

Edición genética: una valoración científica y bioética del primer caso en seres humanos en el Perú

Genetic editing: a scientific and bioethical assessment of the first case in humans in Peru

Solange R. Paredes-Moscosso*

Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Perú

Claudio N. Villegas-Llerena**

Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Perú

César Ñique Carbajal***

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo, Perú

<https://doi.org/10.36105/mye.2026v37n4.01>

* Doctora en investigación en cáncer. Centro de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú. Correo electrónico: solangerpm@gmail.com ORCID record: 

** Doctor en neurociencia molecular. Centro de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú. Correo electrónico: claudiov@gmail.com ORCID record: 

*** Maestro en Bioética. Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo, Perú. Correo electrónico: cnique@usat.edu.pe ORCID record: 

Recepción:
03.03.2026

Envío a dictamen:
05.03.2026

Aceptación:
26.03.2026

Publicación:
01.10.2026

CÓMO CITAR: Paredes-Moscosso, S. R., Villegas-Llerena, C. N., Ñique Carbajal, C. (2026). Edición genética: una valoración científica y bioética del primer caso en seres humanos en el Perú. *Medicina y ética*, vol. 37, núm. 4. DOI: <https://doi.org/10.36105/mye.2026v37n4.01>



Esta obra está protegida bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Resumen

La técnica de edición génica, CRISPR/Cas9, es una herramienta revolucionaria de alcance transdisciplinar, tiene el potencial de transformar diversos campos del saber. El presente trabajo aborda la definición de CRISPR/Cas9, explora, desde una perspectiva biomédica, sus ventajas y desventajas a nivel laboratorial y clínico, estudiando su aplicabilidad en investigación básica y traslacional, y en terapias ya aprobadas en humanos. En ese contexto, se comenta en este trabajo algunas experiencias en CRISPR reportadas en nuestro país, haciendo énfasis en la primera experiencia de investigación de CRISPR/Cas9 en células humanas. En dicho estudio, esta técnica se utilizó para el tratamiento con edición génica y terapia celular autóloga de una forma hereditaria de retinosis pigmentaria (RP), encontrada hasta ahora solo en pacientes de una comunidad peruana. Asimismo, se menciona el análisis ético sobre el uso y aplicación de la edición génica con esta herramienta, en base a los principios personalistas de la bioética.

Palabras clave: edición génica, CRISPR, terapia celular, salud, bioética personalista.

Contribución

La principal contribución de este artículo consiste en analizar la técnica de edición génica CRISPR/Cas9 no solo como un hito biotecnológico, sino como un desafío ético que requiere una respuesta jurídica y social en el contexto latinoamericano. El trabajo logra poner en diálogo los avances de la ingeniería genética, específicamente la experiencia de investigación en células humanas para el tratamiento de la retinosis pigmentaria en el Perú, con los pilares de la bioética personalista. A su vez, busca introducirse en el debate contemporáneo sobre los límites de la manipulación del genoma humano, proponiendo una distinción clara entre la terapia génica somática y la alteración de la línea germinal, siempre bajo la óptica del respeto a la dignidad ontológica y la integridad de la persona humana.

1. Introducción

Dentro de los varios sistemas de edición génica desarrollados hasta el momento, el mecanismo CRISPR/Cas (por sus siglas en inglés: *Clustered Regions of Interspaced Palindromic Repeats-Cas9*) ha supuesto una revolución en el campo de la biotecnología e ingeniería genética. Conocido coloquialmente como “tijeras moleculares”, por su habilidad de cortar regiones del genoma de forma específica, tiene la particularidad de ser modular. Esto la ha convertido en la herramienta de preferencia para la manipulación genética y genómica de distintos sistemas biológicos, desde microorganismos hasta seres humanos (1).

En la última década, ha habido significativos avances en la modificación de las herramientas CRISPR/Cas para mejorar su especificidad y seguridad. Las innovaciones han incluido el desarrollo de variantes de la nucleasa Cas, así como mejoras en el diseño de ARN guía para reducir los efectos fuera de objetivo (*off-target*), lo cual es esencial para el uso clínico más seguro de esta tecnología (2,3). El refinamiento de estas técnicas ha permitido aplicaciones en una variedad de campos, incluyendo la medicina y la biotecnología, facilitando investigaciones y tratamientos para enfermedades que anteriormente no tenían opciones de cura (4).

2. Planteamiento del problema

En efecto, la simplicidad de uso y versatilidad de la técnica han hecho de esta herramienta una gran alternativa para facilitar su aplicación en distintas industrias, no sólo en países del Norte Global, sino también en Latinoamérica, incluido el Perú. En este sentido, el presente trabajo aborda el concepto de edición génica con la herramienta CRISPR/Cas9 desde el lado científico y biomédico, analizando sus características particulares y aplicaciones terapéuticas. Se comenta además el primer caso de edición génica en células humanas con

finés investigativos reportado en el Perú; asimismo, se incluye un análisis bioético desde los principios personalistas. De esta forma, este trabajo pretende dar visibilidad a la investigación en edición génica que ya se da en nuestro medio y busca propiciar una legislación que tenga como objetivo el bienestar de la sociedad y que esté en concordancia con los avances tecnológicos para que sean usados con este fin.

3. ¿Qué es el sistema CRISPR/Cas?

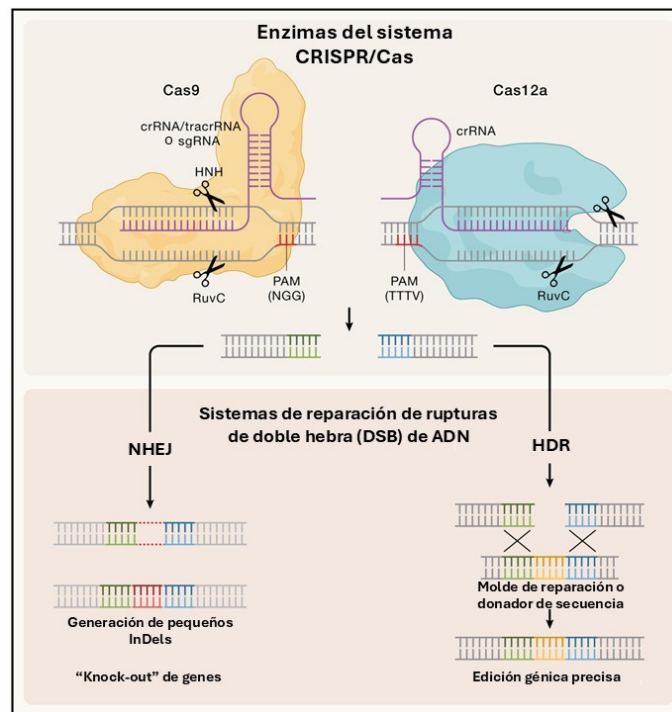
Actualmente, el sistema CRISPR/Cas es una herramienta fundamental para la ingeniería genética, permitiendo introducir variantes genéticas de manera específica en el ADN en múltiples contextos biológicos. El sistema CRISPR/Cas, en su forma más elemental, consta de la proteína nucleasa Cas9 y un único ARN guía (sgRNA) que reconoce y se dirige a una secuencia de ADN específica mediante el emparejamiento de bases ARN-ADN, como puede observarse en la Figura 1. Ya en la secuencia diana, el sistema CRISPR/Cas requiere la presencia de una secuencia PAM (del inglés, protospacer-adjacent motif) en la parte posterior del sitio de reconocimiento (posición downstream). La enzima Cas más utilizada (Cas9), derivada de *Streptococcus pyogenes*, reconoce una secuencia de ADN de 20 nucleótidos seguida inmediatamente por una secuencia PAM de 03 nucleótidos “NGG”, donde la N representa a 01 nucleótido de cualquier identidad [A/T/C/G], seguido de 02 nucleótidos de guanina (5).

