genómica con CRISPR-Cas9 es una de las tecnologías más emocionantes y prometedoras en la investigación biomédica actual. Su potencial para corregir mutaciones genéticas responsables de trastornos hereditarios ofrece una oportunidad única de tratar enfermedades que han sido durante mucho tiempo desafiantes o incluso imposibles de abordar.

La importancia de llevar a cabo esta revisión radica en su potencial para resaltar los desafíos y oportunidades de la edición genómica en la terapia de enfermedades genéticas. Dado que los trastornos genéticos afectan a un número significativo de personas en todo el mundo, encontrar soluciones efectivas es de suma importancia.

Han pasado 40 años desde que un equipo japonés durante sus estudios del funcionamiento de un enzima los llevara por casualidad al descubrimiento de lo que hoy se conoce como CRISPR-Cas. Esta técnica se ha convertido a día de hoy en una poderosísima herramienta que ha revolucionado el mundo de la genética. Esta técnica posee cada día más aplicaciones, tanto en mejora genética aplicada a la producción animal y vegetal, como en terapia génica entre muchas otras.⁽¹⁾

CRISPR/Cas9 es un sistema de vigilancia inmunitaria que utiliza las bacterias para reconocer el material genético de organismos infecciosos. Con el empleo de Cas y RNA específicos, este sistema escinde los ácidos nucleicos extraños en fragmentos, defendiendo a las bacterias contra los atacantes.⁽²⁾ Por otro lado, ha demostrado tener el potencial para convertirse en un valioso recurso terapéutico frente a enfermedades hereditarias, virus y neoplasias. A falta de encontrar métodos que mejoren todavía más la eficacia de esta tecnología, las mejores candidatas para la edición genética ex vivo serían las células precursoras de las

series mieloide y linfoide, por la posibilidad de seleccionarlas antes de su administración al paciente.⁽³⁾

Varios autores recalcan que CRISPR-CAS9 se ha convertido en una poderosa herramienta de laboratorio, debido a su relativamente bajo precio y su también relativa facilidad de uso que permite que sea adoptada por miles de laboratorios de todo el mundo.⁽⁴⁾ A pesar de tratarse de una tecnología relativamente nueva y que se encuentra en constante modernización, CRISPR-Cas9 está reemplazando a las demás técnicas moleculares con potenciales terapéuticos en el tratamiento de enfermedades como, por ejemplo, la fibrosis quística, a partir del estudio de la corrección de mutaciones en iPSCs.

La evolución dirigida de CRISPR-Cas9 permitirá una mejora más refinada en la construcción de herramientas de próxima generación para promover innovaciones en cuanto a la terapia clínica.⁽⁵⁾ El uso de CRISPR-Cas9 permite moldear al reino vegetal como nunca antes se había logrado, con el fin de mejorar el bienestar global. Por ejemplo, el desarrollo de genotipos resistentes a insectos o enfermedades presenta un amplio beneficio para la humanidad, reduciendo o evitando el uso de plaguicidas y agroquímicos.⁽⁶⁾

Además, el sistema cuenta con la ventaja de que la propia proteína Cas9 es susceptible de ser modificada, lo que posibilita la generación de nuevas aplicaciones creando nuevas proteínas alternativas. Esto ha hecho que, en la actualidad, la mayoría de investigadores que trabajaban en la edición dirigida del genoma hayan ligado sus últimos avances al uso de este sistema, lo que ha generado a su vez la aparición de inconvenientes (cortes off-target, autoinmunidad, entre otros) que limitan a CRISPR/Cas.⁽⁷⁾ La edición genómica con CRISPR-Cas9 ha revolucionado la genética y la medicina, brindando la posibilidad de corregir mutaciones genéticas responsables de trastornos hereditarios.

