



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**SITUACIÓN ACTUAL DE LA TÉCNICA DE
EDICIÓN GENÉTICA CRISPR/CAS.
POSIBILIDADES DE EVOLUCIÓN FUTURA, Y
DILEMAS ÉTICOS DERIVADOS DE SUS USOS
TANTO ACTUALES, COMO FUTUROS.**

ACTUAL STATE OF THE GENOME EDITING
TECHNIQUE CRISPR/CAS. POSSIBILITIES OF
THEIR FUTURE EVOLUTION, AND ETHICAL
DILEMMAS DERIVED FROM THEIR PRESENT, AND
FUTURE USES

Autor: Pablo Martín Sánchez

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Julio, 2020

Resumen

La finalidad de la revisión bibliográfica realizada en este Trabajo de Fin de Grado consiste en poner de manifiesto, las grandes posibilidades de la técnica de edición genética CRISPR/Cas, tanto actualmente, como en el futuro, pero sin olvidarnos de sus problemas tanto técnicos como éticos. A este respecto, se analizan las posibles soluciones para eliminarlos, o reducirlos drásticamente.

El tratamiento legal de los organismos modificados con estas técnicas, incluyendo su uso sobre humanos adultos también fueron objeto de análisis de este estudio, por su importancia a la hora de determinar la posible aplicabilidad de las mismas, dependiendo del tipo de legislación de cada país. Especial mención merece el estudio de las normas, o leyes que regulan los usos de este tipo de técnicas sobre la línea germinal humana, por ser un tema ampliamente discutido, y valorado en el ámbito académico, y social, debido a ser el uso de mayor conflictividad ética.

El análisis de las diferentes visiones éticas sobre los usos de esta técnica también es un punto fundamental de este trabajo, ya que es indispensable para comprender el tratamiento legal diferente al que se ven sometidos la mayoría de los usos de esta técnicas en todo el mundo.

Abstract

The main objective of this Final Major Thesis is talking about the extremely high possibilities of the genome edition with CRISPR/Cas right now, and onto the future, but without forbidding out their technique, or ethical problems. At this respect, we have studied the possible solutions to try to delete or reduce them.

The legal treatment of the Genetic Edited Organisms included the gene therapy in born humans were analysed in this work, because of their importance to determine the possible applications of this technique. The laws and norms that regulate the use of CRISPR/Cas on the human-germline, need an especial mention, because there have been a topic of conflict in the academical world, since they generated a lot of ethical problems.

The analysis of the different ethical visions about the uses of this kind of tools, is a fundamental point of this work, because of the different legal treatment being received by the uses of this technique around the world.

FIRMA DEL ALUMNO

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Martín', is written over a horizontal line. The signature is stylized with a large initial 'M' and a long horizontal stroke extending to the right.

Fdo: Pablo Martín Sánchez

En San Martín de Valdeiglesias, a 29 de junio de 2020

Índice

1. Introducción	2
2. Objetivos	3
3. Materiales y métodos.....	3
4. Revisión y Resultados	4
4.1. La técnica CRISPR.....	4
4.1.1. ¿En qué consiste la técnica?	4
4.1.2. Aplicaciones actuales	6
4.1.3. Posibilidades de uso futuro.....	7
4.2. Marco normativo	9
4.2.1. Investigación básica e investigación aplicada, entre los principios de libertad de investigación y de precaución	9
4.2.2. Protocolos de aprobación de uso comercial según el organismo al que se aplica (no humano).....	11
4.2.3. Protocolo específico de aprobación de uso en humanos. Fines comerciales vs médicos	12
4.2.4. ¿Cuáles de estos protocolos son aplicables a CRISPR?	12
4.3. Dilemas éticos y jurídicos	13
4.3.1. El problema de “lo natural”	13
4.3.2. Conflicto de los GMOs vegetales y animales.....	14
4.3.3. La problemática sobre la modificación de células humanas	15
4.3.4. Estatus del embrión humano	15
4.3.5. Riesgos y posibles soluciones derivadas de las aplicaciones posibles de CRISPR.....	16
4.4. Problemas de la técnica que dificultan la resolución de estos dilemas. Posibles soluciones	19
4.4.1. Efectos off-target	19
4.4.2. Posibilidad de una respuesta inmune contra elementos del sistema.....	20
4.4.3. Aparición de daño genotóxico.....	21
4.4.3. La problemática de la modificación de la línea germinal ¿Es CRISPR una solución?	21
4.5. Planteamientos de posibles marcos reguladores con respecto a esta técnica	23
4.5.1. Protocolo unificado de aprobación.....	24
4.5.2. Unificación de las regulaciones en investigación básica sobre la línea germinal humana..	25
4.5.3. Mejora de la educación de la ciudadanía sobre la ciencia.....	26
5. Conclusiones	26
6. Referencias	28

1. Introducción

En este Trabajo de Fin de Grado se realizará una revisión bibliográfica sobre la técnica de edición genética CRISPR/Cas, prestando atención a la realizada con Cas 9 que es la que se encuentra más desarrollada en la actualidad, y la discusión generada en la comunidad científica en cuanto a su regulación legal en diferentes ámbitos desde la mejora vegetal, y animal, hasta la modificación de la línea germinal humana, así como los dilemas éticos que se derivan de su uso (Araki y Ishii, 2014; Van Dijke *et al.*, 2018; Wasmer, 2019).

Para centrar el tema de este trabajo, es importante realizar un viaje en el tiempo para comprender cómo se ha llegado a la situación actual. Las modificaciones dirigidas del genoma comenzaron a finales de los años 70 cuando Berg construyó la primera molécula de ADN recombinante, utilizando las enzimas de restricción, las cuales son capaces de cortar las moléculas de ADN de manera dirigida (Salomé Lima *et al.*, 2018). Estas herramientas moleculares habían sido descubiertas pocos años antes por Arber, Nathans, y Smith (Salomé Lima *et al.*, 2018). Gracias al trabajo de estos pioneros en los años 80 y 90 se desarrollaron multitud de investigaciones utilizando estas técnicas lo que permitió generar las primeras plantas, y animales transgénicos, también el desarrollo de la terapia génica somática, para el tratamiento de algunas enfermedades genéticas (Bellver V., 2016; Gómez-Tatay y Aznar, 2019).

Sin embargo, estas técnicas seguían siendo poco eficientes y seguras, lo que elevaba los costes de los pocos productos comercializables, e impedía un mayor impacto en el tratamiento de enfermedades humanas, de origen o causas genéticas como el cáncer, o el Síndrome de Down (Salomé Lima *et al.*, 2018). Por eso, aparte de buscar mejoras técnicas para los procedimientos ya conocidos, se trataba de localizar sistemas más eficientes, seguros, y baratos con los que obtener mejores resultados para una modificación concreta (Salomé Lima *et al.*, 2018).

Aquí es donde entra el trabajo realizado por el investigador de la Universidad de Alicante Francisco Mojica, el cual mientras se encontraba estudiando bacterias y arqueas resistentes a altas concentraciones de sal en la laguna de la Albufera en Valencia, descubrió que presentaban una serie de repeticiones de secuencias de ADN (Mojica y Juez, 1993; Mojica *et al.*, 1995), separadas por secuencias espaciadoras, que resultaron ser ADN viral (Mojica *et al.*, 2000; Soria, 2005). Esto constituyó el primer paso para demostrar que dichas secuencias junto con las nucleasas Cas, que se encargan de cortar el ADN viral, constituían un sistema de defensa

bacteriano frente a la entrada de virus potencialmente patógenos (Mojica *et al.*, 2009). Los trabajos de Mojica fueron aprovechados por las investigadoras Jennifer Doudna, y Pauline Charpentier para desarrollar en el año 2012 el primer sistema de edición génica basado en CRISPR/Cas (Jinek *et al.*, 2012).

Desde entonces, hasta la actualidad se han desarrollado multitud de experimentos en todo tipo de organismos, incluido el ser humano (Jinek *et al.*, 2013), incluso se han iniciado pruebas clínicas para el tratamiento de algunas enfermedades en China, y Estados Unidos (David Cyranoski, 2016; Gómez-Tatay y Aznar, 2019; Li *et al.*, 2019). Esto es debido a que es la técnica más eficiente y barata de modificación genética desarrollada hasta el momento, y aunque su nivel de seguridad es aceptable para sistemas no humanos, se está tratando de mejorar el misma con vistas a un uso mayor dentro de la sociedad (Gómez-Tatay y Aznar, 2019) . Los buenos resultados obtenidos con esta técnica, junto con todas sus características mencionadas anteriormente, hacen de ella un objeto de estudio muy interesante.

2. Objetivos

- Describir el funcionamiento de la técnica CRISPR, así como todas sus posibles aplicaciones, tanto las actuales como las futuras.
- Realizar una revisión bibliográfica de las normativas aplicadas mundialmente sobre las técnicas de modificación genética, en busca de las regulaciones aplicables a CRISPR.
- Plantear nuevos marcos normativos, aplicables a esta situación de evolución constante de los factores limitantes de la técnica.
- Valorar los dilemas éticos que plantea el uso de esta técnica, en busca de soluciones a los mismos.

3. Materiales y métodos

Este apartado es fundamental para describir la forma de trabajar, y recopilar la información presente en este TFG. El trabajo de documentación realizado abarcó dos ámbitos diferenciados claramente, por un lado, el ámbito más técnico-científico sobre las técnicas de modificación genética, y por otro, un ámbito más relacionado con las ciencias sociales en las que se buscó las diferentes y posibles objeciones a estas técnicas tanto a nivel ético, como jurídico. Para realizarlo se emplearon las principales bases de datos existentes, como Web of Science, Pubmed, Google académico, etc.

Tras recopilar una gran cantidad de artículos se clasificaron por la temática tratada a la hora de utilizarlos en la redacción de este trabajo. Como gestor bibliográfico de los mismos a la hora de utilizar las citas en este trabajo se utilizó Mendeley, con todas sus funciones incluido el complemento del mismo en Word.

4. Revisión y Resultados

Este apartado se corresponde con el desarrollo del trabajo, donde se tratará el fundamento de la técnica, su regulación normativa, a lo largo del mundo, así como los dilemas éticos que generan algunos de sus usos.

4.1. La técnica CRISPR

Es una de las tecnologías más punteras desarrolladas en los últimos años en el campo de la biología molecular, y la biomedicina. Su forma de utilización, sencilla, rápida, y barata comparada con otras técnicas similares, la hacen muy deseable desde el punto de vista económico, para cualquier investigador o empresa privada del sector, al reducir los tiempos, y la cantidad de inversión necesaria para lograr un prometedor resultado.

4.1.1. ¿En qué consiste la técnica?

