

ARTÍCULO DE REVISIÓN

CRISPR/CAS 9: innovaciones terapéuticas en cáncer desde una perspectiva genética.

Martínez Enriquez Areli¹Bujanda Sandoval David Aarón²Noriega Avitia Ana Karen³Luna González Yazmin Marisol²Mejía Carmona Gloria Erika⁴**RESUMEN**

La terapia genética ha sido una prometedora herramienta en la medicina moderna para el tratamiento de una gran variedad de patologías; desde aquellas que tienen un factor genético en su etiología hasta enfermedades heterogéneas como las neoplasias malignas. La presente revisión pretende difundir las novedades en el campo de la biomedicina molecular de la técnica CRISPR implementado en cáncer y enfermedades como leucemia, β -hemoglobinopatías y distrofias musculares. Dicho sistema, ligado a la proteína CAS 9, representa una innovación terapéutica que ha permitido la comprensión de la edición genética con resultados favorables que abordan desde el restablecimiento de la función de genes supresores tumorales hasta la inhibición de genes mutados. Con el fin de que CRISPR/ CAS 9 pueda implementarse en el campo médico, se sugiere que futuras investigaciones centren su atención en el desarrollo de vectores eficientes que brinden una mayor seguridad y estabilidad a la técnica; así mismo, resulta indispensable la construcción de un consenso internacional que regule su aplicación para evitar conflictos bioéticos, ya que CRISPR/ CAS 9 se ha convertido en una herramienta prometedora para ciertas enfermedades prevalentes mundialmente.

PALABRAS CLAVE:

CRISPR, Cáncer, Terapia Genética, Oncogenes, Neoplasias.

ABSTRACT

Gene therapy has been a powerful tool in modern medicine for the treatment of a wide variety of pathologies; from those with a genetic factor in their etiology to those heterogeneous diseases such as cancer. This review aims to advise the newness in the molecular biomedicine discipline of CRISPR applied in cancer and other diseases like leukemia, β -hemoglobinopathies, and muscular dystrophies. This system, linked with the protein CAS 9, has been a representative therapeutic innovation that has allowed the comprehension of genome editing in the biomolecular field with notable outcomes from restoring the function of tumor suppressor genes up to inhibition of mutated genes. For CRISPR/ CAS 9 to be implemented in the medical field, it is suggested that future research centers its attention on the development of a safe and stable technique by exploring more efficient vectors. In addition, it is imperative the establishment of an international consensus to regulate its implementation to elude bioethical disturbances as CRISPR/ CAS 9 has become an auspicious tool for some prevalent diseases worldwide.

KEY WORDS: (5; MeSH)

CRISPR, Cancer, Genetic Therapy, Oncogenes, Neoplasms.

CORRESPONDENCIA

: Martínez Enriquez Areli Manuel
Díaz H. no. 518-B Zona Pronaf
Condominio, 32315 Ciudad
Juárez, Chihuahua, México. +52
(656) 374 68 05.
areli01.martinez@gmail.com

1. Estudiante de Medicina. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas. Departamento de investigación de Tertulia.
2. Estudiante de Medicina. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas.
3. Estudiante de Odontología. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas.
4. Docente en la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Instituto de Ciencias Biomédicas. Doctorado en Ciencias en Biomedicina Molecular

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen un sinnúmero de padecimientos que carecen de un tratamiento eficaz, así como enfermedades altamente resistentes a la única línea de tratamiento disponible, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevos enfoques tanto terapéuticos como diagnósticos. Desde que se obtuvo la secuencia del genoma humano, se han visualizado múltiples usos y aplicaciones, pero principalmente se ha soñado con su modificación, lo que ha impulsado el desarrollo de diversas técnicas y campos de investigación. Una de esas investigaciones llevó al descubrimiento de un mecanismo de defensa adaptativo bacteriano dentro del *Streptococcus pyogenes*, el cual consiste en una matriz de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR). Esta es una secuencia dentro del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano con secuencias cortas y repetidas en intervalos entre los cuales se encuentran fragmentos de ADN pertenecientes a un virus invasor, dichas secuencias pueden leerse en ambas direcciones y se encuentran asociadas a una proteína nucleasa llamada CAS 9.^{1,2}

Este sistema actúa mediante tres etapas: Adaptación, biogénesis del ácido ribonucleico (ARN) CRISPR e interferencia. Durante la adaptación se inserta un espaciador que proviene del material genético de un virus invasor dando lugar a la biogénesis de ARN CRISPR, donde la matriz CRISPR se transcribe como ácido ribonucleico de CRISPR (crARN), proceso que tiene como resultado la cadena de ARN que guiará a la proteína CAS hacia su cadena complementaria; es decir, a la secuencia del ADN invadido. Por último, ocurre la interferencia en donde el crARN unido a la proteína CAS 9 reconocerá las secuencias invasoras y se hará un corte para separarlas del ADN bacteriano.¹