Con respecto a los métodos de terapia génica ya existentes, el sistema CRISPR-Cas9 mejora a sus antecesores principalmente en selectividad y en la facilidad del diseño. En contraposición, se debe mejorar en las técnicas de reparación del gen en cuestión y minimizar los efectos no deseados. 4. En definitiva, la terapia génica basada en sistemas CRISPR-Cas9 cambiará la vida de muchos seres humanos en un futuro no muy lejano.⁽⁸⁾ Gracias al avance en la investigación en ciencia básica, se ha conseguido descubrir la estructura y función del sistema CRISPR/Cas, que ha permitido la creación de una herramienta muy poderosa para la ingeniería genética.⁽⁹⁾

CRISPR-Cas9 es hoy en día la herramienta más versátil de la ingeniería genética y, por su bajo costo y habilidad para editar genomas fácilmente, la está utilizando ampliamente la comunidad científica internacional. A pesar de que existe apoyo general para su uso clínico, existen preocupaciones éticas y sobre su eficacia y seguridad en el contexto de la edición genética de la línea germinal humana.⁽¹⁰⁾

El objetivo de esta revisión bibliográfica es explorar el estado actual de la aplicación de CRISPR-Cas9 en el contexto de trastornos genéticos, evaluando su eficacia, desafíos y aplicaciones clínicas. La pregunta científica clave que guía esta investigación es: "¿Cuáles son los avances más recientes en la utilización de la edición genómica con CRISPR-Cas9 para abordar trastornos genéticos y cuáles son las perspectivas futuras en este campo?". Esta pregunta busca proporcionar una visión integral de cómo CRISPR-Cas9 se ha convertido en una herramienta esencial en la terapia génica y cómo puede allanar el camino hacia tratamientos más efectivos para enfermedades genéticas.

Métodos

Esta revisión bibliográfica se concibe como una investigación documental, que involucra la recopilación, selección y análisis crítico de literatura científica pertinente. Adopta un enfoque exploratorio para examinar el estado actual de la edición genómica con CRISPR-Cas9 y su aplicación en trastornos genéticos, complementado con un enfoque descriptivo que permite resumir y sintetizar los hallazgos principales.

El estudio se fundamenta en una rigurosa revisión de documentos académicos, artículos de revistas científicas, libros y recursos en línea que abarcan desde el surgimiento de la tecnología CRISPR-Cas9 en la década de 2010 hasta la actualidad. Las búsquedas exhaustivas se realizaron en bases de datos reconocidas como PubMed, Google Scholar, Scopus y Web of Science, y se extendieron a metabuscadores como Mendeley y ResearchGate para capturar literatura adicional relevante, empleando términos de búsqueda específicos como CRISPR-Cas9, edición genómica, terapia génica y trastornos genéticos.

Este proceso comenzó con términos de búsqueda amplios, seguido de un filtrado meticuloso para seleccionar artículos científicos y revisiones literarias pertinentes al alcance del estudio.

Solo se incluyeron documentos que tratan sobre la aplicación de CRISPR-Cas9 en trastornos genéticos, evaluando su eficacia, desafíos, aplicaciones clínicas y perspectivas futuras. Se excluyeron aquellos documentos que no estaban directamente relacionados con el tema o que no cumplían con los estándares de calidad académica. Además, se mantuvo un estricto código ético en la selección de documentos, asegurando el uso de fuentes respetadas y alineadas con los principios éticos fundamentales de la investigación científica.

Resultados

En la revisión bibliográfica realizada sobre la edición genómica con CRISPR-Cas9 y su aplicación en trastornos genéticos, se han identificado varios estudios clave que destacan la evolución y el potencial de esta tecnología:

- Dante, *et al.* (2020) presentan un estudio que aborda las implicaciones bioéticas y jurídicas de CRISPR-Cas9 como herramienta para la preservación del patrimonio genético humano. A través de un análisis de investigaciones documentales y bibliográficas, se destaca la capacidad de CRISPR-Cas9 para modificar genes de forma precisa, siendo una herramienta menos compleja para la manipulación genética en humanos.⁽¹¹⁾
- D'Angelo, *et al.* (2020) analizan el impacto de las técnicas CRISPR/Cas9 en el mejoramiento genético humano desde perspectivas biotecnológicas, antropológicas, filosóficas y jurídicas. Utilizando una metodología interdisciplinaria que incluye encuestas y entrevistas, el estudio subraya la importancia del principio precautorio para regular la práctica de la edición genética tanto en líneas germinales como somáticas.⁽¹²⁾
- Quilez (2017) explora las aplicaciones de CRISPR en la síntesis de nuevos fármacos. La revisión detalla cómo CRISPR/Cas9 ha facilitado el desarrollo de modelos de enfermedades en células y animales, ampliando las posibilidades en la farmacéutica.⁽¹³⁾
- Santaló (2019) evalúa las implicaciones de CRISPR/Cas9 en la mejora genética humana, destacando una reevaluación de la tecnología ante su potencial aplicabilidad a medio plazo. El análisis incorpora estudios de casos y marcos legales, enfatizando la necesidad de reflexionar sobre el camino futuro en la evolución humana.⁽¹⁴⁾

- Wu Ma, Y. (2014) y Zhang, F. (2014) ofrecen una visión general sobre los avances y desafíos de CRISPR/Cas9 en la edición genómica. Ambos estudios resaltan las ventajas de esta tecnología para aplicaciones biológicas y terapéuticas, destacando su sistema de guía ARN específico de secuencia que permite escisiones precisas del ADN.⁽¹⁵⁾
- Martínez (2020)⁽¹⁶⁾ y Lagunas (2019)⁽¹⁷⁾ discuten la aplicación de CRISPR como herramienta revolucionaria para la edición de genomas y su implementación en el tratamiento de diversas patologías, desde leucemias hasta cánceres.
- Riveros *et al.* (2020) examinan la capacidad de CRISPR/Cas para realizar ediciones genómicas de precisión, señalando que, originalmente, los sistemas CRISPR/Cas evolucionaron para destruir el ADN de virus bacterianos, demostrando su eficacia y versatilidad.⁽¹⁸⁾

Estos documentos colectivamente subrayan tanto las promesas como los desafíos éticos, legales y prácticos que enfrenta la edición genómica con CRISPR-Cas9, apuntando hacia una evaluación continua y crítica de sus aplicaciones en la medicina y la biotecnología.

Discusión

En el curso de esta exhaustiva revisión bibliográfica sobre la edición genómica con CRISPR-Cas9 y su aplicación en trastornos genéticos, se han descubierto una serie de hallazgos significativos. Se halla que la tecnología CRISPR-Cas9 ha revolucionado la terapia génica y ofrece un potencial sustancial para abordar trastornos genéticos hereditarios. La investigación en este campo ha demostrado resultados prometedores en modelos preclínicos, y se han realizado avances significativos hacia la aplicación clínica.

Este análisis crítico de la literatura ha identificado brechas en la investigación y áreas de desarrollo futuro, incluyendo la necesidad de abordar desafíos como la eficiencia y especificidad de la edición genómica, así como cuestiones éticas relacionadas con la terapia génica. Además, se ha subrayado la importancia de la colaboración interdisciplinaria entre científicos, médicos y bioeticistas para garantizar que la aplicación de CRISPR-Cas9 en trastornos genéticos sea ética y segura. Estos resultados ofrecen una base sólida para futuras investigaciones y para orientar el desarrollo de terapias génicas más efectivas y seguras en el contexto de trastornos genéticos.

Existe un gran interés en desarrollar estrategias de entrega no virales para introducir los componentes de CRISPR/Cas en las células in vivo. Se han probado compuestos de nanopartículas lipídicas sólidas, lipofectamina, nanopartículas de oro y polímeros catiónicos como vehículos de entrega no viral de Cas9, y el sgRNA ha sido capaz de inactivar genes en forma eficiente in vivo en una variedad de tejidos.⁽¹⁸⁾

CRISPR posiciona un paso adelante en la temática de la edición genética y en los últimos 5 años está siendo intensamente aplicada en humanos, animales, vegetales, bacterias y virus; esta tecnología se está utilizando mayormente para corregir diversos defectos genéticos en personas adultas, por lo tanto, los errores en el material genético no se transmitirían a la siguiente generación.⁽¹⁶⁾