La técnicas de modificación genética basadas en el sistema de defensa bacteriano CRISPR/Cas, necesitan de varios elementos fundamentales para conseguir el funcionamiento correcto, y controlado del mismo (Jinek *et al.*, 2012; Concepción-Hernández, 2018). El primero de ellos, el cual debe estar siempre presente, es una proteína de la familia Cas. Esta familia proteica presenta varios integrantes capaces de trabajar en conjunción con el locus CRISPR (Concepción-Hernández, 2018; Gómez-Tatay y Aznar, 2019). La mayoría de ellas aún están en estudio, y con diferencia la proteína de esta familia más utilizada para modificar organismos es la nucleasa Cas 9, en la que nos centraremos en este trabajo, principalmente. Los genes que codifican para las proteínas Cas que forman parte del sistema, se encuentran en una posición adyacente al locus CRISPR (Concepción-Hernández, 2018).

El otro elemento fundamental es un ARN guía, o sgRNA, ya que sin él no se puede dirigir el corte específico en el material genético llevado a cabo por la proteínas Cas 9. Su secuencia debe ser homóloga con aquella del segmento a modificar en el genoma del individuo, para poder reconocerla, y unirse a ella, permitiendo así el corte (Jinek *et al.*, 2012; Concepción-Hernández, 2018). Es fundamental, la presencia de una secuencia en el genoma a editar, denominada PAM, la cual debe ser reconocida por la nucleasa, de manera que esta se activa, y realiza un corte en

ese punto (Concepción-Hernández, 2018). Esta secuencia está compuesta por muy pocos nucleótidos, es lo que se denomina un motivo (Concepción-Hernández, 2018). Existen varios tipos de secuencia PAM, y cada uno de ellos puede ser reconocido por no más de dos tipos de nucleasas (Cong *et al.*, 2013).

Este sistema es muy versátil, por la posibilidades de transportarlo a las células que ofrece, permitiendo manipular células muy difíciles para otros sistemas (Jinek *et al.*, 2013; Gómez-Tatay *et al.*, 2015; Bellver V., 2016). Por ejemplo, es posible introducir el RNA guía ya sintetizado, junto con la proteína responsable del corte (en su forma activa), ahorrándonos el uso de plásmidos o vectores virales para introducir los componentes del sistema en las células sobre las que quieres realizar una modificación concreta (Cong *et al.*, 2013; Nishida *et al.*, 2016). Pero, cuando esto no es posible, por las características tanto de la célula como de la modificación de interés, se pueden utilizar tanto vectores virales como plásmidos para conseguir la expresión tanto del ARN guía, como de la proteína Cas, o de ambos (Cong *et al.*, 2013). Este factor de opcionalidad, dentro de la propia técnica facilita su aplicación a muchos estudios de características diferentes, facilitando la tarea del investigador, a la hora de decidir qué sistema de modificación se ajusta mejor a las propiedades especiales de su estudio (Concepción-Hernández, 2018; Gómez-Tatay y Aznar, 2019).

Otra de sus ventajas, es que es un sistema capaz de cortar las dos cadenas del material genético a la vez, por tanto, elimina uno de los problemas clásicos en la obtención de transgénicos animales, en la que los sistemas utilizados, además, de ser menos eficientes, son incapaces de obtener individuos con los dos alelos del gen diana modificados de la forma proyectada en una sola generación (Carlson *et al.*, 2016; Whitworth *et al.*, 2016; Gómez-Tatay y Aznar, 2019). Esto conllevaba un retraso muy importante en la obtención de los beneficios esperados de ese transgénico, ya sean para la salud, o la economía (Gómez-Tatay *et al.*, 2015).

Una de las capacidades más interesantes de este sistema es su capacidad, una vez ha realizado el corte la proteína Cas 9, de introducir dos tipos de reparación del corte diametralmente distintos, que permiten obtener una amplísima variedad de modificaciones usando este sistema. El primer modelo de reparación es cuando el sistema solo consta del sgARN, y la nucleasa. En este caso, la célula repara el gap formado sobre el material genético con el sistema NHEJ (non homologous end - joining), o reparación introduciendo nucleótidos al azar, lo que suele generar la inactivación del gen o secuencia donde se llevó a cabo el corte (Jinek *et al.*, 2012; Concepción-Hernández, 2018). La otra posibilidad de reparación requiere la introducción de

una secuencia adicional con el sistema. Esta debe disponer de una región de homología con el fragmento sobre el que se realizó el corte, a un lado y a otro de la región donde se encuentra la secuencia PAM. Entre ambas regiones de homología, va una secuencia con la función de hacer de molde para reparar el corte realizado, este proceso se denomina HDR (homologous direct repairing) (Cong *et al.*, 2013; Nishida *et al.*, 2016). Esta reparación, puede ser de dos tipos:

- **Si el molde solo varía en algún nucleótido con respecto a la secuencia cortada** (Cong *et al.*, 2013; Nishida *et al.*, 2016). Es un proceso de edición del genoma muy interesante para el tratamiento de enfermedades genéticas provocadas por mutaciones puntuales (transiciones, transversiones, o cambios en el marco de lectura) (Gómez-Tatay y Aznar, 2019).
- **Si la secuencia molde es totalmente diferente.** En este caso, se trataría de un transgénico, o un editado, dependiendo de donde procediera el fragmento utilizado como molde, pero se conseguiría la expresión en ese punto exacto del genoma de un gen no expresado anteriormente (Cong *et al.*, 2013; Nishida *et al.*, 2016).

La introducción de la secuencia molde dentro de la células a modificar es fundamental. Puede llevarse a cabo mediante un plásmido, un vector viral, o utilizando la secuencia desnuda (si se utiliza un sistema que la proteja hasta la entrada al núcleo) (Cong *et al.*, 2013; Nishida *et al.*, 2016). Su construcción requiere conocimientos avanzados de técnicas moleculares, como el corte con enzimas de restricción, la mutagénesis in vitro, o la PCR. Es importante que esta construcción sea adecuada a cada situación donde se quiere emplear, si se espera obtener los resultados deseados.

4.1.2. Aplicaciones actuales

Las aplicaciones de dicha técnica se circunscriben a tres ámbitos de gran importancia social, económica y científica.:

- A. Medioambiental.** Permite modificar microorganismos, plantas, o animales con el fin de reducir su impacto ambiental, o en el caso de los microorganismos, aumentar su capacidad para eliminar contaminantes ambientales (Sun *et al.*, 2016; Arora y Narula, 2017). Es una aplicación menos conocida de esta técnica, y la menos desarrollada en la actualidad, pero se antoja de vital importancia de cara al futuro.
- B. Biomédico.** En este ámbito se trata de utilizar el sistema como método corrector de una disfunción genética que está provocando una enfermedad, esto es lo que se conoce como terapia génica somática, aunque aún no está disponible para muchas enfermedades, por

la propia naturaleza de esta (Bellver V., 2016). Otro de sus principales usos, de vital importancia en la investigación biomédica, es la generación de modelos animales transgénicos, para estudiar los síntomas de enfermedades pocas conocidas, o como sujetos de prueba de posibles nuevos tratamientos en algunas patologías (Nishida *et al.*, 2016).

C. Agricultura y ganadería. Las aplicaciones dentro de estas dos disciplinas son fundamentales a nivel económico y productivo (Arora y Narula, 2017; Concepción-Hernández, 2018). Principalmente incluye la generación de animales y plantas de mayor rendimiento, en función de los gastos generados, por ejemplo, evitando el uso de herbicidas, o plaguicidas en plantas, y animales con una mayor capacidad de engorde, consumiendo menos alimento, u otros resistentes a las enfermedades más comunes (Carlson *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2016; Whitworth *et al.*, 2016; Arora y Narula, 2017). Esto beneficia tanto la economía de los productores como a la producción de alimentos, un bien cada vez más escaso, en un mundo cada día con más población (Arora y Narula, 2017).

Las aplicaciones aquí analizadas no son todas nuevas, pero el impacto de esta técnica sobre ellas ha mejorado su eficiencia y rendimiento de producción, haciendo más atractiva su comercialización, ya que el precio de obtener el producto de interés se ha reducido muchísimo, facilitando su uso a un público más amplio (Gómez-Tatay y Aznar, 2019).

Los beneficios obtenidos de todas estas aplicaciones son millonarios, lo que hace que la inversión en todos estos productos sea algo muy rentable hoy en día (Bellver V., 2016). Por tanto, se trata de un campo prometedor desde todos los puntos de vista, ya sea el científico o el económico. Aun así, el mayor de los beneficios aportados es sobre la salud, y la forma de vida de las personas (Salomé Lima *et al.*, 2018).

4.1.3. Posibilidades de uso futuro

En este apartado se trata de teorizar sobre el futuro desarrollo y posibles aplicaciones de la técnica CRISPR/Cas9. Actualmente, existen predicciones de reputados científicos, que piensan que, en un futuro relativamente cercano, esta técnica estará presente en nuestra vida de una manera fundamental, influyendo aspectos impensables actualmente, sobre todo en el campo de la medicina, la agricultura, ganadería, pesca, y medioambiente (Salomé Lima *et al.*, 2018). Para que estas se cumplan, deben solucionarse aún algunos problemas de seguridad de la técnica (se desarrollaran más adelante), así como producirse cambios en las regulaciones de los países

sobre los organismos modificados genéticamente (Araki y Ishii, 2014; Li *et al.*, 2019; Wasmer, 2019).

Las posibilidades más aceptadas hablan de la capacidad de alterar la línea germinal humana de una manera segura, para obtener individuos sin enfermedades genéticas al nacer, o para que no las desarrollen durante su vida, incluso de alterar la línea germinal para reducir el componente genético de algunas enfermedades muy importantes como el cáncer (Li *et al.*, 2019). Desde el punto de vista agrario, se especula con una extensión masiva de transgénicos más seguros para la salud y el medioambiente, con un precio más asequible para los agricultores, y ganaderos facilitando su extensión por países menos desarrollados (Salomé Lima *et al.*, 2018). Por último, a nivel medioambiental se espera reducir el impacto de las instalaciones extensivas de ganadería y agricultura, utilizando organismos modificados genéticamente para reducir su emisión de contaminantes (Sun *et al.*, 2016; Arora y Narula, 2017), así como la mejora genética de los microorganismos utilizados en la degradación de residuos, para acelerar el propio proceso, eliminando más rápidamente los contaminantes producidos (Salomé Lima *et al.*, 2018).

Nos centraremos ahora en cada caso mencionado individualmente, para analizar las posibilidades reales de llegar a ese futuro predicho. En el caso de la modificación de la línea germinal se antoja fundamental superar los problemas de seguridad de la técnica, hasta que esta alcance niveles aceptables, debido a la responsabilidad de jugar con una posible vida humana (Van Dijke *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019). Aun así, los cambios legislativos serán complicados de realizar por los dilemas éticos generados (Araki y Ishii, 2014; Li *et al.*, 2019).