El boom de la tecnología de edición genética CRISPR/Cas empezó en 1987 (6), cuando un grupo de microbiólogos investigaba la presencia de pequeños “arreglos” (arrays) misteriosos de “repeticiones palindrómicas cortas inter espaciadas regularmente” (CRISPR) en los genomas de ciertas bacterias. Durante el curso de su investigación, este grupo de investigadores comprobó que los arreglos no se encontraban “solos”, sino que se ubicaban en la proximidad de genes codificantes de proteínas, a quienes luego llamaron Cas (Cas: CRISPR-asociados). Lo que llamaba la atención sobre estas regiones

CRISPR es que algunas de las secuencias genéticas que la componían coincidían de manera casi perfecta con secuencias encontradas en genomas de virus.

Esta coincidencia hacía suponer que los arreglos eran una especie de sistema de inmunidad adaptativa utilizado por las bacterias para prevenir una infección viral. Eventualmente esta sospecha se comprobaría, demostrando que los sistemas CRISPR/Cas utilizan moléculas de ARN, transcritas a partir de su propia secuencia y con homología al ADN viral, para guiar a las proteínas Cas a cortar y destruir el ADN o ARN viral (7,4), ver Figura 1.

Figura 1. Sistema CRISPR/Cas, sus componentes y mecanismos necesarios para la edición génica



Fuente: elaboración propia.

La edición genómica basada en el sistema CRISPR usa enzimas nucleasas, como Cas9 y Cas12a, guiadas por cadenas cortas de ARN para el reconocimiento y la escisión del ADN diana en sitios específicos. La enzima Cas9, por ejemplo, utiliza un ARN guía dual compuesto por un ARN CRISPR (o crRNA) y un ARN CRISPR transactivador (tracrARN) o un ARN guía único (gARN), mientras que Cas12a necesita únicamente un crARN. El reconocimiento del ADN diana depende de la complementariedad con la secuencia del crRNA o gARN, así como de la presencia de un motivo adyacente al protoespaciador (PAM). Cas9 reconoce una secuencia PAM “NGG”, mientras que Cas12a requiere una secuencia PAM “TTTV”. Luego del reconocimiento de la secuencia diana, las nucleasas catalizan la escisión del ADN, generando una rotura de doble cadena (DSB) en el ADN. La reparación de la DSB mediante vías celulares de reparación del ADN conduce a la introducción de modificaciones genéticas (ediciones). Las vías de unión de extremos dan lugar a inserciones o eliminaciones cortas (InDels), mientras que la reparación dirigida por homología (HDR) utiliza un molde o donador de secuencia exógeno como plantilla de reparación del ADN cortado; lo que permite insertar modificaciones genéticas precisas cerca al sitio del DSB. Imagen modificada de (8).

Por otro lado, estudios de principios de la década de 1990, utilizando endonucleasas (enzimas capaces de cortar ADN) demostraron que una ruptura de doble hebra (double-strand breaks, DSB) en el ADN genómico de células de mamíferos estimulaba la reparación de la misma secuencia “rota” a través del sistema de reparación por recombinación homóloga (homology-directed repair, HDR) (9). Este enfoque estableció el concepto de edición del genoma utilizando enzimas generadoras de DSB. El resultado fue el desarrollo de todo tipo de nucleasas modificadas, como lo son las nucleasas con dedos de zinc (Zinc-finger nucleases, ZFN), desarrolladas a principios de la década del 2000, y más tarde de nucleasas efectoras similares a activadores de la transcripción (transcription activator-like effector nucleases, TALEN) en 2010-2011. Estas 02 nucleasas sentaron las bases para la edición del genoma, pero su laborioso diseño

y manufactura limitaron su uso a laboratorios muy especializados y con grandes recursos económicos.

El descubrimiento y desarrollo de nucleasas asociadas a CRISPR, proteínas Cas, marcó un cambio revolucionario debido a su simplicidad de programación (dependiente de la secuencia del sgARN), especificidad y versatilidad (10). En consecuencia, el sistema CRISPR/Cas ha sido adaptado de múltiples maneras, permitiendo cortar moléculas de ADN y ARN en cualquier tipo de célula, para que éstas puedan ser alteradas aprovechando los sistemas de reparación propios de la célula; esto con una facilidad sin precedentes. En la última década, CRISPR/Cas ha democratizado el acceso a herramientas de edición génica, convirtiéndose en una herramienta indispensable para el avance de la investigación fundamental y aplicada en animales, plantas y humanos (11).

4. Características del CRISPR/Cas

El sistema CRISPR/Cas en su concepción más básica presenta una serie de ventajas frente a otros sistemas y enfoques para la edición genética. Paradójicamente, algunas de las áreas en las que CRISPR/Cas presenta ventajas frente a otros sistemas de edición génica, son áreas que también presentan oportunidades de mejora para alcanzar un sistema de edición génica ideal.

a) Especificidad y programabilidad: la especificidad de reconocimiento y corte de la secuencia diana (ya sea ADN o ARN) depende de la complementariedad de bases entre la secuencia del complejo crRNA-tracrRNA o el sgARN y la misma secuencia diana (además de la presencia del motivo PAM). La secuencia de reconocimiento suele tener una longitud de 20 nucleótidos en promedio. Debido a esta complementariedad de bases ARN-ADN para el reconocimiento del ADN diana, la misma proteína Cas9, puede ser utilizada para reconocer una amplia gama de secuencias de ADN simplemente

intercambiando el sgARN, lo que contribuye a una gran facilidad para su programabilidad.

Sin embargo, la especificidad del sistema CRISPR/Cas ha sido un tema de preocupación desde su introducción en el campo de la edición génica. Si bien el sistema CRISPR/Cas basa su alta especificidad en el “emparejamiento” de las secuencias de ARN-ADN, es bien sabido que esta complementariedad no siempre es perfecta, siendo tolerante a que algunas bases no se “emparejen” de manera correcta. Esto permite que el sgRNA se una con secuencias “no diana”, produciendo DSB en secuencias distintas a las originalmente deseadas, esto se conoce como efectos “off-target”.

A pesar de estos emparejamientos erróneos de Cas9, la mayoría de ellos no dan lugar a cortes en el ADN “no diana” debido a puntos de control intrínsecos en el mecanismo de unión y escisión de la Cas9 (12,13,14,15). Aunque esto puede ser aceptable para varias aplicaciones de desactivación inducida por CRISPR (incluidas en aplicaciones clínicas), muchas aplicaciones terapéuticas requieren niveles de precisión mucho más altos y no pueden permitirse la introducción de ediciones genéticas no deseadas.

Para reducir los efectos “off-target” de las nucleasas CRISPR/Cas, se han utilizado una combinación de diseño racional y selección para desarrollar variantes de Cas de alta fidelidad, como SpCas9-HF1 (16), evoCas9 (17) y HiFiCas9 (18) entre otras. Aumentar la precisión de la edición génica usando CRISPR/Cas también requiere una mejor comprensión de los procesos de reparación del ADN, algo que no depende de la mejora del sistema o sus componentes.

b) Disponibilidad de sitios diana/PAM: la capacidad del sistema CRISPR/Cas para reconocer sitios diana, depende no solo de la secuencia específica del sgRNA, sino también de la presencia de un motivo PAM posicionado inmediatamente a continuación de la secuencia diana. Aunque la secuencia PAM “NGG” de la SpCas9, la enzima Cas más utilizada, teóricamente permite encontrar una secuencia diana cada 8 nucleótidos en promedio, SpCas9 no puede ser fácilmente utilizada en algunas regiones genómicas con un alto contenido de A/T (adeninas y/o timinas) que evita la formación de la

secuencia PAM necesaria para su funcionamiento. Para sortear esta limitación, se han identificado variantes naturales de Cas9 en otros microorganismos, con especificidades PAM alternativas para la edición del genoma. Sin embargo, muchas de ellas tienen especificidades de PAM más restrictivas (19,20). Con el propósito de superar la limitación impuesta por la presencia del motivo PAM, en los últimos años se han desarrollado una serie de variantes artificiales de Cas9 con especificidades de PAM modificadas o “relajadas”. Aunque estas modificaciones amplían el rango de motivos PAM que se pueden seleccionar, la utilización de PAM “relajados” se asocia con una fuerte disminución en la especificidad (19), lo que aumenta la probabilidad de “off-targets” y una reducción en la eficiencia de la edición en el objetivo.