Entre sus muchas aplicaciones, cabe destacar su papel en la investigación farmacéutica y el desarrollo de fármacos; esto se debe a que puede acelerar el descubrimiento, la validación y el testeo de nuevos fármacos al optimizar la generación de nuevos modelos animales y celulares, así como la identificación de nuevas posibles dianas en organismos patógenos como *S. pneumoniae* o *T. gondii*.⁽¹³⁾

El proceso posterior de reparación del ADN celular conduce a inserciones, eliminaciones o sustituciones deseadas en los sitios objetivo. La especificidad de la escisión del ADN mediada por CRISPR/Cas9 requiere secuencias objetivo que coincidan con el ARNcr y un motivo adyacente protoespaciador ubicado aguas abajo de las secuencias objetivo. Aquí, se revisa el mecanismo molecular, las aplicaciones y los desafíos de la edición del genoma mediada por CRISPR/Cas9 y el potencial terapéutico clínico de CRISPR/Cas9 en el futuro.⁽¹⁹⁾

Sin embargo, su uso plantea dilemas ético-legales cuando se realiza en la línea germinal humana, ya que puede usarse tanto como una medida terapéutica como para satisfacer un deseo eugenésico de perfección, dependiendo de las intenciones del científico y del proyecto parental de los padres cuyo ADN se convertirá en el objeto del procedimiento. El debate sobre lo que se considera “perfección” está abierto a críticas, porque no se puede subyugar la relevancia social de la diversidad del patrimonio genético y, por lo tanto, su extinción puede ser profundamente perjudicial para el futuro de la humanidad.⁽¹¹⁾

Una preocupación importante acerca de este sistema es su especificidad; aunque la mutación fuera del objetivo mediada por CRISPR-Cas9 se ha estudiado ampliamente, se requieren más esfuerzos para mejorar aún más la especificidad de CRISPR-Cas9. También se discuten las posibles aplicaciones de CRISPR-Cas9.⁽¹⁵⁾ Esta técnica abre la posibilidad de infinidad de operaciones en el genoma de seres vivos.⁽¹²⁾

Una de las principales controversias que se refieren al sistema CRISPR/Cas surge de su posible aplicación en embriones humanos. Esta discusión se debe en gran parte a la falta de claridad respecto del estado del embrión en la investigación. ¿La entidad es simplemente una bola de células o tiene estatus de persona completa? Incluso si está justificada, el embrión como tal no puede dar su consentimiento en

el momento de la investigación, ya que la entidad no está lo suficientemente desarrollada.⁽¹⁷⁾

Los resultados presentados revelan un enfoque prometedor en el desarrollo de estrategias de entrega no viral para la introducción de componentes de CRISPR/Cas9 en células in vivo. Se han empleado diversos vehículos de entrega, como nanopartículas lipídicas sólidas, lipofectamina, nanopartículas de oro y polímeros catiónicos, que han demostrado inactivar genes eficientemente in vivo en una variedad de tejidos.

Además, se destaca el potencial de CRISPR/Cas9 en la investigación farmacéutica y el desarrollo de fármacos, agilizando la generación de modelos celulares y animales, y permitiendo la síntesis de compuestos terapéuticos. Aunque se reconoce su revolucionario potencial, se mencionan limitaciones que requieren una optimización continua.

La discusión aborda preocupaciones éticas relacionadas con la edición genética en la línea germinal humana y la necesidad de establecer regulaciones adecuadas para garantizar un uso responsable de CRISPR. Se enfatiza la importancia de considerar la diversidad genética y evitar una búsqueda de la "perfección" que pueda ser perjudicial para la humanidad. Además, se plantea la controversia sobre la aplicación de CRISPR/Cas9 en embriones humanos, destacando la complejidad ética de investigar en entidades que no pueden dar su consentimiento.