Cuando tratamos de las posibilidades de mejora de las actividades del sector primario, los cambios en la legislación de transgénicos, para facilitar su proceso de aprobación, debido a las mejoras en los procesos de obtención de los mismos, forman parte de una lucha de parte de la comunidad científica (Wasmer, 2019), frente a diferentes grupos sociales, como los ecologistas, para convencerles de los beneficios que estos aportan a la sociedad. El mismo problema presenta la autorización de uso de algunas de las posibles aplicaciones medioambientales, que se esperan desarrollar en los próximos años.

En definitiva, algunas de estas aplicaciones futuribles, serían complicadas de aceptar por muchas sociedades, al ir contra los valores, y creencias tradicionales de las mismas. (Savulescu, 2012; Van Dijke *et al.*, 2018). Por lo tanto, la labor educativa de los científicos debe ser amplificada, si se quiere hacer comprender a la sociedad, el porqué de estos cambios, y los beneficios potenciales de los mismos sin exagerar los mismos (Chneiweiss *et al.*, 2017).

4.2. Marco normativo

La existencia de una serie de normas, o leyes reguladoras de los usos de estas técnicas es indispensable, para disponer de una cobertura legal, que permita saber cómo actuar en casos problemáticos, por parte de los científicos desarrolladores de cualquier investigación, así como cualquier persona que participe de las mismas directa, o indirectamente, mediante alguna de sus propiedades. De hecho, su existencia es un alivio, para cualquiera de los participantes, al disponer de una salvaguarda, en caso de que se tratará de perpetrar algún abuso flagrante por alguna de las partes.

4.2.1. Investigación básica e investigación aplicada, entre los principios de libertad de investigación y de precaución

La regulación legal de las técnicas de ingeniería genética está dividida en dos ramas completamente diferenciadas, que coinciden con la división clásica de la investigación, en básica y aplicada, aunque, dicha clasificación puede considerarse un artefacto humano, si se parte de la premisa de que toda investigación persigue como objetivo último una aplicación en la sociedad.

En investigación básica, prima el principio de **la libertad de investigación** permitiéndose sin excesivas restricciones de carácter ético, moral o técnicas a la generación de organismos modificados genéticamente (GMO) de cualquier tipo, utilizando estas técnicas, siempre que existan posibilidades de completarlo con éxito, en un entorno seguro y controlado (Parlamento europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001).

La excepcionalidad humana impide un uso tan sencillo, en cuanto a legislación a cumplir, en este tipo de investigaciones. Este tipo de legislación se abordará en detalle en este apartado, ya que son varios los países que aplican criterios diferentes.(Araki y Ishii, 2014; Chneiweiss *et al.*, 2017).

Las legislación no relacionada con la línea germinal humana, es en general muy parecida entre todos los países, principalmente teniendo en cuenta la adecuación de las instalaciones, los investigadores responsables de llevarlas a cabo, y la seguridad de la modificación introducida, como es el caso de España (Estado Español, 2011).

Sin embargo, cuando tratamos de la línea germinal humana, existen múltiples opciones al respecto dependiendo de los países donde se pretenda realizar (Araki y Ishii, 2014). La mayoría

de los países europeos, y algunos otros países guían sus actuaciones en este sentido, en base al Convenio de Oviedo, el cual permite la modificación de óvulos, espermatozoides, y embriones ‘*in vitro*’, siempre y cuando sea sin fines reproductivos (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994). Sin embargo, el mismo convenio prohíbe cualquier intervención sobre el genoma cuyo objetivo sea modificarlo en la descendencia (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994). Por tanto, existen dos corrientes dentro de los países suscriptores del convenio, aquellos que dan por absoluta la idea de no modificar la línea germinal humana, aunque no sea con fines reproductivos, como es el caso de España. Mientras que, otros países sí autorizan mediante sus Comités Nacionales de Ética, e instituciones reguladoras, este tipo de modificaciones sin fines reproductivos, utilizando para las mismas embriones sobrante de las técnicas de fecundación *in vitro* (FIV), ya que dichos embriones no tienen un mayor uso, que esperar el tiempo de rigor para ser destruidos, una vez quedan descartados en el proceso de selección de esta técnica. Este uso siempre debe de contar con el consentimiento de los padres que generaron el embrión (Araki y Ishii, 2014). El propio convenio prohíbe generar embriones humanos con fines investigativos, por lo que no está permitido en ningún país firmante, crear embriones humanos con el objetivo de modificarlos utilizando estas técnicas (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994).

Otros países como EEUU, o China no son suscriptores de dicho convenio, y carecen de leyes reguladoras estatales sobre dichos ámbitos (Araki y Ishii, 2014). Aunque, sus actuaciones en estos ámbitos se guían por los mismos principios fundamentales recogidos en el Convenio. El hecho de carecer de una legislación clara favorece mucho la libertad del investigador, ya que en gran medida son los comités éticos de sus Centros, quienes deciden si la investigación cumple los requisitos recogidos por las guías publicadas por las instituciones reguladoras del país (Araki y Ishii, 2014). Por eso, en algunos de estos países no es ilegal, ni está totalmente prohibido generar embriones humanos con fines investigadores, dependiendo más su desarrollo de la ética de los investigadores y de los Comités de Ética de sus Centros (Araki y Ishii, 2014; Li *et al.*, 2019).

Por el contrario, en el caso de la investigación aplicada, el proceso mucho más complejo a nivel legal, lo cual viene derivado de los problemas de seguridad, medioambientales, o de otro tipo, que pueden tener consecuencias imprevisibles si no se evalúan correctamente, antes de autorizarse su uso extensivo. Las actuaciones en este tipo de estudios siempre vienen guiadas por el **principio de precaución** (Gómez-Tatay y Aznar, 2019; Wasmer, 2019). Sin embargo, existen diferencias muy notables entre los distintos países con respecto a la facilidad de

conseguir la aprobación del uso comercial de productos obtenidos por estas técnicas, cuando son de origen vegetal o animal (Nadakuduti *et al.*, 2018; Wasmer, 2019).

Este mismo principio, es aplicable, cuando se trata de llevar al mercado cualquier investigación desarrollada con estas técnicas, y que tenga usos en humanos. Por ello, los protocolos de desarrollo y aprobación se alargan mucho en el tiempo, debido al aumento de requisitos exigidos durante el proceso, para garantizar su seguridad, efectividad, y eficacia fundamentalmente (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994; Chneiweiss *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019).

4.2.2. Protocolos de aprobación de uso comercial según el organismo al que se aplica (no humano)

El marco regulador es diferente dependiendo del organismo que reciba la modificación. Si la modificación es sobre microorganismos, al poder cultivarse a gran escala en situaciones mucho más controlables, y evaluables como un biorreactor, el protocolo se centra sobre todo en evaluar la seguridad para la salud del producto producido, en el caso de productos alimentarios o cosméticos (Conference *et al.*, 2014). En cambio, en productos farmacéuticos siendo fundamental la seguridad, el protocolo es más complejo, ya que la cantidad producida en el biorreactor es fundamental para poder determinar si el producto es efectivo, y eficaz, así como desarrollar pruebas farmacocinéticas, de dosimetría, y de efectos secundarios (Conference *et al.*, 2014). Depende de las agencias de seguridad alimentarias nacionales, como la FDA de EEUU, y en la Unión Europea, también de supranacionales como la EFSA (European Food Safety Authority) (Conference *et al.*, 2014).

Las modificaciones sobre el genoma de plantas, y animales con fines económicos están estrictamente reguladas en cuanto a su aprobación para uso comercial (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001). Estas regulaciones se basan en la aplicación del principio de precaución, sobre todo por el medio ambiente, y la salud tanto humana como de la planta, o animal modificado (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001). En el caso, de tratarse de transgénicos para garantizar el cumplimiento de dicho principio, el protocolo de aprobación establece la necesidad de realizar dos pruebas de campo (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001). La primera, con menos individuos es para evaluar los efectos de la modificación sobre la propia planta o animal. Mientras que, las segundas son para evaluar los efectos medioambientales de las misma, solo se autorizan cuando las primeras fueron exitosas (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001). La evaluación y

autorización de cada paso es llevada a cabo, por una o más agencias reguladoras, si se quiere conseguir la autorización comercial de las mismas (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001).

[4.2.3. Protocolo específico de aprobación de uso en humanos. Fines comerciales vs médicos](#)

El caso de la aplicación de estas técnicas sobre el genoma humano con fines comerciales es complicado, siendo un generador de polémica por las políticas, y posturas adoptadas por los distintos países. Cuando estas tecnologías se aplican sobre células somáticas, su uso se encuentra limitado a fines médicos, sobre todo en enfermedades para las que no exista un tratamiento más seguro, y efectivo (Informe Michaud; Bellver V., 2016; Chneiweiss *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019). Aunque, algunos supuestos de aplicación varían entre los distintos países, así como sus legislaciones específicas, la base de las mismas es el **Convenio de Oviedo** (Consejo de Europa, 1994).

Mención especial merece la modificación de la línea germinal humana, la cual se encuentra prohibida en su aplicación clínica, y por tanto también comercial (*NIH Director on Human Gene Editing: «We Must Never Allow our Technology to Eclipse our Humanity» | Discover Magazine*, sin fecha; *The ISSCR Statement on Human Germline Genome Modification*, sin fecha; Consejo de Europa, 1994). Sin embargo, la naturaleza de dicha restricción es diferente según los países. Muchos de los países europeos, como suscriptores del **Convenio de Oviedo**, se comprometieron a convertir dicha prohibición en ley (Consejo de Europa, 1994; Araki y Ishii, 2014). Otros, por el contrario, basan sus restricciones en guías o directivas de las instituciones reguladoras competentes en la materia, facilitando la actualización de la norma, si el proceso se vuelve más seguro, no negándose totalmente a la idea del nacimiento algún día de un bebé cuyo genoma haya sido modificado usando estas técnicas (Araki y Ishii, 2014).

[4.2.4. ¿Cuáles de estos protocolos son aplicables a CRISPR?](#)

En general, todas estas regulaciones pueden ser aplicables a la técnica CRISPR/Cas. Aunque, es necesario una evolución de las mismas, ya que en muchas ocasiones esta técnica al no introducir ADN exógeno, solo editar el material genético propio, hace indistinguibles los organismos editados de los no editados (Chneiweiss *et al.*, 2017). Esto supone un problema en los protocolos de evaluación porque, estos necesitan localizar el lugar de la modificación claramente para poder evaluar la seguridad o no de la modificación realizada (Wasmer, 2019).