5. Control de los sistemas de reparación post-corte con CRISPR/Cas

Como se ha mencionado, la función principal del sistema CRISPR/Cas durante la edición génica es la de producir cortes en la secuencia diana de ADN (o ARN). La introducción o delección de información genética está guiada por los diferentes sistemas de reparación del ADN de la célula objetivo. De dichos sistemas, 2 han sido los más explotados por los usuarios del sistema CRISPR/Cas para lograr sus objetivos de edición génica: i) el sistema de Unión de Extremos No-Homólogos (NHEJ, por sus siglas en inglés) y ii) el sistema de Reparación Dirigida por Homología (HDR, por sus siglas en inglés).

El NHEJ es el sistema de reparación por defecto y el más frecuentemente usado por la célula una vez detectado un corte en el ADN. Su principal desventaja es que este sistema suele producir inserciones o delecciones aleatorias en la secuencia diana (21,22). El sistema HDR, por otro lado, es mucho menos utilizado por la célula dado que necesita de la presencia de una cadena molde para la reparación del corte del ADN. Esta cadena molde, que puede ser sintetizada y suministrada por los investigadores a la célula, permite la

introducción/delección de secuencias de manera específica (23). Cabe señalar que el uso de HDR se limita generalmente a células en división, y suele producir resultados mixtos (doble edición) debido a la edición simultánea resultante de las diferentes vías de reparación (24,25). Sin embargo, se conoce que la generación de DSB dentro del genoma de una célula utilizando nucleasas específicas, incluyendo Cas, mejora significativamente la tasa de HDR en células de mamíferos (26).

Como resultado, muchos estudios buscan estimular la tasa de reparación HDR y así aumentar la eficiencia de introducción de secuencias específicas (27). Para salvar estas limitaciones, se ha demostrado que el diseño (28,29) y elección de la cadena molde de reparación y su entrega (delivery) afectan en gran medida la eficiencia de HDR (27,30). Además, se ha intentado manipular el ciclo celular (31,25,32,33) para ralentizar temporalmente la Fase S o aumentar la proporción de células en la fase G2/M, favoreciendo el sistema HDR. Otros métodos se centran en favorecer la elección del sistema HDR sobre el NHEJ en la célula objetivo mediante la supresión de factores clave de NHEJ (34).

A pesar de estas mejoras, los posibles efectos genotóxicos de cortes DSB inespecíficos han motivado el desarrollo de tecnologías de edición que no dependen de DSB, obviando la necesidad del uso de HDR. Estos enfoques incluyen la edición de bases por “prime editing” y las recombinasas y transposasas basadas en CRISPR (8).

6. Entrega (Delivery)

Como se ha visto, el sistema CRISPR/Cas nos presenta con una posibilidad sin precedentes para alterar la información genética de una célula de manera sencilla y específica, sin embargo, para que esto se produzca, los componentes del sistema CRISPR/Cas (llámense nucleasas Cas y sgRNA) deben llegar a la célula diana de manera selectiva, ingresar y atravesar su citoplasma para finalmente cumplir

su función en el núcleo celular. Para facilitar este tránsito, se vienen desarrollando diferentes vectores capaces de transportar a los componentes del sistema CRISPR/Cas hasta el núcleo de la célula. Además de este recorrido, los componentes del sistema CRISPR/Cas tendrían que sortear un obstáculo propio del organismo que se quiere modificar, siendo que los componentes del sistema CRISPR/Cas pueden causar la activación del sistema inmune.

La entrega dirigida y específica de los componentes del sistema CRISPR/Cas9 es un factor limitante para la mayoría de las aplicaciones de edición de genes *in vivo* y *ex vivo*.

Por ejemplo, en humanos sin exposición conocida al sistema CRISPR/Cas, se han identificado anticuerpos anti-Cas9 y células T reactivas preexistentes (35,36). Esta presencia de respuesta inmune preexistente al sistema CRISPR/Cas se ha asociado con resultados terapéuticos pobres en modelos de enfermedades en caninos y primates no humanos (37). Para contrarrestar estos problemas se han propuesto diferentes estrategias, desde el diseño de Cas9 modificadas para eliminar los epítomos inmunogénicos de su estructura, así como modulación de respuestas inmunes, entre otras (36,38,39).

7. Aplicaciones terapéuticas de CRISPR/Cas

La tecnología de edición de genes CRISPR/Cas tiene el potencial de tratar enfermedades corrigiendo permanentemente variantes genéticas o alterando genes que causan enfermedades con gran precisión y eficiencia. Desde la primera demostración de edición de genes basada en CRISPR/Cas, el campo ha evolucionado velozmente. Los editores de genoma dependientes de DSB de primera generación, como Cas9 y Cas12a, se han vuelto más versátiles y precisos, con una reducción de sus posibles efectos no deseados. Sin embargo, persisten preocupaciones de seguridad debido a los efectos “off-target” y las posibles consecuencias genotóxicas de los DSB en la secuencia diana (40,41), incluida la inducción de una respuesta de daño del ADN mediada por p53 y el arresto del ciclo celular (42).

Durante la última década, el sistema CRISPR/Cas ha permitido el desarrollo de una multitud de enfoques terapéuticos para enfermedades genéticas, varios de los cuales han pasado de estudios pre-clínicos a ensayos clínicos en humanos. Esto incluye estrategias de modificación génica in vivo y ex vivo. Los enfoques de modificación terapéutica in vivo implican la entrega de componentes de edición genética a los tejidos afectados dentro del cuerpo humano (43). Por el contrario, los enfoques ex vivo implican recolectar células de un paciente, editarlas en un laboratorio, seguido por el trasplante de células editadas nuevamente al mismo paciente (trasplante autólogo) u a otro distinto (trasplante alogénico). Estos enfoques son principalmente usados en la inmunoterapia contra el cáncer (44).

8. Aplicaciones terapéuticas ex vivo

La edición génica ex vivo del genoma de células derivadas de pacientes, seguida de su expansión y retrasplante, es una estrategia poderosa para tratar trastornos genéticos relacionados con células sanguíneas. Esto lo demuestran los tratamientos para hemoglobinopatías como la anemia de células falciformes (SCD) y la β -talasemia dependiente de transfusiones (TDT), ahora aprobados en Europa, el Reino Unido y los Estados Unidos. En lugar de corregir mutaciones específicas, se ha usado CRISPR para reactivar la γ -globina fetal (HbG), modificando la secuencia del gen BCL11A con CRISPR/Cas (45).

Las terapias con células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T) se basa en la generación de células T que reconocen y atacan marcadores de cáncer como CD19, BCMA, entre otros. El trasplante de células CAR-T a un paciente afectado produce la destrucción de las neoplasias (44). En las terapias con células CAR-T autólogas actualmente aprobadas, el gen que codifica CAR se inserta aleatoriamente en el genoma mediante transducción con un vector viral. Si se utilizara el sistema CRISPR/Cas, esta inserción podría ser dirigida a un sitio diana específico. Las células CAR-T alogénicas

editadas con CRISPR podrían mejorar la funcionalidad, agilizar la producción y garantizar un mejor control de calidad en comparación con las terapias actuales (46).

Actualmente, varios ensayos clínicos investigan terapias con células CAR-T editadas con CRISPR/Cas para tratar distintos cánceres de la sangre. Un caso destacado es el uso de células CAR-T con edición CRISPR/Cas multiplexada (donde se modifican varias secuencias diana a la vez) para tratar la leucemia de células T recurrente en pacientes infantiles, una condición previamente incurable (47).

Una nueva estrategia para terapias genómicas combina la edición génica usando CRISPR ex vivo con tecnologías iPSC (células madre pluripotenciales inducidas). Este enfoque ha sido desarrollado recientemente con el propósito de controlar la diabetes tipo 1. En él, se planea modificar el genoma de las iPSC, diferenciarlas en células del endodermo pancreático y encapsularlas en dispositivos biocompatibles para su implantación en pacientes a fin de permitir la producción de insulina in vivo, lo cual tendría el potencial de controlar la diabetes tipo 1 de forma fisiológica (48).