Los resultados y discusiones presentadas en este artículo subrayan el potencial y las implicaciones de CRISPR/Cas9 en la edición genómica y la necesidad de abordar cuidadosamente los aspectos éticos, legales y técnicos a medida que esta tecnología continúa avanzando.

A pesar de la extensa investigación en este campo, la disponibilidad de literatura sobre edición genómica con CRISPR-Cas9 podría variar, y algunos estudios

relevantes podrían no haber sido incluidos; por otra parte, dado que la investigación en edición genómica está en constante evolución, algunos de los resultados y avances que se presentan en la revisión podrían volverse obsoletos en el futuro.

Los resultados de esta revisión destacan el potencial de la edición genómica con CRISPR-Cas9 en el tratamiento de trastornos genéticos. Esto tiene implicaciones importantes para el desarrollo de terapias genéticas efectivas. La revisión subraya la posibilidad de desarrollar terapias genéticas personalizadas para abordar trastornos genéticos específicos. Esto podría cambiar radicalmente la forma en que se tratan estas enfermedades; la revisión resalta la importancia de abordar cuestiones éticas y de seguridad en la edición genómica. Las implicaciones éticas de modificar el genoma humano deben abordarse cuidadosamente.

La revisión señala, además, áreas de investigación futura, como la mejora de la eficiencia y la especificidad de CRISPR-Cas9, así como la necesidad de evaluar y mitigar los riesgos asociados. Las implicaciones del estudio también incluyen la necesidad de una colaboración interdisciplinaria entre científicos, médicos y bioeticistas para garantizar que la edición genómica se utilice de manera ética y segura.

Una reflexión interesante dentro de esta línea de investigación es la relación entre la COVID-19 y la edición genómica con CRISPR-Cas9, pues especialmente en el contexto de trastornos genéticos, puede explorarse desde varias perspectivas. Aunque la COVID-19 es una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2, tal como se aborda en disímiles estudios recientes (20-22) y no un trastorno genético, la tecnología CRISPR-Cas9 pudiera ser una herramienta potencialmente útil en la lucha contra esta pandemia, así como en la investigación genética en general.

Aunque CRISPR-Cas9 es distinta del contexto de la COVID-19, las mejoras y el conocimiento adquirido en la técnica de edición genómica pueden beneficiar indirectamente la investigación biomédica en un espectro más amplio, incluyendo el estudio de trastornos genéticos y enfermedades infecciosas como la COVID-19.

Conclusiones

Esta revisión bibliográfica confirma la promesa revolucionaria de la tecnología CRISPR-Cas9 en la corrección de trastornos genéticos. Los estudios revisados indican que esta técnica tiene el potencial de revolucionar la medicina al permitir la edición precisa del genoma humano para tratar enfermedades genéticas hereditarias.

Los hallazgos resaltan la diversidad de aplicaciones de la edición genómica, que van desde la corrección de mutaciones puntuales hasta la regulación de genes y la eliminación de secuencias genéticas no deseadas. Esta versatilidad ofrece una amplia gama de oportunidades terapéuticas.

La revisión también pone de manifiesto los desafíos técnicos, como la necesidad de mejorar la eficiencia y la especificidad de CRISPR-Cas9. La edición precisa del genoma y la minimización de efectos no deseados siguen siendo objetivos cruciales, haciendo énfasis en la importancia de abordar las implicaciones éticas y de seguridad asociadas con la edición genómica. La capacidad de alterar el genoma humano plantea cuestiones éticas fundamentales, como la edición de embriones y la modificación del genoma en línea germinal.

Finalmente, se destaca la necesidad de una colaboración interdisciplinaria entre científicos, médicos, bioeticistas y reguladores para garantizar que la edición genómica se utilice de manera ética y segura. La edición del genoma plantea desafíos que van más allá de la ciencia y requiere una consideración integral.