Por ello, en los últimos años, varios países han creado protocolos específicos para organismos no humanos obtenidos por estas técnicas. Estos parten de la base de que estos organismos no

son transgénicos, sino editados, y, por tanto, su introducción en el mercado se realiza sin necesidad de realizar pruebas de campo, como en el caso de haberlo obtenido por mutagénesis convencional. Además, CRISPR, tiene la ventaja de emplear menos tiempo (Nadakuduti *et al.*, 2018; Wasmer, 2019). Este protocolo de aprobación simplificado no implica que no se realicen controles sobre este tipo de organismos, ni puedan verse retirados del mercado por la agencia reguladora competente en cada lugar, en caso de detectar peligros para la salud o el medio ambiente. Es una forma de reducir los tiempos de espera para la aprobación, haciendo más viable el desarrollo de este tipo de organismos con fines comerciales (Nadakuduti *et al.*, 2018; Wasmer, 2019). La mejor seguridad de CRISPR con respecto a sus predecesoras es el factor determinante del desarrollo de estas nuevas regulaciones (Nadakuduti *et al.*, 2018).

Por el contrario, algunos países se niegan a considerar este tipo de organismos diferentes a los transgénicos, obligándoles a seguir los mismos protocolos, generando una situación de desigualdad entre países, generando conflictos y polémicas, tanto a nivel social como científico, y que debe tratar de resolverse en los próximos años (Wasmer, 2019).

4.3. Dilemas éticos y jurídicos

La ética de cualquier investigación científica es siempre objeto de evaluación de la misma, para evitar abusos, y malos usos por parte de los investigadores, por ello existen comités de ética, encargados de evaluar estos aspectos. Aunque, pueden existir diferencias de criterio, entre los muchos comités existentes, a la hora de evaluar investigaciones similares, sobre todo en cuanto a la libertad que se otorga al investigador para llevar a cabo su tarea, el objetivo fundamental que se persigue es evitar flagrantes abusos de los derechos de las personas, o animales que forman parte de la misma, y asegurarse que se cumplen, y respetan los mismos.

4.3.1. El problema de “lo natural”

El problema ético de estas técnicas está relacionado fundamentalmente con lo que se conoce como problema de la naturaleza, el cual establece que lo natural es mantener el estatus quo del medio natural, y humano sin intervenir en sus procesos, ya que estaríamos alterando “su naturaleza”(Van Haperen *et al.*, 2010). Aunque, en cierta parte tiene su razón de ser, ya que tanto los ecosistemas, como el cuerpo son muy complejos, y cualquier variación descontrolada, puede generar un cambio perjudicial para el mismo (Chneiweiss *et al.*, 2017; Kosicki *et al.*, 2018), las regulaciones, y medidas que debe cumplir cualquier uso autorizado de estas técnicas, reduce a niveles casi despreciables este tipo de riesgos, sin embargo, generando grandes

beneficios sobre la vida de las personas, y las sociedades (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001).

4.3.2. Conflicto de los GMOs vegetales y animales

En este apartado abordaremos el tema de los GMO (Genetic Modified Organisms) en plantas, donde algunos dilemas éticos presentes en humanos, o animales no se encuentran presentes.

El principal uso de la técnica CRISPR/Cas 9 sobre plantas, es para la mejora vegetal de especies ya existentes, introduciendo un transgén de alguna otra especie, o editando alelos de genes concretos, responsables de algunas limitaciones del rendimiento productivo de las mismas (este es el uso más común), también es posible utilizar algunas variantes del mismo para inducir o reprimir la expresión de algunos genes concretos (Sun *et al.*, 2016; Arora y Narula, 2017; Nadakuduti *et al.*, 2018). Los dilemas éticos principales de estos usos radican sobre todo en el salto de la barrera interespecífica, y en conseguir avances evolutivos, que en la naturaleza tardarían miles de años en producirse, en muy poco tiempo (Van Haperen *et al.*, 2010). Ambos se encontrarían relacionados con el problema de “lo natural” (Van Haperen *et al.*, 2010). Algunos grupos sociales, por tanto, se oponen a ello, porque consideran que traspasar esos límites es peligroso. Por el contrario, dentro de la comunidad científica caben pocas dudas, de que, aun existiendo estos problemas, se deben seguir utilizando estas técnicas para esos fines, siempre y cuando se pueda asegurar la máxima seguridad posible, con los medios disponibles, tanto para el medio ambiente como para las personas, mientras no aparezcan evidencias que desaconsejen el uso de los mismos hasta ese momento (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001; Wasmer, 2019).

A continuación, se trabajará sobre el problema concreto de los usos, y aplicaciones de estas técnicas sobre animales, tanto de laboratorio, como de granja. El problema desde el punto de vista de la ética, en todos estos casos, radica fundamentalmente en el hecho de la necesidad de modificar la línea germinal, si de verdad se quiere obtener animales modificados, con diferencias significativas respecto a un animal de la misma especie, sin modificar (Carlson *et al.*, 2016; Whitworth *et al.*, 2016). Esto implica, modificar embriones, eutanasizar en muchos casos a las hembras donantes del ovocito (por eso suelen ser las de mayor edad), también presenta una tasa de abortos muy alta, por lo que se requiere modificar muchos embriones, e inducir muchos embarazos, para conseguir muy pocos animales (Carlson *et al.*, 2016; Whitworth *et al.*, 2016). Aunque, la técnica CRISPR, ha conseguido mejorar todos estos números significativamente, el problema no ha desaparecido. En este caso, el dilema tiene forma de

pregunta, ¿realmente es necesario el sacrificio de tantos potenciales animales, para los resultados que se pretende obtener con ellos? (Estado Español, 2011), los mismos dilemas de las plantas también son aplicables.

La respuesta dentro de la sociedad es variada, desde la oposición total de algunos grupos animalistas, hasta la aceptación total, con fines ganaderos, y económicos. La mayoría, sin embargo, está de acuerdo en su utilización en animales de laboratorio, cuando es para fines terapéuticos (Consejo de Europa, 2015; Committee International Bioethics (UNESCO), 2015; European Group on Ethics, 2017). Este sentir aparece recogido, en varias leyes por todo el mundo. Dentro del mundo científico, hace años que se práctica una política de mejor trato, y menor uso de los animales, cuando esto se puede evitar (Estado Español, 2011), pero el consenso es prácticamente unánime de que los beneficios son mayores a los riesgos (Chneiweiss *et al.*, 2017).

4.3.3. La problemática sobre la modificación de células humanas

Cuando se trata del conflicto ético de estas técnicas, las modificaciones sobre células humanas suelen centrar todo el debate, ya que presenta los dilemas con una respuesta más complicada, sobre todo cuando se trata de la línea germinal (Greely, 2015). Pero, primero nos centraremos en la modificación de las células somáticas, donde la principal disyuntiva, se basa en la posibilidad de que la modificación sea más perjudicial que beneficiosa (Consejo de Europa, 2015; Committee International Bioethics (UNESCO), 2015; European Group of Ethics, 2017). A corto, y medio plazo, los estudios y ensayos clínicos realizados, así como la valoración médica de cada caso, deberían impedir que esto se cumpla. El problema surge en el largo plazo, donde, aunque, existan predicciones sobre el comportamiento de dicha modificación es imposible saber con total seguridad, si es posible que cause un daño irreparable (Kosicki *et al.*, 2018). Por ello, su uso se encuentra limitado a situaciones terapéuticas, ya que la posibilidad de beneficiarse de la misma es mucho mayor (Consejo de Europa, 2015).

4.3.4. Estatus del embrión humano

Como se mencionó con anterioridad, la utilización de CRISPR/Cas9 sobre células germinales humanas, es una fuente de conflicto ético, y uno de los temas más interesantes en la bioética actual (Van Dijke *et al.*, 2018). Aunque, muchos de los puntos sobre los que se suele discutir no son nuevos, ya que estaban, y están presentes en las discusiones sobre FIV (fecundación in vitro), aborto, u otras técnicas de transgénesis anteriores a la misma (Consejo de Europa, 2015; European Group on Ethics, 2017).

Estos principales puntos en común están relacionados con el estatus del embrión humano, centrándose la discusión, sobre todo cuando se considera que el mismo adquiere la condición humana, o quién es responsable de tomar las decisiones que él no puede tomar (Van Dijke *et al.*, 2018). Dentro del mundo académico existen posturas muy diferenciadas, entre los que consideran el embrión como un ser humano desde el momento de su formación, abogando, por tanto, la reducción de las posibles manipulaciones, debido al riesgo que suponen para el mismo (Gómez-Tatay *et al.*, 2015; Bellver V., 2016; Gómez-Tatay y Aznar, 2019). Mientras que, existen otros grupos, generalmente el de pensamiento mayoritario, como aparece recogido en diferentes leyes, por ejemplo, la Ley del Aborto Española, los cuales no consideran el embrión un ser humano, hasta que alcanza una forma humana reconocible (Gobierno de España. Ministerio de Justicia., 2010; "Genome editing: The age of the red pen", 2015; *Crispr: is it a good idea to 'upgrade' our DNA?* | Science | The Guardian, sin fecha).

Ambas posturas, también difieren en el tema de la competencia de las decisiones con respecto al mismo. Así, la primera de ellas defiende que, aunque, los padres son competentes para tomar las decisiones en lugar de su futuro hijo, su actuación debe ser vigilada, para evitar una decisión contraria a la dignidad humana, un derecho fundamental adquirido por el embrión tras su formación, por la unión de un óvulo, y un espermatozoide (Bellver V., 2016). Entre estas decisiones contrarias a la dignidad humana, se encuentra cualquier destrucción injustificada de embriones (un aborto), alterarlos o modificarlos con fines solo de investigación (CRISPR), generar embriones en exceso, para luego no utilizarlos, o descartarlos (FIV), y por supuesto modificarlos con fin de dar lugar a un nacimiento, lo que pondría en juego no solo la dignidad, sino también la identidad de la especie, como es el caso de CRISPR (Bellver V., 2016; European Group on Ethics, 2017).

Por el contrario, la segunda postura considera a los posibles padres competentes para tomar las decisiones que crean más convenientes tanto para ellos, como para una posible vida que nazca de ese embrión, o incluso para la humanidad en general, si por motivos técnicos no se puede utilizar ese embrión para dar lugar a un nacimiento, pero si es válido para la investigación (Savulescu, 2012; Savulescu *et al.*, 2015). Todas estas decisiones, siempre deben ajustarse a las leyes competentes de cada país, para no incurrir en un delito.

[4.3.5. Riesgos y posibles soluciones derivadas de las aplicaciones posibles de CRISPR](#)

Uno de los más importantes, es el relacionado con la seguridad, y eficacia de la técnica, de hecho, para una parte importante de la comunidad científica, este es el problema fundamental,

porque el principio de precaución no aconseja el uso de este tipo de técnicas sobre la línea germinal (Baltimore *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019). En la situación actual de la técnica plantear esta posibilidad sería irresponsable, y no ético, por las opciones tan bajas de conseguir el objetivo propuesto (Baltimore *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019). Algunos expertos consideran que estos parámetros nunca alcanzarán los valores adecuados con CRISPR y, además, consideran que las personas con opciones reales de beneficiarse, y dispuestas a ello serían tan pocas, que realmente no merecería la pena toda esa inversión realizada, por lo que ven poco realista el desarrollo de este tipo de terapias a nivel clínico (Greely, 2015).