9. Aplicaciones terapéuticas in vivo

En cuanto a la edición terapéutica in vivo, ésta requiere la administración directa de los componentes del sistema CRISPR/Cas al paciente afectado, específicamente a sus órganos o tejidos afectados, mediante la administración localizada o sistémica de sus componentes. El sistema CRISPR/Cas está siendo actualmente utilizado en la clínica para desarrollar tratamientos (probablemente curativos) para enfermedades tan diversas como las hemoglobinopatías, infecciones bacterianas crónicas, enfermedad inflamatoria, cáncer, enfermedad cardiovascular, SIDA/VIH, diabetes, autoinmunidad entre otros (8,11).

Un gran número de estudios preclínicos (en modelos animales) han demostrado la validez de este enfoque terapéutico en una gran variedad de patologías con etiología genética, incluyendo; la Distrofia

Muscular de Duchenne, Amaurosis congénita de Leber, amiloidosis cardíaca por transtiretina e hipercolesterolemia familiar (8). En la hipercolesterolemia familiar y usando primates no humanos como modelo preclínico, se ha logrado disminuir significativamente los niveles colesterol LDL sérico sin afectar los tejidos de la línea germinal, sentando las bases para los ensayos clínicos de Fase 1 (49).

A finales de 2023, se aprobó por primera vez un medicamento basado en CRISPR: Casgevy, un tratamiento curativo para la anemia de células falciformes (SCD) y la betatalasemia dependiente de transfusiones (TDT). Casgevy, fue desarrollado conjuntamente por Vertex Pharmaceuticals y CRISPR Therapeutics, y se estima que su costo sería de 2 millones de dólares por paciente. Pero este no es el único tratamiento curativo que se está trabajando, Editas Medicine también está realizando ensayos de Fase 1/2 también para SCD y TDT utilizando el sistema CRISPR con la proteína Cas12a (proteína similar a la ya conocida Cas9). Este es el primer uso clínico de Cas12. Los resultados obtenidos por este ensayo hasta el momento demuestran una gran eficacia (50). Por otro lado, Beam Therapeutics también inició ensayos clínicos fase 1/2 para las mismas enfermedades, usando otra variante del sistema CRISPR/Cas, la edición de bases.

10. Presente y futuro de CRISPR/Cas

Las tecnologías CRISPR de primera generación, principalmente basadas en la reparación endógena o en roturas DSB específicas de sitio, han sido complementadas por tecnologías de segunda generación, como la edición de bases y la edición primaria, que permiten la modificación directa del ADN objetivo sin la generación de DSB. Estas se consideran generalmente más seguras y ofrecen resultados de edición más predecibles. Las tecnologías emergentes de tercera generación CRISPR están siendo desarrolladas para abordar dos necesidades principales aún no resueltas en el campo: lograr la inserción precisa de grandes fragmentos (del tamaño de genes) y la

regulación genética sin edición del genoma, mediante la ingeniería del epigenoma (51).

El avance continuo de estas y otras tecnologías está habilitado por dos enfoques: por un lado, la búsqueda en el metagenoma para descubrir nuevos sistemas moleculares, y por otro, la biología sintética y la ingeniería molecular asistida por IA (52,53).

Áreas que requieren mayor investigación incluyen el desarrollo de vectores de entrega más específicos y menos inmunogénicos, la reducción de efectos fuera del objetivo y un mayor control sobre los resultados de la edición, mejorando tanto la precisión como la exactitud de la edición genómica (52,53,54).

De cara al futuro, es probable que los sistemas guiados por ácidos nucleicos sigan siendo centrales en la edición del genoma debido a su sencilla programabilidad y adaptabilidad, en comparación con las tecnologías basadas exclusivamente en proteínas. Sin embargo, su modo de aplicación podría evolucionar, con posibles cambios hacia enfoques de edición más transitorios para minimizar el riesgo de cambios genéticos no deseados a largo plazo o entregas transitorias para reducir la interrupción del genoma y la respuesta inmune (54).

Se prevé que los principales desafíos se encontrarán en los métodos de entrega, especialmente para órganos diferentes a la sangre y el hígado, y para ciertos tipos de células *ex vivo*. Los avances en los métodos de entrega *in vivo*, como los observados en el desarrollo de vacunas de ARNm, probablemente catalizarán significativamente la aplicación de las tecnologías CRISPR. Además, incluso con los tejidos y células que ya son editables usando métodos disponibles, se necesitará más investigación básica para identificar objetivos de edición seguros (54).

El rango de enfermedades que podrían tratarse mediante CRISPR se expandirá con el desarrollo de nuevos vectores de entrega y la caracterización de variantes causantes de enfermedades y sus estrategias correctivas. Se espera que los avances fuera del campo de CRISPR impulsen las tecnologías en nuevas direcciones, mejorando sus capacidades. En este contexto, el auge de los métodos basados

en IA permitirá modelar con precisión los complejos paisajes de edición genómica, prediciendo los resultados dentro y fuera del objetivo, y diseñando editores genómicos más capaces, acelerando así la implementación de enfoques terapéuticos seguros (52,55).

11. Caso en Perú: CRISPR/Cas, terapia génica y retinosis pigmentaria

Según la bibliografía, el primer caso de edición génica de muestras humanas en el Perú se dio en el contexto de un proyecto de investigación para el tratamiento con terapia celular autóloga de una forma hereditaria de retinosis pigmentaria (RP) detectada en la comunidad de Parán, en la sierra de Lima, Perú. La variante responsable de esta enfermedad fue identificada por científicos peruanos del Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular (CIGBM) de la Universidad de San Martín de Porres desde el 2012 y reportada en el 2018.

El estudio llamado “Plataforma molecular para terapia génica correctiva en retinosis pigmentaria, utilizando trasplante autólogo de células madre pluripotenciales inducidas (iPSC) genéticamente modificadas con la tecnología CRISPR/Cas9: Caso multifamiliar de Parán” fue financiado en el 2019 por el Concytec, Banco Mundial y la Universidad de San Martín de Porres (56). Dicho proyecto tuvo como objetivo establecer por primera vez en el país una plataforma molecular para utilizar células madre pluripotentes inducidas (iPSC), genéticamente modificadas, para terapia génica autóloga en pacientes con RP.

La retinosis pigmentaria es un trastorno genético que provoca pérdida progresiva de la visión (57). El estudio, desarrollado por Villegas-Llerena C., se enfocó en corregir la “mutación de Parán”, una delección de 11 pares de bases en el exón 6 del gen RPGR (NM_001034853.2(RPGR): c.578_588del (p. Ser193fs), que tiene como consecuencia molecular el cambio de marco de lectura (frameshift) a nivel de los nucleótidos. Por lo que, el proyecto se centró

en la modificación genómica de dicha variante en células iPSC derivadas de pacientes afectados por este caso multifamiliar.

Para lograrlo, se trabajó en la estandarización de protocolos para convertir fibroblastos de la piel en células iPSC. Estas células madre inducidas tienen la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo celular y de dividirse indefinidamente, lo que las convierte en una fuente renovable y confiable para terapias de reemplazo autólogo en enfermedades donde se destruyen tipos celulares específicos, como es el caso de la RP. Además, se desarrollaron protocolos para diferenciar las células iPSC en células y organoides (cultivos celulares tridimensionales) de retina.

El proyecto también contempló la estandarización de protocolos de edición génica en células iPSC utilizando la técnica CRISPR/Cas9, pues es una herramienta que permite la edición precisa y programable del genoma (58). Los protocolos estandarizados se emplearon secuencialmente, de tal forma que se obtuvieron células iPSC a partir de biopsias de piel de pacientes voluntarios, se corrigió la variante genética responsable de la RP y se diferenciaron las células iPSC corregidas en células y organoides de retina. Las líneas iPSC editadas fueron caracterizadas y crio-preservadas para su posterior uso (manuscrito en preparación).