Referencias bibliográficas

1. Velasco Carballo FJ. Sistema CRISPR -CAS: La nueva era en genética aplicada. Andalucía, España; Febrero de 2021.
2. Sánchez Artigas R. Principios y aplicaciones Médicas de la edición de genes mediante CRISPR/Cas. Ciencia y Salud. 2021;19(6):1005-14.
3. Sánchez Puerto D. Sistema CRISPR/Cas 9 y su aplicación a la edición dirigida de genomas. Facultad de Ciencias Experimentales Universidad de Jaén; 2020. p. 1-40.
4. Jaulin Pueyo J. CRISPR-Cas9: El futuro de la terapia génica y de la medicina personalizada. Zaragoza, España; 2019.
5. Granja Carrion GA. Interpretación odontológica de la edición genética mediante CRISP/CAS 9. Revista Cubana de Investigaciones Médicas. 2023;42:1-19.
6. Castillo K. CRISPR-Cas 9 en la modificación genética de fibrosis quística. Ciencia y Salud. 2020;4(1):2-3.
7. Salerno J. Aplicaciones y perspectivas de la edición génica de plantas mediante CRISPR-Cas9. Revista de Investigaciones Científicas de la Universidad de Morón. 2022;6(80):11-18.
8. Fernández Palacios P. Edición de genes mediante crispr-cas9: más que Cortar y pegar. Sevilla, España: Universidad de Sevilla; Julio de 2019.
9. Expósito Martínez M. Sistema CRISPR/Cas y su aplicación a la edición dirigida de genomas. Andalucía, España; Diciembre de 2018.
10. González Angulo A. El debate ético y de regulación sobre el uso de CRISPR-Cas9 en la línea germinal humana. Universitas Medica. 2021;62(4):1-18.

11. Felix Dantas CH. La protección de la diversidad en el patrimonio genético: implicaciones bioéticas y jurídicas en el uso de CRISPR-Cas9 como herramienta de edición genómica en humanos. *Revista de Bioética y Derecho*. 2020;(49):77-91.
12. D'Angelo R. Las técnicas CRISPR/CAS9 aplicadas al mejoramiento genético humano: Un dialogo biotecnológico, antropológico, filosófico y jurídico. *Cuadernos de bioética*. 2020;31(103):343-55.
13. Quilez Borrachero A. Aplicaciones de CRISPR en la generación y síntesis de nuevos fármacos. *MOLEQLA*. 2017;(27):28-31.
14. Santalo J. La mejora genética humana en los tiempos del CRISPR/CAS9. *Revista de Bioética y Derecho*. 2019;(47):33-41.
15. Wu Ma Y. Modificación del genoma mediante CRISPR/Cas 9. *Pub Med*. 2014:5186-5193.
16. Martínez Oliva BG. Crispr, una herramienta para obtener genomas. *Gac Med Bol*. 2020;43(2):179-83.
17. Lagunas Rangel FA. Sistema CRISPR/Cas. *Ciencia*. 2019;70(4):1-5.
18. Riveros Maidana R. Sistema CRISPR/Cas: Edición genómica de precisión. *Memorias Instituto Investigación Ciencias de la Salud*. 2020;18(1):97-107.
19. Zhang F. CRISPR/CAS9 para la edición del genoma: Avances, implicaciones y desafíos. *Pubmed*. 2014;(23):40-46.
20. Beltrán-Culqui V, Herrera-Lazo Z, Betancourt-Rubio E. Estudio de casos y controles sobre exposición a COVID-19 y duración de la lactancia materna. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas [Internet]*. 2024 [citado 10 Abr 2024]; 43 Disponible en:
<https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3279>

21. Pimienta-Concepción I, Ramos-Argilagos M. Asociación de la gravedad de la COVID-19 al priapismo en pacientes de Ecuador. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas [Internet]. 2024 [citado 10 Abr 2024]; 43 Disponible en: <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3273>
22. López-Barrionuevo C, Miranda-Solis E, Betancourt-Rubio E. Análisis de regresión multinomial de gravedad COVID-19 en pacientes de Ecuador. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas [Internet]. 2024 [citado 10 Abr 2024]; 43 Disponible en: <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3265>