Otro de los puntos de conflicto más debatidos, y discutidos desde las conferencias de Asilomar en 1975, es el posible uso de la modificación de la línea germinal humana, con fines malignos, bioterroristas, o incluso la destrucción de la especie humana (Clapper, 2016). Pero, hasta el desarrollo de CRISPR, este tipo de usos parecía imposible, por las complicaciones técnicas, y elevado precio de modificar cualquier genoma, especialmente uno tan complejo como el humano ("Germ-line gene therapy: To the crack of doom", 2015). La eficiencia, coste, y facilidad de hacerlo actualmente utilizando la edición genética mediante CRISPR/Cas9, hace que hoy en día sea una amenaza muy real (*The ISSCR Statement on Human Germline Genome Modification*, sin fecha; Consejo de Europa, 2015; Committee International Bioethics (UNESCO), 2015; European Group on Ethics, 2017). Debido a esto, en 2015, se reunieron varios de los mayores expertos en la materia, con la intención de reproducir unas nuevas conferencias de Asilomar (Baltimore *et al.*, 2015). De este encuentro, salió una propuesta de prohibir la investigación con estas técnicas sobre embriones humanos, con fines clínicos, la cual fue refrendada por el NIH (National Health Institute), aunque no con carácter retroactivo, sino hasta que algunos problemas éticos, y técnicos se solucionarán (*NIH Director on Human Gene Editing: «We Must Never Allow our Technology to Eclipse our Humanity» | Discover Magazine*, sin fecha; Reardon, 2015). En ningún momento, se prohibió este tipo de investigaciones, siempre que no fueran con un fin reproductivo, aunque se aconsejó a los científicos, mucho cuidado, y una extrema vigilancia sobre las mismas (Baltimore *et al.*, 2015; Reardon, 2015). Propuestas similares han recibido también la aprobación de Reino Unido, y la Unión Europea (*The ISSCR Statement on Human Germline Genome Modification*, sin fecha; Consejo de Europa, 2015; European Group on Ethics, 2017).

Teniendo en cuenta, todo lo expuesto hasta ahora, parece que la utilización de estas técnicas sobre células primordiales humanas no tendría excesivas ventajas, ¿no? Sin embargo, el beneficio posible que aportase dentro del campo de la salud sería enorme, al posibilitar la

erradicación de algunas enfermedades genéticas de causa conocida, y que son causa de mucho dolor y sufrimiento dentro de la sociedad, en especial para los pacientes, y su entorno social ("Why Embryos Should Not Be Off-Limits", 2015; *Crispr: is it a good idea to 'upgrade' our DNA?* / *Science* / *The Guardian*, sin fecha; *Can We Cure Genetic Diseases Without Slipping Into Eugenics?* / *The Nation*, sin fecha). Las de más fácil acceso a conseguir tales metas serían las enfermedades monogénicas, o causadas por un único gen, pero las posibilidades de influir en otras enfermedades con componentes genéticos, aunque no exclusivamente, como el Cáncer, el Parkinson, o el Alzheimer, es uno de los motivos por los que su uso futuro recibe en general buena acogida dentro del mundo académico (Ledford, 2019; Li *et al.*, 2019). Otros, por el contrario, piensan que, aunque, lograr estos objetivos sería maravilloso para la humanidad, el riesgo de ir demasiado lejos, y comenzar a modificar caracteres en la línea germinal sin fines terapéuticos, o lo que es lo mismo la eugenesia, es demasiado alto (*Can We Cure Genetic Diseases Without Slipping Into Eugenics?* / *The Nation*, sin fecha).

Este es uno de los temas de discusión más importantes dentro del ámbito de la bioética. Por un lado, se encuentra una postura mayoritaria opuesta a cualquier tipo de eugenesia, por considerarla o bien una forma de generar desigualdad, por las diferencias de acceso a la misma, o por sus problemas de seguridad, entre ellos la poca capacidad de predecir efectos adversos de la que se dispone, lo que podría provocar un menoscabo de la dignidad del ser humano, así como afectar a la supervivencia de la especie (*The ISSCR Statement on Human Germline Genome Modification*, sin fecha; Baltimore *et al.*, 2015; Committee International Bioethics (UNESCO), 2015). También existe dentro de esta postura opuesta, un grupo que se declara totalmente en contra de cualquier intervención sobre el embrión, por considerarlo un ente humano (Bellver V., 2016; European Group on Ethics, 2017), por lo que para ellos este tipo de modificaciones son impensables (Bellver V., 2016).

La postura favorable, por el contrario, sostiene que es nuestro deber moral mejorar nuestra especie, siempre que esto se pueda hacer con seguridad (Savulescu, 2012; Savulescu *et al.*, 2015). Sobre todo, el de los padres, ya que entre sus deberes se encuentra tratar de conseguir el mejor futuro posible a sus hijos no nacidos (Savulescu, 2012; Savulescu *et al.*, 2015). Aunque, no establece limitaciones, su idea fundamental, es la de lograr el mejor acervo genético para la especie, y posible para cada individuo, mejorando sustancialmente sus condiciones de vida (Savulescu, 2012; Savulescu *et al.*, 2015).

4.4. Problemas de la técnica que dificultan la resolución de estos dilemas. Posibles soluciones

La técnica CRISPR dista hoy en día, mucho de alcanzar la perfección necesaria para solucionar todos los conflictos éticos expuestos anteriormente. El objetivo de este apartado es profundizar en los más comunes, e importantes, los cuales perjudican su desarrollo actual.

4.4.1. Efectos off-target

El principal problema de la técnica CRISPR son los efectos off-target, debidos a que es posible que la nucleasa Cas 9, y el RNA guía dirijan su actividad de edición del genoma, contra secuencias muy similares a la objetivo, pero con otra función, pudiendo inactivar genes, o fragmentos de ADN con una actividad importante dentro de la célula, dando lugar a problemas genéticos de diversa importancia, desde malformaciones, o deficiencia metabólicas en plantas, a los mismos trastornos en animales o humanos, además, de un posible trastorno o enfermedad genética (Cho *et al.*, 2014; Chneiweiss *et al.*, 2017; Nadakuduti *et al.*, 2018).

Aunque el problema, es importante en plantas o animales, la mayor posibilidad de manipulación de sus genomas, debido a un menor número de restricciones, así como la posibilidad de conducir experimentos masivos sobre ellos, permite evaluar con una mayor exactitud los riesgos de estos efectos (Nadakuduti *et al.*, 2018). La posibilidad de descartar plantas o animales que los sufran, sin representar un gran conflicto ético es también un factor importante. Sin embargo, existe un pequeño riesgo, no por pequeño menos importante, de que estos efectos pasen desapercibidos en las pruebas moleculares, y analíticas realizadas sobre los organismos GMOs, debido a que pueden quedar protegidos por la condensación de la cromatina de la región afectada. Por tanto, pueden aparecer a lo largo de la vida de la planta, o incluso aparecer en su descendencia dependiendo de los cruzamientos realizados (Chneiweiss *et al.*, 2017; Nadakuduti *et al.*, 2018).

La solución actual a estos problemas es mantener un control sobre este tipo de organismos, una vez se ha aprobado su liberación intencional al ambiente (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001; Nadakuduti *et al.*, 2018). Con esto, se trata de corregir cualquier posible anomalía que haya podido surgir, y retirar inmediatamente cualquier posible GMO con alguna de estas anomalías (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2001; Nadakuduti *et al.*, 2018). Pero, aun así, deja mucho que desear, por lo que se están tratando de mejorar tantos los protocolos de detección, como mejorar el sistema actual para reducir este tipo de

efectos (Contributions, 2014; Doench, JohnFusi *et al.*, 2016; Kleinstiver, Pattanayak, Prew, Tsai, Nguyen, Zheng y Keith Joung, 2016).

El mismo problema sobre los seres humanos, es bastante más grave, por cuanto este tipo de efectos negativos, podrían afectar seriamente tanto a la condición como a la dignidad humana de los posibles receptores de este tipo de modificaciones (Consejo de Europa, 1994). También la complejidad de la especie humana complica el desarrollo de esta tecnología, sobre todo comparado con algunas especies de plantas, y animales (Liang *et al.*, 2015).

En humanos es, por tanto, imperativo diferenciar el objetivo de la intervención para saber si puede llegar a ser éticamente admisible hoy en día (Consejo de Europa, 1994; European Group on Ethics, 2017). Por ejemplo, las intervenciones con fines terapéuticos sobre células somáticas utilizando este sistema, merecen la pena pese a los riesgos, sobre todo cuando la enfermedad es grave, y no existe ningún otro tratamiento efectivo o eficaz para la misma, o si, pero por cualquier razón médica no es aplicable. Sin embargo, los riesgos de esa misma intervención solo con fines mejorativos, pese al avance de estas técnicas con respecto a las anteriores técnicas de modificación basadas en enzimas de restricción, o virus serían hoy en día inadmisibles para el beneficio esperado (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994). El mismo razonamiento sería válido para la línea germinal, si no existiera el riesgo de extender los posibles efectos adversos a la descendencia (Consejo de Europa, 1994; Baltimore *et al.*, 2015; Consejo de Europa, 2015; European Group on Ethics, 2017).

Aun cuando, se logrará reducir el problema de los efectos off-target hasta niveles que hicieran admisibles el uso de CRISPR para aplicaciones prohibidas actualmente, al superar la mayoría de inconvenientes éticos, a excepción de los de la inviolabilidad de la naturaleza, ya sea del embrión, o del medio ambiente, ya que dicho dilema es independiente a los riesgos y problemas de la técnica, seguirían existiendo algunos otros problemas técnicos que lo impedirían de no solucionarse también.

4.4.2. Posibilidad de una respuesta inmune contra elementos del sistema

El primero de ellos, es la posibilidad de una respuesta inmune contra elementos del sistema como la nucleasa Cas 9 (Charlesworth *et al.*, 2019). Este tipo de respuesta tendría una mayor relevancia sobre todo en las terapias génicas somáticas, ya que un organismo adulto tiene una mayor capacidad de respuesta inmune que una célula germinal, por lo que no afectaría tanto a los procesos de producción de GMOs en plantas, animales, u otros grupos taxonómicos (Charlesworth *et al.*, 2019).