El estudio de Villegas-Llerena concluyó en el 2022 y es, hasta donde conocemos, el primer proyecto en Perú que ha contemplado la edición génica por CRISPR/Cas9 de células humanas para fines de investigación en terapia génica y celular. Otros proyectos han incluido el uso de la tecnología CRISPR para diagnóstico rápido y preciso de enfermedades infecciosas (59,60) y para fines de agronomía de precisión, entre ellos, la reducción de la absorción de cadmio en el cacao (61). Recientemente, se ha utilizado la edición génica por CRISPR/Cas9 en el Perú para modelar, en líneas celulares, variantes genéticas de significado incierto (VUS, variants of uncertain significance) encontradas en pacientes peruanas con cáncer de mama hereditario (62). En esta última investigación, el objetivo era generar modelos celulares que faciliten el estudio de las variantes genéticas

tipo VUS, que suelen abundar en cohortes poco estudiadas, como lo es la población peruana.

Es evidente que el uso de CRISPR en edición génica es una realidad en el Perú y en otros países de Latinoamérica (63); por lo que, se anticipa que su presencia en distintos ámbitos del conocimiento irá en aumento. En este sentido, es importante enfatizar la importancia de esta técnica y su regulación en nuestra región. Como se abordará en la siguiente sección, consideramos importante discernir entre edición génica a nivel germinal vs edición génica a nivel somático. Los hacedores de políticas públicas y el público no especializado deben estar conscientes, además, que edición génica no es sinónimo de mejoramiento genético, sino que la tecnología CRISPR puede ser utilizada, en el sector salud, para diagnóstico de enfermedades, terapia génica y mejor entendimiento de la etiología de distintas enfermedades, con fines de investigación y medicina clínica.

A pesar de que no existe aún una regulación nacional específica para el uso de edición génica en el Perú, las investigaciones peruanas citadas líneas arriba han sido posibles luego de su evaluación y aprobación por Comités de Ética especializados en medicina humana. Creemos importante visibilizar la existencia de estos proyectos y contribuir a fomentar la conversación que se debe tener en el país para lograr una regulación que contemple la promoción de proyectos de investigación bien formulados a nivel básico, traslacional y clínico, que respondan a las necesidades locales de salud.

12. Consideraciones éticas

La ética aplicada en el contexto de la vida y de las ciencias de la salud se conoce como bioética, disciplina cuyo objeto de estudio, es la conducta humana sobre la intervención del ser humano analizada a la luz de principios y valores morales, con lo cual podríamos calificar la bondad o maldad del actuar humano, el mismo que se determina a través de un sistema de valores como referencia. Este es un análisis

que aplica a los siguientes escenarios o circunstancias: a) todo lo relativo a las cuestiones de valor que se plantean a los profesionales de la salud en su praxis profesional; b) la investigación biomédica y a la del comportamiento independientemente de que tengan o no implicaciones terapéuticas; c) cuestiones sociales relacionadas con la salud pública que van desde la salud en el mundo al control de los nacimientos y d) la vida animal y vegetal; para lo cual considera los principios éticos sobre el respeto a la vida humana, que pertenece al orden de la objetividad y debe servir de finalidad a la actuación ética (64).

Con respecto a la investigación biomédica, para la bioética, el análisis de los procedimientos o técnicas genéticas que proponen dirigirse hacia un mejoramiento de la persona, como es el caso de CRISPR/Cas9, tecnología genética que, si bien promete mejorar la calidad de vida humana, al mismo tiempo despierta interrogantes éticos respecto a sus riesgos y beneficios; sin embargo la máxima de su valoración será siempre considerar que todos los medios o herramientas que hoy en día son posibles de aplicar respeten la integridad de lo que representa la persona, entendida como una unidad psicosomática-espiritual, donde el uso de la tecnología se encuentre siempre al servicio del ser humano es decir recordar que la técnica es un medio para alcanzar siempre un fin, la cual se lleve a cabo de manera controlada, y que a la vez reporte en beneficio para la humanidad. Se debe analizar el desarrollo tecnológico, no solo desde una perspectiva terapéutica sino en la trascendencia que tendría para la convivencia y humanización de la salud y de la vida, el uso ético de la tecnociencia debería tomar en cuenta la dignidad ontológica de la persona, valor supremo que se materializa en la existencia de nuestro soma o cuerpo, el cual nos permite estar y ser en este mundo como personas, por ello nuestra corporeidad es digna tan igual como las otras dimensiones humanas: el intelecto, la libertad, palabra o cualquier diferencia específica que se invoque para cualificar lo humano. En conclusión, si los procedimientos y/o técnicas genéticas exponen al cuerpo a un riesgo desproporcionado o daño, esto sería atentar contra la dignidad de la persona y por ello proponer la

prudencia en la experimentación exige no solo una evaluación de carácter cuantitativo sino cualitativo (65, 66).

Para el método CRISPR/Cas9, se ha visto en ensayos aplicados a células somáticas humanas que aún existen inconvenientes técnicos con relación a los mecanismos de reparación debido a los efectos off target, entre otros; sin embargo, cada vez se mejora la confiabilidad de la técnica existiendo versiones más seguras y óptimas (67,68). Para el caso de tratar enfermedades oncológicas o inmunitarias por ejemplo se han estudiado sistemas nanotecnológicos no virales, los cuales ofrecen mejoras significativas en la estabilidad, especificidad y eficacia de la entrega del sistema CRISPR/Cas9, la integración de la nanotecnología con la edición génica mediante CRISPR/Cas9 representa una estrategia emergente prometedora para el tratamiento personalizado de enfermedades oncológicas e inmunológicas (69,70). Además de las cuestiones técnicas para su implementación clínica, se requiere de avances en la bioseguridad, validación clínica robustas y marcos regulatorios sólidos que guíen su uso responsable. Al evaluar todos estos aspectos en la investigación con CRISPR/ Cas9, considerando lo técnico y lo ético, se puede pasar a realizar ensayos clínicos en personas; muestra de ello recientemente la FDA aprobó el primer medicamento utilizando esta técnica para el tratamiento de la anemia falciforme. En consecuencia, el uso y la aplicación de esta técnica puede ayudar a entender, prevenir y curar muchos trastornos genéticos específicos y de forma paralela, abordando las cuestiones éticas y de seguridad en la edición genómica. Por ello es importante evaluar estos procedimientos respetando la dignidad e integridad del ser humano, de tal forma que el uso de la técnica no “cosifique” ni “instrumentalice” a la persona (71,72).

El otro escenario donde se discute la valoración ética de la técnica de CRISPR/Cas9, es su aplicación terapéutica en células germinales, que, a diferencia de lo que se espera en células somáticas, tendría impacto a nivel del individuo y de su descendencia, por ello es necesario establecer regulaciones adecuadas para garantizar un uso responsable de CRISPR, preocupa que esta técnica se utilice para “mejorar” genéticamente al individuo, promoviendo la selección del

más apto para la supervivencia humana, una pendiente a la eugenesia de personas que nos propone el sociobiologismo y el transhumanismo como corrientes filosóficas que interpretan los valores humanos en clave biológica, descartando que la singularidad y pluralidad del individuo es donde radica también su dignidad ontológica. 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 (72).

En cuanto al tema regulatorio, La Comisión Internacional sobre el Uso Clínico de la Edición del Genoma de la Línea Germinal Humana (ICCUHGGE, por sus siglas en inglés) afirma que, en la actualidad, en las investigaciones preclínicas en embriones, sólo se analiza la posibilidad de llevar a cabo ediciones en cigotos; por un lado, introduciendo las enzimas en el ovocito al mismo tiempo que los espermatozoides y, por el otro, introduciendo las enzimas en los pronúcleos o citoplasma del ovocito fecundado. Aunque se han hecho avances en el sistema de CRISPR al realizar la edición, todavía no se han implementado mecanismos de reparación suficientemente seguros ya que esto depende de consideraciones técnicas como “las características celulares, incluida la etapa del ciclo celular, los componentes de la respuesta al daño del ADN presentes, otros factores que influyen en la reparación del ADN y, potencialmente, los antecedentes genéticos”, así como consideraciones éticas, como el balance de riesgos y beneficios potenciales en cada situación particular. Así, la ICCUGHHE señala que uno de los riesgos más importantes del uso actual de CRISPR son las modificaciones off target que podrían causar otra enfermedad (73).