La solución en desarrollo es buscar sistemas híbridos que provoquen una menor respuesta inmune, y reduzcan las posibilidades de que esta se produzca (Nishida *et al.*, 2016). Otra opción sería suministrar un inmunosupresor junto con el sistema, pero su uso puede ser incompatible con las enfermedades que se espera tratar con el sistema, por el estado inmunitario de los pacientes.

4.4.3. Aparición de daño genotóxico

Otro de ellos fundamental de cara a la efectividad del sistema, y prácticamente inabordable con las herramientas disponibles hoy en día, es la posibilidad de que las células reconozcan el daño genotóxico provocado por el efecto de la nucleasa implicada (Haapaniemi *et al.*, 2018; Ihry *et al.*, 2018). Este hecho desataría la activación de genes protectores contra el mismo, o proto-oncogenes, como p53. Su activación provoca la senescencia de las células afectadas (Haapaniemi *et al.*, 2018; Ihry *et al.*, 2018). El proceso de senescencia de células no se puede controlar sobre un organismo vivo, conduciendo normalmente a la apoptosis o muerte celular programada de esas células (Haapaniemi *et al.*, 2018; Ihry *et al.*, 2018).

Quizá el problema de más difícil solución cuando aparece por la complicación de solucionarlo, y la posibilidad de que pase inadvertido en los análisis, y pruebas moleculares sobre las células u organismos modificados con esta técnica, es la posibilidad de que al inducirse la maquinaria de reparación se produzcan reordenaciones cromosómicas de gran magnitud, las cuales pueden tener efectos impredecibles, e indeseables, con posibilidad de ser graves, sobre cualquier sistema compuesto por células, o sobre células individuales (Kosicki *et al.*, 2018).

Actualmente no existe ninguna solución, salvo una detección precoz de las células que presentan este problema, para eliminarlas, o deducir si puede extenderse como una respuesta generalizada (Kosicki *et al.*, 2018).

4.4.3. La problemática de la modificación de la línea germinal ¿Es CRISPR una solución?

Como se ha mencionado en el apartado de dilemas éticos y jurídicos, la modificación de la línea germinal es un tema muy espinoso, que complica dar una respuesta sobre si es éticamente correcto modificarla, no ya hoy en día donde los problemas de las técnicas empleadas actualmente lo hacen completamente inviable, si no en un futuro cercano, en que las mejoras técnicas lo hagan viable ("Why Embryos Should Not Be Off-Limits", 2015; «*Improving Humans with Customized Genes Sparks Debate among Scientists - Scientific American*, sin fecha; Ledford, 2019).

El desarrollo de la tecnología basada en el sistema de defensa bacteriano CRISPR-Cas, para la modificación genética, ha sido increíble en los últimos años. Su uso, se ha extendido por el mundo, apareciendo reflejado en el aumento del número de papers que tratan sobre el tema desde su primer uso documentado en el año 2012. El hecho de que ya se hayan identificado sus mayores problemas, y que actualmente, se esté realizando un gran esfuerzo investigador para solucionarlos, es demostrativo de la esperanza del mundo científico en las posibilidades de esta técnica (Contributions, 2014; Doench, JohnFusi *et al.*, 2016; Kleinstiver, Pattanayak, Prew, Tsai, Nguyen, Zheng y Joung, 2016) .

La sencillez de funcionamiento del sistema, junto con un rendimiento y efectividad espectaculares con respecto a sus técnicas predecesoras, hacen posible que su precio sea mucho menor ("Germ-line gene therapy: To the crack of doom", 2015; "Genome editing: The age of the red pen", 2015), eliminando una de las mayores objeciones a nivel jurídico, y ético de cualquier sistema previo, como es la igualdad de acceso a los beneficios de la ciencia, uno de los principios fundamentales recogidos en el Convenio de Oviedo (Informe Michaud). Actualmente, por tanto, es más un avance significativo que una solución a esta problemática, al reducir exponencialmente el riesgo de que su uso masivo sobre los seres humanos genere una humanidad de primera, y otra de segunda, por características genéticas, similar a la aparecida en el telefilme GATTACA (Van Dijke *et al.*, 2018).

Sin embargo, muchos de los problemas de modificar la línea germinal siguen presentes, por lo que es poco viable actualmente pensar que CRISPR será capaz de poner fin a años de divisiones en el mundo académico sobre esta problemática (Van Dijke *et al.*, 2018) . Pero, en mi opinión una vez se solucionen los problemas graves de seguridad de esta técnica, y tras un breve e intenso debate en el mundo académico, puede que esta tecnología se llegue a aplicar sobre la línea germinal humana con fines reproductivos (Savulescu *et al.*, 2015; Ledford, 2019).

Aunque, es muy probable que estas aplicaciones se encuentren muy limitadas por el hecho de que varios condicionantes éticos, como el estatus del embrión, el uso con fines malignos, o el mejoramiento injusto de una parte de la población, no son posibles de eliminar independientemente de las mejoras de la técnica («*Improving*» *Humans with Customized Genes Sparks Debate among Scientists - Scientific American*, sin fecha).

El hecho de si se van a producir estas mejoras en el grado requerido para autorizar los usos mencionados anteriormente, es también un gran tema de discusión académica, entre los

expertos en la materia, siendo un tema donde casi cualquier opinión al respecto es válida, ya que se carece de los datos suficientes para realizar una predicción concluyente.

De lo que cabe poca duda, es que la ciencia va a seguir avanzando para resolver estos problemas, aunque CRISPR puede que no sea el sistema que finalmente resuelva todos estos problemas, puede que aparezcan otros sistemas mejores, más perfeccionados, y que estos sean los responsables de solucionar este debate, al menos en la parte posible del mismo.

Quizá el aspecto más fundamental, de la pregunta aquí propuesta, es la inversión económica ya realizada, y futura que se viene realizando sobre estas técnicas, la cual ha alcanzado ya los cientos de millones de euros, solo en lo tocante a empresas de financiación privada ("Genome editing: The age of the red pen", 2015). Las patentes registradas sobre el uso del sistema y sus aplicaciones se valoran en millones de euros, y han sido fuente de conflicto entre los desarrolladores del sistema, y la empresas que han creado para explotarlas económicamente (Chneiweiss *et al.*, 2017).

Dicha inversión, y los resultados esperados de la misma son a la vez una oportunidad única para los científicos encargados de aprovecharlas, así como para la sociedad en general, pero también suponen un peligro, si empresas, administraciones o científicos deciden acelerar el proceso excesivamente, a la hora de conseguir la aprobación de sus productos, especialmente si se persiguen beneficios económicos. Por ello, es imperativo el correcto funcionamiento de las entidades reguladoras aplicando la legislación vigente, o modificándola para adaptarla al futuro.

Como no es complicado imaginar un futuro donde se pueda modificar la línea germinal humana, el dinero de esas inversiones espera a largo plazo obtener beneficios económicos de esas aplicaciones, constituyendo un fuerte grupo de presión para que CRISPR consiga finalmente derribar la prohibición de modificar la línea germinal humana (Bellver V., 2016).

Es verdad que hoy en día las empresas biotecnológicas proponen una moratoria de los usos de la edición genética sobre la línea germinal humana, pero esta puede ser revocada en un futuro, si sus inversiones, junto con el dinero público también invertido solucionan algunos de los problemas de este tipo de sistemas (Lanphier *et al.*, 2015).

[4.5. Planteamientos de posibles marcos reguladores con respecto a esta técnica](#)

Esta sección es puramente especulativa, y se trata más bien de un ejercicio teórico sobre cómo creo que deben ser modificadas las regulaciones actuales. Esto no quiere decir, que las minusvalore, sino que carezco del apoyo suficiente, al menos actualmente para tratar de

impulsar estas modificaciones en la sociedad, aunque bueno nunca uno sabe con certeza la acogida, y repercusión de las mismas.

Mi punto de vista gravitará sobre tres ejes fundamentales: (1) la aprobación por parte de todos los países de un protocolo de aprobación comercial específico de organismos editados genéticamente (Wasmer, 2019); (2) permitir una mayor libertad de investigación y de técnicas a aplicar en la investigación básica sobre la línea germinal humana (3) y por último, la educación de la ciudadanía sobre las ventajas de estas técnicas, ya que muchas veces solo se hace hincapié en sus riesgos, no en sus beneficios.

4.5.1. Protocolo unificado de aprobación

El primer punto de mi pensamiento se centra en un problema claro en la legislación actual, el cual, además, tiene pocos visos de solucionarse a corto plazo, tras la sentencia del **Tribunal de Justicia de la Unión Europea** en 2018 (Tribunal de Justicia de la Unión Europea., 2018), en la que establece que los organismos editados genéticamente deben estar sometidos a la misma legislación de los transgénicos convencionales dentro de la Unión (Tribunal de Justicia de la Unión Europea, 2018; Wasmer, 2019). Mientras esta sentencia mantenga su vigencia, poco importará el alto consenso científico existente mundialmente sobre la aprobación de una normativa equiparable sobre este tipo de organismos en todo el mundo (Tribunal de Justicia de la Unión Europea, 2018; Wasmer, 2019). Por tanto, la única solución posible si se quiere corregir el problema es la educación (la tercera pata de mi pensamiento), porque como un buen profesor mío me dijo una vez “la legislación no es más que la forma escrita del pensamiento mayoritario de un pueblo”.

No sería necesario añadir un protocolo específico para los usos en humanos, ya que la terapia génica, tanto en células somáticas como germinal, cualquier regulación de la misma, ya sea una ley, o una guía siempre busca el respeto de la dignidad humana de todos los individuos participantes, así como de su derecho a la información, y al consentimiento de la terapia propuesta (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994). Estos derechos son inherentes a cualquier tratamiento médico, y deben conservarse en cualquier propuesta de nueva legislación sobre esta temática (Informe Michaud; Consejo de Europa, 1994).

En el caso específico de la terapia génica somática, el cual es un procedimiento médico legal en todo el mundo. Su aplicación en determinadas enfermedades depende casi por completo del país en el que se viva, ya que requiere de un previo desarrollo investigador sobre la misma, y un buen centro donde aplicarlo (Greely, 2015). Por tanto, aunque aún puede desarrollarse para

utilizarse en una población más amplia, su regulación no debe sufrir muchos cambios significativos, a pesar del desarrollo de las nuevas técnicas de edición del genoma (Greely, 2015).

Por el contrario, la terapia génica germinal, así como cualquier otra modificación posible sobre la línea germinal humana, se encuentra totalmente prohibida para tratamientos médicos, o cualquier fin comercial (Consejo de Europa, 1994; Araki y Ishii, 2014; Chneiweiss *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019)

4.5.2. Unificación de las regulaciones en investigación básica sobre la línea germinal humana

En investigación básica, puede modificarse la línea germinal humana, aunque solo en algunos países, siempre y, cuando no dé lugar a un embarazo con posibilidades de llevarse a término (Araki y Ishii, 2014; Li *et al.*, 2019). El número de días en los que se puede mantener en cultivo embrión humano modificado por estas técnicas difiere entre los países, por lo general, se suele encontrar entre los 10, y los 14 días (Araki y Ishii, 2014; Li *et al.*, 2019).

Sobre este tipo de terapias es imperativo un cambio legislativo a nivel de investigación básica, a nivel global con el fin de establecer y regular las prácticas aplicadas por cada país (Baltimore *et al.*, 2015; Chneiweiss *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019). En mi opinión, ese cambio debería centrarse en aumentar la libertad de investigación, permitiendo tanto la generación de embriones humanos para la investigación, como el uso de sobrantes de la técnicas de reproducción asistida (Savulescu, 2012), así como facilitando la modificación de los mismos por CRISPR, u otras técnicas más novedosas que se puedan desarrollar, con el fin de realizar estudios de eficiencia, y seguridad de este tipo de modificaciones de cara a un posible salto a la clínica (Savulescu *et al.*, 2015) .

Aunque, este cambio es básico, creo que sería necesario endurecer los requisitos para trabajar con este tipo de células a este nivel, tanto a nivel académico, como de instalaciones, e incluso psicológico de los propios investigadores, para evitar más casos como el del científico chino He, que cometió la irresponsabilidad de crear los primeros humanos genéticamente modificados por CRISPR, en su línea germinal, saltándose todas las normas, y regulaciones internacionales sobre el tema, sin conocimiento de ningún organismo regulador internacional, o nacional (Li *et al.*, 2019).

Este cambio sería el primer paso para una remodelación más profundo con el tiempo, sobre la modificación de la línea germinal humana, permitiéndose su aplicación clínica, e incluso comercial, con el objetivo de reducir la aparición de problemas de salud, con un claro

componente genético, empezando por las enfermedades hereditarias monogénicas, hasta llegar a enfermedades tan complejas como el Cáncer o el Alzheimer (Li *et al.*, 2019).

4.5.3. Mejora de la educación de la ciudadanía sobre la ciencia

El problema de la desinformación o la emisión directa de noticias falsas (fake news) es un problema grave en la actualidad, como se ha podido comprobar con la pandemia actual del Covid-19. Los ataques a los estamentos, y avances científicos son comunes hoy en día, sobre todo si la ciencia no sigue los designios marcados por determinados grupos de presión. Aunque, este problema no es nuevo para las técnicas de modificación genética, ya que, desde sus primeras aplicaciones a finales de los años 70 del siglo pasado, ha recibido ataques desde diferentes grupos de presión, como los ecologistas o los grupos religiosos.

Para corregir dicho problema, se hace necesario concienciar a todo el estamento científico de la importancia de transmitir la relevancia de estas investigaciones a toda la población en general, así como desmontar los bulos generados por estos grupos, con el único fin de servir a sus intereses. Con esto, no quiero decir, que no se pueda hablar de los problemas reales de estas técnicas, ni que la población los desconozca, solo se trataría de concienciarse que el avance de la ciencia depende de la percepción mayoritaria de la población, y si la ciencia no tiene en cuenta los temores, y preocupaciones de la misma, es complicado conseguir los avances aquí propuestos.

5. Conclusiones

Para finalizar este TFG, me gustaría resaltar la diversidad de opiniones existentes en cuanto a la tecnología CRISPR/Cas, dentro de todos los ámbitos sociales y académicos. En general, todo el mundo está de acuerdo en resaltar sus mejora con respecto a los sistemas anteriores (Bellver V., 2016; Gómez-Tatay y Aznar, 2019). Sin embargo, la diversidad de opiniones persiste, ya que en muchos casos esta deriva de los conflictos, o dilemas éticos que plantean sus usos, no tanto de los problemas técnicos o metodológicos de esta nueva técnica (Gómez-Tatay *et al.*, 2015).

El hecho, por otra parte, de que exista este debate tanto a nivel académico como social, puede ser la base para que, en un futuro no muy lejano, se alcancen los mejores resultados posibles con este tipo de técnicas. Pero, para que esto ocurra el debate debe alcanzar instancias políticas que puedan llevar a la firma de nuevos convenios o leyes, para sustituir los preceptos desfasados, presentes en los actuales. Todos estos cambios, podrían ser capaces de mejorar la

calidad de vida, y su duración para un número abrumador de personas, si se cumplen las predicciones realizadas por los científicos que trabajan con este tipo de técnicas (Li *et al.*, 2019).

La existencia de múltiples regulaciones sobre estas técnicas, en casi cualquiera de sus ámbitos en diferentes partes del mundo, aunque estas no difieran mucho, es un problema fundamental en la percepción social que se tiene de las mismas, por las poblaciones menos informadas. También es un motivo de conflicto entre los científicos al comparar las posibilidades de que el fruto de su trabajo investigador pueda llegar a influir significativamente en la vida de la gente (Wasmer, 2019). Por ello, a mi juicio sería fundamental la firma de un convenio o legislación vinculante a nivel mundial sobre este tipo de tecnologías, para corregir esta situación de desigualdad manifiesta. La mentalidad lógica para enfrentar estas reuniones sería una mentalidad progresista (el principio de precaución) sobre este tipo de modificaciones del genoma, al ser una disciplina de rápido avance, en vez de, una mentalidad conservadora, que puede poner trabas o limitaciones a sus avances.

El problema para conseguir este deseo, parte fundamentalmente de la mentalidad de algunos grupos sociales, extremistas en cuanto a sus posturas sobre cualquier GMO, o la aplicación de CRISPR en humanos, ya que su ética personal, y de grupo la consideran atacada por la generación de este tipo de organismos (Bellver V., 2016). En muchos casos, son grupos con cierto poder de comunicación, e influencia en la sociedad en general. Son expertos en sembrar la semilla de la duda en la población dedicándose solo a resaltar los aspectos negativos de la edición genética. Por ello, si de verdad se quiere lograr este objetivo, es fundamental dar a la población una información veraz, que les permita formarse su propia idea sobre los usos, y aplicaciones de estas técnicas, así como de los problemas éticos que pueden conllevar.

Quizá, el aspecto más fundamental para lograr el cumplimiento de las esperanzas depositadas por una gran parte de la comunidad científica en este tipo de técnicas es la propia desunión en su seno, sobre la pertinencia de la extensión de determinados usos, desde los GMOs vegetales y animales, hasta sus aplicaciones sobre el ser humano (Baltimore *et al.*, 2015; Savulescu *et al.*, 2015; Wasmer, 2019), la cual tiene sus raíces en los problemas de seguridad de estas técnicas, sobre todo la poca capacidad de predicción de efectos a largo plazo de su uso (Baltimore *et al.*, 2015). El miedo a que pueden ser incorregibles, genera un gran temor en los científicos (Baltimore *et al.*, 2015). Esto se traduce en llamadas a la prudencia, e instauraciones de moratorias para algunos usos más problemáticos, como la modificación de la línea germinal

humana (Baltimore *et al.*, 2015). Estos efectos impredecibles, son la fuente de reparos éticos principal dentro de la comunidad.

Por eso es fundamental mejorar nuestro conocimiento sobre estas técnicas, y sus problemas, para eliminar, o reducir la amenaza de estos grupos extremistas, que en muchos casos aprovechan las disensiones entre la comunidad científica, para dotar de autoridad algunas de sus reclamaciones, aunque los motivos sean diametralmente opuestos.

Porque, como ha quedado demostrado con otros asuntos donde intervienen problemas o conflictos éticos, como la FIV, una vez los científicos están unidos en su apoyo, es muy probable que el resto de la sociedad los siga, aunque algunos dilemas o conflictos éticos puedan continuar, ya que el beneficio en este caso es mucho mayor que el riesgo. Sin embargo, esperar lograr este consenso en el corto plazo para la técnica CRISPR es más una quimera que una realidad, si no se logran avances espectaculares en sus problemas técnicos, y metodológicos. Aunque lograr tal cosa, no puede descartarse en absoluto, vistos los avances logrados hasta el momento, pese a los conflictos, y divisiones que genera tanto a nivel social como científico.

6. Referencias

6.1. Referencias doctrinales

Araki, M. y Ishii, T. (2014) "International regulatory landscape and integration of corrective genome editing into in vitro fertilization", *Reproductive biology and endocrinology*, 12(1), pp. 1-12.

Arora, L. y Narula, A. (2017) "Gene editing and crop improvement using CRISPR-cas9 system", *Frontiers in plant science*, 8(November).

Baltimore, D., Berg, P., Botchan, M., Carroll, D., Charo, R. A., Church, G., Corn, J. E., Daley, G. Q., Doudna, J. A., Fenner, M., Greely, H. T., Jinek, M., Martin, G. S., Penhoet, E., Puck, J., Sternberg, S. H., Weissman, J. S. y Yamamoto, K. R. (2015) "A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification", *Science*.

Bellver V. (2016) "La Revolución de la edición genética mediante CRISPR-Cas 9 y los desafíos éticos y regulatorios que comporta", *Cuadernos de bioética*, XXVII, pp. 223-239.

Can we cure genetic diseases without slipping into eugenics? | The nation (sin fecha). Disponible en: <https://www.thenation.com/article/archive/can-we-cure-genetic-diseases-without-slipping-into-eugenics/> (Accedido: 13 de junio de 2020).

Carlson, D. F., Lancto, C. A., Zang, B., Kim, E. S., Walton, M., Oldeschulte, D., Seabury, C., Sonstegard, T. S. y Fahrenkrug, S. C. (2016) "Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines", *Nature biotechnology*, 34(5), pp. 479-481.

Charlesworth, C. T., Deshpande, P. S., Dever, D. P., Camarena, J., Lemgart, V. T., Cromer, M. K., Vakulskas, C. A., Collingwood, M. A., Zhang, L., Bode, N. M., Behlke, M. A., Dejene, B., Cieniewicz, B., Romano, R., Lesch, B. J., Gomez-Ospina, N., Mantri, S., Pavel-Dinu, M., Weinberg, K. I. y Porteus, M. H. (2019) "Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans", *Nature medicine*, 25(2), pp. 249-254.

Chneiweiss, H., Hirsch, F., Montoliu, L., Müller, A. M., Fenet, S., Abecassis, M., Merchant, J., Baertschi, B., Botbol-Baum, M., Houghton, J. A., Kritikos, M., Mifsud, J., Bartnik, E., Rath, J., Druml, C., Friedrich, B., Carvalho, A. S., Lanzerath, D. y Saint-Raymond, A. (2017) "Fostering responsible research with genome editing

technologies: a European perspective", *Transgenic research*, 26(5), pp. 709-713.

Cho, S. W., Kim, S., Kim, Y., Kweon, J., Kim, H. S., Bae, S. y Kim, J. (2014) "Sup2", *Cold spring harbor laboratory press method*, pp. 132-141.