A nivel internacional existen reglamentaciones basadas en principios éticos que prohíben la edición génica a nivel germinal, como las del NIH (USA) y la de la OMS. En esta línea de reglamentaciones, la Convención de Oviedo en su artículo 13 nos refiere que se permite la edición del genoma solo con fines de prevención, diagnóstico de enfermedades y para terapias, pero se prohíbe la edición genética en células germinales porque no se tiene el control y no se prevé lo que pueda pasar con las siguientes generaciones, por ello sería importante

mantener la prohibición de no aplicar esta técnica en la línea germinal humana y también que la investigación en células somáticas no se realice a costa de la vida de embriones. En este punto, podemos mencionar el caso del investigador chino, He Jiankui, quien aplicó CRISPR/Cas9 en embriones humanos sin tomar las debidas precauciones de seguridad correspondientes a esta técnica, ni haberse evaluado el riesgo y beneficio para con los sujetos de investigación, y por quebrar normas legales y éticas, que lo llevaron a no contar con una aprobación por un comité de ética institucional y no tener el respaldo del instituto de salud de su país. Esto conlleva grandes repercusiones ante la sociedad y el mundo científico, ya que dada la poca transparencia, monitoreo y regulación del proceso será muy difícil conocer los resultados de lo que pase con las gemelas en el futuro (74).

En conclusión, cuando se aplica CRISPR/cas9 en células somáticas, la modificación no afectaría a la descendencia; plantearía en todo caso dilemas éticos relacionados al bienestar del individuo que participa con los posibles riesgos para su salud futura. Para el caso de las células germinales, los efectos de la modificación genética podrían impactar en las futuras generaciones, lo cual conllevaría un análisis ético mucho más exhaustivo acorde con los principios éticos personalistas. Asimismo, el uso de embriones, como un “medio” para la modificación genética genera un debate ético sobre los derechos del embrión ya que, desde el aspecto biológico se trata de seres humanos y desde la perspectiva personalista de la bioética todo embrión es persona y sujeto de derechos, en este sentido, surge la cuestión de la limitación del uso de la técnica: ¿debería permitirse solo para evitar enfermedades graves o también para “mejorar” características físicas o cognitivas que no son necesariamente patológicas? El propósito de la terapia radica en que, si bien la modificación genética para tratar o prevenir enfermedades representa un avance importante en medicina, la mejora humana mediante la modificación de características no patológicas puede resultar en riesgos sociales y psicológicos. Por último, la accesibilidad y justicia argumenta que, a pesar de que, las terapias genéticas tienen el potencial de mejorar la

calidad de vida y eliminar enfermedades genéticas, los costos asociados con estas tecnologías son elevados, lo que plantea serias preocupaciones sobre la desigualdad en su acceso (75). Aunque CRISPR/Cas9 representa un avance significativo en la medicina, trae consigo complejos dilemas éticos que deben ser considerados y, si bien la técnica tiene el potencial de revolucionar el tratamiento de enfermedades genéticas, su uso debe ser cuidadosamente regulado y considerado desde una perspectiva ética, para evitar abusos, desigualdades y posibles consecuencias no deseadas para la convivencia humana.

Conclusiones

Como se ha visto en este trabajo, CRISPR es una herramienta de edición génica que ha revolucionado el campo de la ciencia por su precisión, versatilidad y simplicidad, comparada con técnicas anteriores. Su importancia radica en que permite modificar el ADN de forma específica y eficiente, abriendo puertas para el tratamiento de enfermedades genéticas, avances en biotecnología y la investigación básica.

La tecnología CRISPR/Cas permite “cortar” el ADN en sitios específicos del genoma mediante un ARN guía (gRNA) que dirige a la enzima Cas hacia la secuencia de interés. Una vez que el ADN es cortado, las células reparan el daño, lo que puede ser aprovechado para insertar, eliminar o corregir secuencias genéticas a voluntad. Esto resulta de suma utilidad para el estudio de enfermedades genéticas, ya que permite generar modelos de estudio *in vitro* e *in vivo* más rápido y a menor costo. También tiene aplicaciones potenciales en terapias génicas *in vivo* y *ex vivo* para corregir mutaciones que causan enfermedades como la fibrosis quística, la anemia falciforme o ciertos tipos de cáncer. De hecho, la primera terapia basada en CRISPR para anemia falciforme ya ha sido aprobada por la FDA a finales del 2023 y, actualmente, hay varios ensayos clínicos en desarrollo.

Desde el lado científico, CRISPR ha democratizado la edición génica, permitiendo a laboratorios de todo el mundo generar y estudiar

modificaciones genéticas, de acuerdo con las necesidades locales. Esta realidad también se da en Latinoamérica y, específicamente el Perú, donde ya se vienen realizando distintos proyectos de investigación tanto en el sector agrícola como en el sector salud. Los estudios abarcan desde el diagnóstico de enfermedades, modelamiento de variantes genéticas de significado clínico incierto hasta la investigación en terapia celular. Algunos ejemplos han sido citados a lo largo de este trabajo.

En el aspecto bioético, hay que considerar que esta herramienta no es infalible pues su aplicación puede generar cambios off target capaces de producir efectos indeseables en el genoma humano. Frente a este desafío, se viene trabajando intensamente en distintos abordajes para hacer de CRISPR una técnica más segura (68). Por otro lado, su uso en células germinales se considera inaceptable pues la modificación genética se daría sin el consentimiento informado de la persona a ser modificada. Más aún, este cambio afectaría a la descendencia de ese individuo y, en general, al pool genético de la humanidad. Otro de los riesgos es su uso en la potenciación de ciertas cualidades que pueden tener características eugenésicas. En ese contexto, existe ya una moratoria del uso de CRISPR en células germinales, y ha sido Doudna, una de las descubridoras de CRISPR, una de las voces que ha liderado este llamado (76).

En cuanto a su uso en células somáticas, se considera que su aplicación es aceptable cuando se da en el contexto de estudio de enfermedades y para fines terapéuticos. Su uso toma mayor relevancia si se da en la investigación de países de bajos y medianos recursos, pues facilita el estudio de temas relevantes a sus realidades locales. Para su regulación, es necesario apoyar a los comités de ética en investigación para que estén en la capacidad de evaluar proyectos especializados desde el lado técnico y bioético. Asimismo, es recomendable que el ente rector en la ciencia del país, en el caso del Perú, Concytec, lleve un registro de los proyectos relacionados con la modificación genética tanto en el sector salud como en otros sectores económicos.

En resumen, CRISPR representa una herramienta crucial para avanzar en la medicina, la biología y la biotecnología, con un enorme

potencial para resolver problemas globales y locales en distintos ámbitos. En ese sentido, creemos importante darles visibilidad a proyectos concernientes a este tema realizados en Perú y brindar una perspectiva del tema desde el lado científico y bioético que puede servir de inspiración a los hacedores de políticas públicas y tomadores de decisiones que legislen y regulen su uso en el país.

Conflicto de interés

Los autores del artículo declaran no tener ningún conflicto de intereses en su realización. SRPM y CNVLL han participado como investigadores en el primer caso de CRISPR/Cas y su potencial uso en terapia génica en el Perú, citado en este trabajo.