Concepción-Hernández, M. (2018) "CRISPR/Cas: aplicaciones y perspectivas para el mejoramiento genético de plantas", 18(3), pp. 135-149.

Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Hsu, P. D., Wu, X., Jiang, W. y Marraffini, L. a (2013) "multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems.", *Science (New York, N.Y.)*, 339(6121), pp. 819-823.

Contributions, A. (2014) "Improving CRISPR-Cas nuclease specificity using truncated guide RNAs developed the updated version of ZiFiT software", *Nature biotechnology*, 32(3), pp. 279-284.

David Cyranoski (2016) "CRISPR gene editing tested in a person", *Nature*, 539, p. 479.

Van Dijke, I., Bosch, L., Bredenoord, A. L., Cornel, M., Repping, S. y Hendriks, S. (2018) "The ethics of clinical applications of germline genome modification: A systematic review of reasons", *Human reproduction*, 33(9), pp. 1777-1796.

Doench, JohnFusi, N., Sullender, M., Hegde, M., Vaimberg, E. W., Donovan, K. F., Smith, I., Tothova, Z., Wilen, C., Orchard, R., Virgin, H. W., Listgarten, J. y Root, D. E. (2016) "Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9", *Nature biotechnology*, 34(2), pp. 184-191.

Gómez-Tatay, A. L., Mejías, I. y Observatorio, R. (2015) "Con_el_descubrimiento_de_CRISPR", 9(6).

Gómez-Tatay, L. y Aznar, J. (2019) "CRISPR-CAS9. El mayor avance en técnicas de edición genética requiere una reflexión ética", *Cuadernos de bioética : revista oficial de la Asociacion Espanola de Bioetica y Etica Medica*, 30(99), pp. 171-185.

Haapaniemi, E., Botla, S., Persson, J., Schmierer, B. y Taipale, J. (2018) "CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response", *Nature medicine*, 24(7), pp. 927-930.

Van Haperen, P. F., Gremmen, B. y Jacobs, J. (2010) "Shifting schemes of naturalness", en *Global food security: ethical and legal challenges: EurSafe 2010 Bilbao, Spain 16-18 September 2010*. doi:10.3921/978-90-8686-710-3.

Ihry, R. J., Worringer, K. A., Salick, M. R., Frias, E., Ho, D., Theriault, K., Kommineni, S., Chen, J., Sondey, M., Ye, C., Randhawa, R., Kulkarni, T., Yang, Z., McAllister, G., Russ, C., Reece-Hoyes, J., Forrester, W., Hoffman, G. R., Dolmetsch, R. y Kaykas, A. (2018) "P53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells", *Nature medicine*, 24(7), pp. 939-946.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A. y Charpentier, E. (2012) "A programmable dual-RNA – guided", 337(August), pp. 816-822.

Jinek, M., East, A., Cheng, A., Lin, S., Ma, E. y Doudna, J. (2013) "RNA-programmed genome editing in human cells", *eLife*, 2013(2), pp. 1-9.

Kleinstiver, B. P., Pattanayak, V., Prew, M. S., Tsai, S. Q., Nguyen, N. T., Zheng, Z. y Joung, J. K. (2016) "High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects", *Nature*, 529(7587), pp. 490-495.

Kosicki, M., Tomberg, K. y Bradley, A. (2018) "Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements", *Nature biotechnology*, 36(8).

Lanphier, E., Urnov, F., Haecker, S. E., Werner, M. y Smolenski, J. (2015) "Don't edit the human germ line", *Nature*. doi:10.1038/519410a.

Ledford, H. (2019) "CRISPR babies: when will the world be ready?", *Nature*, 570(7761), pp. 293-296.

Li, J. ru, Walker, S., Nie, J. bao y Zhang, X. qing (2019) "Experiments that led to the first gene-edited babies: the ethical failings and the urgent need for better governance", *Journal of Zhejiang university: Science B*, 20(1), pp. 32-38.

Liang, P., Xu, Y., Zhang, X., Ding, C., Huang, R., Zhang, Z., Lv, J., Xie, X., Chen, Y., Li, Y., Sun, Y., Bai, Y., Songyang, Z., Ma, W., Zhou, C. y Huang, J. (2015) "CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear

zygotes", *Protein and cell*, 6(5), pp. 363-372.

Mojica, F. J. M., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J. y Almendros, C. (2009) "Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system", *Microbiology*, 155(3), pp. 733-740.

Mojica, F. J. M., Díez-Villaseñor, C., Soria, E. y Juez, G. (2000) "Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria", *Molecular microbiology*, pp. 244-246.

Mojica, F. J. M., Ferrer, C. y Juez, G. (1995) "Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *Haloferax mediterranei* and *Haloferax volcanii* and could be involved in replicon partitioning", 17, pp. 85-93.

Mojica, F. J. M. y Juez, G. (1993) "Transcription at different salinities of *Haloferax mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites", 9, pp. 613-621.

Nadakuduti, S. S., Buell, C. R., Voytas, D. F., Starker, C. G. y Douches, D. S. (2018) "Genome editing for crop improvement - applications in clonally propagated polyploids with a focus on potato (*Solanum tuberosum* L.)", *Frontiers in plant science*, 9, p. 1607.

Nishida, K., Arazoe, T., Yachie, N., Banno, S., Kakimoto, M., Tabata, M., Mochizuki, M., Miyabe, A., Araki, M., Hara, K. Y., Shimatani, Z. y Kondo, A. (2016) "Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems", *Science*, 353(6305).

Reardon, S. (2015) "Gene-editing summit supports some research in human embryos", *Nature*. Springer Science and Business Media LLC. doi:10.1038/nature.2015.18947.

Salomé Lima, N., Gustavo Martínez, A., Victoria Soberón, M. y Isabel Cornejo Plaza, M. (2018) "Perspectivas de la edición genética (CRISPR/Cas9)", *Reproducción*, 33(4), pp. 33-37.

Savulescu, J. (2012) "¿ Decisiones peligrosas?: Una bioética desafiante". 1ª edición. Madrid: Tecnos.

Savulescu, J., Pugh, J., Douglas, T. y Gyngell, C. (2015) "The moral imperative to continue gene editing research on human embryos", *Protein and cell*, 6(7), pp. 476-479.

Soria, E. (2005) "Intervening sequences of Regularly Spaced Prokaryotic Repeats derive from foreign genetic elements", pp. 174-182. doi:10.1007/s00239-004-0046-3.

Sun, Y., Zhang, X., Wu, C., He, Y., Ma, Y., Hou, H., Guo, X., Du, W., Zhao, Y. y Xia, L. (2016) "Engineering herbicide-resistant rice plants through CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate Synthase", *Molecular plant*, 9(4), pp. 628-631.

Wasmer, M. (2019) "Roads forward for European GMO policy-uncertainties in wake of ECJ judgment have to be mitigated by regulatory reform", *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7(JUN), pp. 1-12.

Whitworth, K. M., Rowland, R. R. R., Ewen, C. L., Tribble, B. R., Kerrigan, M. A., Cino-Ozuna, A. G., Samuel, M. S., Lightner, J. E., McLaren, D. G., Mileham, A. J., Wells, K. D. y Prather, R. S. (2016) "Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus", *Nature biotechnology*, 34(1), pp. 20-22.

6.2. Otras fuentes

Crispr: is it a good idea to 'upgrade' our DNA? | Science | The Guardian (sin fecha). Disponible en: <https://www.theguardian.com/science/2015/may/10/crispr-genome-editing-dna-upgrade-technology-genetic-disease> (Accedido: 13 de junio de 2020).

Clapper, J. R. (2016) *Statement for the record worldwide threat assessment of the US Intelligence Community Senate Armed Services Committee*.

Consejo de Europa (1994) "A Council of Europe Convention for the protection of human rights and dignity of the human being with regard to the application of biology and medicine", *European journal of Health law*, 1(4), pp. 381-416.

Consejo de Europa (2015) "Final Statement on genome editing technologies adopted by the DH-BIO", (December), pp. 8-9.

Committee International Bioethics (UNESCO) (2015) "Concept note on updating the Ibc ' S Reflection on the Human Genome and Human Rights", *Unesco*, (May 2014).

Conference, I., Harmonisation, O. N., Technical, O. F., For, R., Of, R., For, P. y Use, H. (2014) "Requirements for registration of pharmaceuticals for human use - guidelines for elemental impurities", *ICH harmonised guidelines*, 8(December).

European Group on Ethics (2017) "European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) statement on gene editing", *Jahrbuch für Wissenschaft und ethik*, 21(1). doi:10.1515/jwiet-2017-0114.

"Genome editing: The age of the red pen" (2015) *Economist (United Kingdom)*, 411(8948).

"Germ-line gene therapy: To the crack of doom" (2015) *Economist (United Kingdom)*.

Gobierno de España (2010) "Ley Orgánica 2/2010", *Boletín Oficial del Estado*, 4 de marzo, pp. 1-15.

Gobierno de España (2011) "Ley 14/2011, de 1 de junio, de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación", *Boletín Oficial del Estado*, 2 de junio pp. 1-67.

Greely, H. T. (2015) *Of science, CRISPR-Cas9, and Asilomar - law and biosciences blog - Stanford law school, Stanford center for law and the biosciences*. Disponible en: <https://law.stanford.edu/2015/04/04/of-science-crispr-cas9-and-asilomar/> (Accedido: 14 de junio de 2020).

Informe Michaud", pp. 399-430.

«Improving» *Humans with Customized Genes Sparks Debate among Scientists - Scientific American* (sin fecha). Disponible en: <https://www.scientificamerican.com/article/improving-humans-with-customized-genes-sparks-debate-among-scientists1/> (Accedido: 14 de junio de 2020).

NIH Director on Human Gene Editing: «We Must Never Allow our Technology to Eclipse our Humanity» | Discover Magazine (sin fecha). Disponible en: <https://www.discovermagazine.com/health/nih-director-on-human-gene-editing-we-must-never-allow-our-technology-to> (Accedido: 13 de junio de 2020).

Parlamento europeo y Consejo de la Unión Europea (2001) "Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de marzo de 2001 sobre la liberación internacional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE del Consejo", *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 17 de abril (106), pp. 1-38.

The ISSCR Statement on Human Germline Genome Modification (sin fecha). Disponible en: <https://www.isscr.org/news-publicationsss/isscr-news-articles/article-listing/2015/03/19/statement-on-human-germline-genome-modification> (Accedido: 14 de junio de 2020).

Tribunal de Justicia de la Unión Europea. (2018) "Sentencia del 25 de julio sobre el asunto C-528/16" pp. 1-18.

"Why Embryos should not be off-limits" (2015) *Scientific american*. Springer Nature, 313(1), pp. 10-10. doi:10.1038/scientificamerican0715-10.