Referencias

1. Wang JY, Doudna JA. CRISPR technology: A decade of genome editing is only the beginning. *Science*. 2023; 379(6629):eadd8643. <https://doi.org/10.1126/science.add8643>
2. Liu Q, He D, Xie L. Prediction of off-target specificity and cell-specific fitness of CRISPR-Cas system using attention boosted deep learning and network-based gene feature. *PLoS Comput Biol*. 2019; 15(10):e1007480. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007480>
3. Wu Q, Cui L, Liu Y, Li R, Dai M, Xia Z. CRISPR-Cas systems target endogenous genes to impact bacterial physiology and alter mammalian immune responses. *Mol Biomed*. 2022; 3(1):22. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00085-w>
4. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007; 315(5819):1709-12. <https://doi.org/10.1126/science.1125829>
5. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012; 337(6096):816-21. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
6. Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, Amemura M, Nakata A. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol*. 1987; 169(12):5429-33. <https://doi.org/10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987>
7. Brouns SJJ, Jore MM, Lundgren M, Westra ER, Slijkhuis RJH, Snijders APL. Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science*. 2008; 321(5891):960-4. <https://doi.org/10.1126/science.1159689>

8. Pacesa M, Pelea O, Jinek M. Past, present, and future of CRISPR genome editing technologies. *Cell*. 2024; 187(5):1076-100. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.01.042>
9. Jasin M. Genetic manipulation of genomes with rare-cutting endonucleases. *Trends Genet*. 1996; 12(6):224-8. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(96\)10019-6](https://doi.org/10.1016/0168-9525(96)10019-6)
10. Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014; 346(6213):1258096. <https://doi.org/10.1126/science.1258096>
11. Wang JY, Doudna JA. CRISPR technology: A decade of genome editing is only the beginning. *Science*. 2023; 379(6629):eadd8643. <https://doi.org/10.1126/science.add8643>
12. Bravo JPK, Liu MS, Hibshman GN, Dangerfield TL, Jung K, McCool RS. Structural basis for mismatch surveillance by CRISPR-Cas9. *Nature*. 2022; 603(7900):343-7. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04655-8>
13. Lin S, Staahl BT, Alla RK, Doudna JA. Enhanced homology-directed human genome engineering by controlled timing of CRISPR/Cas9 delivery. *eLife*. 2014; 3:e04766. <https://doi.org/10.7554/eLife.04766>
14. Boyle EA, Becker WR, Bai HB, Chen JS, Doudna JA, Greenleaf WJ. Quantification of Cas9 binding and cleavage across diverse guide sequences maps landscapes of target engagement. *Sci Adv*. 2021; 7(8):eabe5432. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe5496>
15. Pacesa M, Loeff L, Querques I, Muckenfuss LM, Sawicka M, Jinek M. R-loop formation and conformational activation mechanisms of Cas9. *Nature*. 2022; 609(7925):191-6. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06779-x>
16. Kleinstiver BP, Pattanayak V, Prew MS, Tsai SQ, Nguyen NT, Zheng Z. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. *Nature*. 2016; 529(7587):490-5. <https://doi.org/10.1038/nature16526>
17. Casini A, Olivieri M, Petris G, Montagna C, Reginato G, Maule G. A highly specific SpCas9 variant is identified by in vivo screening in yeast. *Nat Biotechnol*. 2018; 36(3):265-71. <https://doi.org/10.1038/nbt.4066>
18. Vakulskas CA, Dever DP, Rettig GR, Turk R, Jacobi AM, Collingwood MA. A high-fidelity Cas9 mutant delivered as a ribonucleoprotein complex enables efficient gene editing in human hematopoietic stem and progenitor cells. *Nat Med*. 2018; 24(8):1216-24. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0137-0>
19. Collias D, Beisel CL. CRISPR technologies and the search for the PAM-free nuclease. *Nat Commun*. 2021; 12(1):555. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20633-y>
20. Gleditsch D, Pausch P, Müller-Esparza H, Özcan A, Guo X, Bange G. PAM identification by CRISPR-Cas effector complexes: Diversified mechanisms and structures. *RNA Biol*. 2019; 16(4):504-17. <https://doi.org/10.1080/15476286.2018.1504546>
21. Ceccaldi R, Sarangi P, D'Andrea AD. The Fanconi anaemia pathway: New players and new functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016; 17(6):337-49. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.48>

22. Lieber MR. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *J Biol Chem.* 2008; 283(1):1-5. <https://doi.org/10.1074/jbc.R700039200>
23. Liao H, Wu J, VanDusen NJ, Li Y, Zheng Y. CRISPR-Cas9-mediated homology-directed repair for precise gene editing. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2024; 35(4):102344. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2024.102344>
24. Moynahan ME, Jasin M. Mitotic homologous recombination maintains genomic stability and suppresses tumorigenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11(3):196-207. <https://doi.org/10.1038/nrm2851>
25. Heyer WD, Ehmsen KT, Liu J. Regulation of homologous recombination in eukaryotes. *Annu Rev Genet.* 2010; 44:113-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-051710-150955>
26. Rouet P, Smih F, Jasin M. Expression of a site-specific endonuclease stimulates homologous recombination in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(13):6064-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.13.6064>
27. Yang H, Ren S, Yu S, Pan H, Li T, Ge S. Methods favoring homology-directed repair choice in response to CRISPR/Cas9 induced-double strand breaks. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(18):6861. <https://doi.org/10.3390/ijms21186461>
28. Paquet D, Kwart D, Chen A, Sproul A, Jacob S, Teo S. Efficient introduction of specific homozygous and heterozygous mutations using CRISPR/Cas9. *Nature.* 2016; 533(7601):125-9. <https://doi.org/10.1038/nature17664>
29. Richardson CD, Ray GJ, DeWitt MA, Curie GL, Corn JE. Enhancing homology-directed genome editing by catalytically active and inactive CRISPR-Cas9 using asymmetric donor DNA. *Nat Biotechnol.* 2016; 34(3):339-44. <https://doi.org/10.1038/nbt.3481>
30. Yeh CD, Richardson CD, Corn JE. Advances in genome editing through control of DNA repair pathways. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(12):1468-78. <https://doi.org/10.1038/s41556-019-0425-z>
31. Yang D, Scavuzzo MA, Chmielowiec J, Sharp R, Bajic A, Borowiak M. Enrichment of G2/M cell cycle phase in human pluripotent stem cells enhances HDR-mediated gene repair with customizable endonucleases. *Sci Rep.* 2016; 6:21264. <https://doi.org/10.1038/srep21264>
32. Wienert B, Nguyen DN, Guenther A, Feng SJ, Locke MN, Wyman SK. Timed inhibition of CDC7 increases CRISPR-Cas9 mediated templated repair. *Nat Commun.* 2020; 11(1):2109. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15845-1>
33. Lin Y, Cradick TJ, Brown MT, Deshmukh H, Ranjan P, Sarode N. CRISPR/Cas9 systems have off-target activity with insertions or deletions between target DNA and guide RNA sequences. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(11):7473-85. <https://doi.org/10.1093/nar/gku402>
34. Riesenberger S, Kanis P, Macak D, Wollny D, Düsterhöft D, Kowalewski J. Efficient high-precision homology-directed repair-dependent genome editing by HDRobust. *Nat Methods.* 2023; 20(9):1388-99. <https://doi.org/10.1038/s41592-023-01949-1>
35. Charlesworth CT, Deshpande PS, Dever DP, Camarena J, Lemgart VT, Cromer MK. Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. *Nat Med.* 2019; 25(2):249-54. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0326-x>

36. Wagner DL, Amini L, Wendering DJ, Burkhardt LM, Akyüz L, Reinke P. High prevalence of *Streptococcus pyogenes* Cas9-reactive T cells within the adult human population. *Nat Med*. 2019; 25(2):242-8. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0204-6>
37. Hakim CH, Kumar SRP, Pérez-López DO, Wasala NB, Zhang D, Yue Y. Cas9-specific immune responses compromise local and systemic AAV CRISPR therapy in multiple dystrophic canine models. *Nat Commun*. 2021; 12(1):6769. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26830-7>
38. Ferdosi SR, Ewaisha R, Moghadam F, Krishna S, Park JG, Ebrahimkhani MR. Multifunctional CRISPR-Cas9 with engineered immunosilenced human T cell epitopes. *Nat Commun*. 2019; 10(1):1842. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09693-x>
39. Doudna JA. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*. 2020; 578(7794):229-36. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1978-5>
40. Wu X, Scott DA, Kriz AJ, Chiu AC, Hsu PD, Dadon DB. Genome-wide binding of the CRISPR endonuclease Cas9 in mammalian cells. *Nat Biotechnol*. 2014; 32(7):670-6. <https://doi.org/10.1038/nbt.2889>
41. Kosicki M, Tomberg K, Bradley A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotechnol*. 2018; 36(8):765-71. <https://doi.org/10.1038/nbt.4192>
42. Haapaniemi E, Botla S, Persson J, Schmierer B, Taipale J. CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. *Nat Med*. 2018; 24(7):927-30. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0049-z>
43. Modell AE, Lim D, Nguyen TM, Sreekanth V, Choudhary A. CRISPR-based therapeutics: Current challenges and future applications. *Trends Pharmacol Sci*. 2022; 43(2):151-61. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.10.012>
44. Cappell KM, Kochenderfer JN. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: What we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023; 20(6):359-71. <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00754-1>
45. Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, Chen YS, Domm J, Eustace BK. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *N Engl J Med*. 2021; 384(3):252-60. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054>
46. Song P, Zhang Q, Xu Z, Shi Y, Jing R, Luo D. CRISPR/Cas-based CAR-T cells: production and application. *Biomark Res*. 2024; 12(1):54. <https://doi.org/10.1186/s40364-024-00602-z>
47. Chiesa R, Georgiadis C, Syed F, Zhan H, Etuk A, Gkazi SA. Base-edited CAR7 T cells for relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2023; 389(10):899-910. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2300709>
48. Shapiro AMJ, Thompson D, Donner TW, Bellin MD, Hsueh W, Pettus J. Insulin expression and C-peptide in type 1 diabetes subjects implanted with stem cell-derived pancreatic endoderm cells in an encapsulation device. *Cell Rep Med*. 2021; 2(12):100466. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100466>
49. Lee RG, Mazzola AM, Braun MC, Platt C, Vafai SB, Kathiresan S. Efficacy and safety of an investigational single-course CRISPR base-editing therapy targeting

- PCSK9 in nonhuman primate and mouse models. *Circulation*. 2023; 147(3):242-53. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.062132>
50. Walters M, Frangoul H, McKinney C, Pineiro L, Mapara M, Dalal J. Reni-Cel, an investigational AsCas12a gene-edited cell medicine, led to sustained hemoglobin normalization and increased fetal hemoglobin in patients with severe sickle cell disease treated in the RUBY trial. *Transplant Cell Ther*. 2025; 31(2):S21-2. <https://doi.org/10.1016/j.jtct.2025.01.039>
51. Patsali P, Kleanthous M, Lederer CW. Disruptive technology: CRISPR/Cas-based tools and approaches. *Mol Diagn Ther*. 2019; 23(2):187-200. <https://doi.org/10.1007/s40291-019-00391-4>
52. Jeong SH, Lee HJ, Lee SJ. Recent advances in CRISPR-Cas technologies for synthetic biology. *J Microbiol*. 2023; 61(1):13-36. <https://doi.org/10.1007/s12275-022-00005-5>
53. Choubisa V. CRISPR-Cas9 off-target predictions using CNN and double CNN: Comparative analysis. *Int J Sci Res Arch*. 2024; 12(1):1074-80. <https://doi.org/10.30574/ijrsra.2024.12.1.0927>
54. Uddin F, Rudin CM, Sen T. CRISPR gene therapy: Applications, limitations, and implications for the future. *Front Oncol*. 2020; 10:1387. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01387>
55. Cui Z, Lin L, Zong Y, Chen Y, Wang S. Precision gene editing using deep learning: A case study of the CRISPR-Cas9 editor. *Appl Comput Eng*. 2024; 64(1):134-41. <https://doi.org/10.54254/2755-2721/64/20241357>
56. CONCYTEC/FONDECYT. Resumen de los 190 Proyectos de Investigación Aplicada y Desarrollo Tecnológico. Lima: CONCYTEC; 2019.
57. Kamde SP, Anjankar A. Retinitis pigmentosa: Pathogenesis, diagnostic findings, and treatment. *Cureus*. 2023 Oct 30; 15(10):e47961. <https://doi.org/10.7759/cureus.48006>
58. Ledford H, Callaway E. Pioneers of revolutionary CRISPR gene editing win chemistry Nobel. *Nature*. 2020; 586(7829):346-7. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02765-9>
59. CONCYTEC. Científicos peruanos desarrollan tecnología para diagnóstico rápido y preciso de enfermedades infecciosas [Internet]. Lima: CONCYTEC; 2020 [citado febrero de 2026].
60. Dueñas E, Nakamoto JA, Cabrera-Sosa L, Huaihua P, Cruz M, Arévalo J. Novel CRISPR-based detection of Leishmania species. *Front Microbiol*. 2022; 13:1044431. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.958693>
61. Proyecto de Fortalecimiento del SINACTI/ProCiencia. Disminución de la absorción del cadmio en el cacao peruano mediante la edición genética de sus transportadores empleando la tecnología CRISPR-Cas9 (Registro: N.º 026 propuesta_60208) [Internet]. Lima: ProCiencia; 2019 [citado 18 febrero de 2026]. Disponible en: <https://proyectofortalecimentodelsinacti.prociencia.gob.pe/investigacion/disminucion-de-la-absorcion-del-cadmio-en-el-cacao-peruano-mediante-la-edicion-genetica-de-sus-transportadores-empleando-la-tecnologia-crispr-cas9/>
62. Paredes-Moscosso SR, Villegas-Llerena C, Quispe-Bravo BE, Buleje J, Guevara-Fujita ML, Fujita R. Abstract 6338: CRISPR/Cas9 in vitro modelling of a VUS

- mutation found in Peruvian patients diagnosed with hereditary breast cancer. *Cancer Res.* 2025; 85(8 Suppl 1):6338. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2025-6338>
63. Fráncio L, Freitas MV de, Matte U. CRISPR/Cas patents and health-related publications in South America. *An Acad Bras Cienc.* 2023; 95(2):e20220475. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202320220629>
64. Ñique C, Cervera M, Díaz R, Domínguez C. Principios bioéticos en el contexto de la pandemia de COVID-19. *Rev Med Hered.* 2020; 31(4):255-65. <https://www.re-dalyc.org/articulo.oa?id=338065627009>
65. Santa María D Angelo R, Quiceno JD, Torres A, Perochena AC. [The CRISPR/Cas9 techniques applied to human genetic enhancement: a biotechnological, anthropological-philosophical and legal dialogue]. *Cuad Bioet.* 2020; 31(103):343-55.
66. Infante-López DV, Céspedes-Galvis MF, Wilches-Flórez ÁM. CRISPR-Cas9: el debate bioético más allá de la línea germinal. *Pers Bioet.* 2022; 25(2):e2526. <https://doi.org/10.5294/pebi.2021.25.2.9>
67. Gómez-Tatay L, Aznar J. [CRISPR-CAS9. The greatest advancement in genetic edition techniques requires an ethical reflection]. *Cuad Bioet.* 2019;30(99):171-85.
68. Das S, Bano S, Kapse P, Kundu GC. CRISPR based therapeutics: A new paradigm in cancer precision medicine. *Mol Cancer.* 2022; 21(1):85. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01552-6>
69. Ayanoğlu FB, Elçin AE, Elçin YM. Bioethical issues in genome editing by CRISPR-Cas9 technology. *Turk J Biol.* 2020; 44(2):110-20. <https://doi.org/10.3906/biy-1912-52>
70. Xu X, Liu C, Wang Y, Koivisto O, Zhou J, Shu Y. Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021; 176:113891. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113891>
71. Adashi EY, Gruppuso PA, Cohen IG. CRISPR therapy of sickle cell disease: The dawning of the gene editing era. *Am J Med.* 2024; 137(5):390-2. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2023.12.018>
72. Donoso RF, Gómez N, Rodríguez A. Edición genómica con CRISPR-Cas9 y su aplicación en trastornos genéticos. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2024; 42(Supl esp):e3230. Disponible en: <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3354>
73. Ferreyra KA. Consideraciones éticas sobre CRISPR/Cas9: Uso terapéutico en embriones y futura gobernabilidad. *Rev Bioét Der.* 2022; (55):121-38. <https://dx.doi.org/10.1344/rbd2021.54.36115>
74. Palacios Yabar ML. CRISPR/Cas9: Edición genética vs. bioética. *Apuntes Bioét.* 2019; 2(1):5-18. <https://revistas.usat.edu.pe/index.php/apuntes/article/view/238/865?download=pdf>
75. Lorenzo D, Esquerda M, Palau F, Cambra FJ. Ethics and genomic editing using the CRISPR-Cas9 technique: Challenges and conflicts. *Nanoethics.* 2022; 16(3):313-21. <https://doi.org/10.1007/s11569-022-00425-y>
76. Doudna J. CRISPR's unwanted anniversary. *Science.* 2019; 366(6467):777. <https://doi.org/10.1126/science.aba1751>