Para que el sistema sea llevado a una célula diana, se requiere de un vehículo. Estos vehículos pueden ser virales o físicos; como adenovirus y lentivirus modificados e inactivados, pero con el potencial de integrar el sistema sin generar una infección. Entre los vehículos físicos se encuentran: la electroporación, las microinyecciones y de manera más reciente la lipofección, que presenta una eficacia muy prometedora por el uso de nanotecnología.²

Al comprender la función de este mecanismo se ha buscado su implementación en el tratamiento de diversos padecimientos. Sin embargo, diversos autores han manifestado controversias en cuanto a su bioseguridad, por lo que se han desarrollado variantes metodológicas

que favorecen a la especificidad y estabilidad del procedimiento al inducir determinadas vías de reparación celular posterior a la utilización de la técnica. Así, se ha concluido que CRISPR/ CAS 9 representa una herramienta para modificar el ADN genómico de una manera segura, precisa y controlada.^{3,4,5}

La presente revisión pretende difundir el conocimiento actual de la técnica innovadora CRISPR/ CAS 9 y su aplicación terapéutica en relación a las neoplasias malignas más prevalentes a nivel global como cáncer de mamá, pulmonar, colorrectal y hepatocarcinoma. También, se brindará información sobre su implementación en diferentes entidades patológicas de etiologías genéticas como las β -hemoglobinopatías y las distrofias musculares. A pesar de sus limitaciones actuales y controversias bioéticas, dicha innovación posee un potencial cautivador, sobre todo para aquellos investigadores en el ámbito genético y molecular.

DESARROLLO

En 2020, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se registraron un total de 19,292,789 nuevos casos de cáncer, donde el cáncer de mama (CA de mama) encabeza la lista con una incidencia del 11.72%, seguido por el cáncer de pulmón (CP) con 11.4%, cáncer colorrectal (CCR) correspondiente a un 10% y finalmente, el hepatocarcinoma (HCC) con un 4.69%. En México, las principales causas de mortalidad asociadas a neoplasias se enlistan de la siguiente manera: CA de mama (8.79%), CCR (8.6%), HCC (7.95%) y CP (7.87%).^{6,7}

Dentro de la terapéutica convencional para el cáncer, se abarca desde la cirugía hasta el trasplante de células madre; sin embargo, se sigue innovando en este ámbito con el objetivo de proporcionar alternativas menos invasivas y más efectivas. Dentro de los principales avances, se encuentran los nanoportadores y la terapia molecular dirigida. Los primeros han tenido relevancia en el carcinoma hepatocelular avanzado, al ser sistemas capaces de transportar agentes dirigidos a los hepatocitos modificados. La terapia molecular dirigida hace referencia al uso de fármacos u otras sustancias que inciden en moléculas específicas para bloquear el crecimiento y propagación de células tumorales; un ejemplo relevante es el tratamiento para cáncer pulmonar con Erlotinib, aprobado por la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos.^{8,9,10}

No obstante, CRISPR/ CAS 9 brinda un nuevo enfoque desde la perspectiva genética para

explorar terapias orientadas a los diferentes tipos de cáncer; tal es el caso del CA de mama, en el cual se ha identificado la expresión del receptor de estrógeno (ER) y/o receptor epidérmico humano 2 del factor de crecimiento (HER2); debido a esto, múltiples esquemas terapéuticos han implementado tratamientos endocrinos que comúnmente presentan resistencia. Así pues, CRISPR/ CAS 9 representa una alternativa al incurrir en la función de dichos oncogenes inactivándolos a través de la intercepción de los dominios funcionales de HER2 y ER.^{11, 12, 13}

De la misma forma, otro tipo de resistencia al tratamiento de las células de CA de mama ocurre al presentarse una exposición constante a agentes quimioterapéuticos. Afortunadamente, se han identificado los mecanismos que ocasionan dicha falla terapéutica, como la aberración de transportadores ABC en el caso de la glicoproteína P sintetizada a partir del gen MDR1. Yinnan y Yanmin en 2018 experimentaron con doxorubicina mediante la técnica CRISPR/ CAS 9 dirigida al gen MDR1, obteniendo como resultado una mejoría en la respuesta a dicho fármaco.¹¹

Por otro lado, en el CP la lobectomía pulmonar es la primera opción terapéutica, por lo que la innovación en este campo ha sido un tema de gran atención dentro del gremio médico. En 2016, la revista *Nature* publicó la primera intervención de linfocitos genéticamente modificados en un paciente con CP realizada por un grupo de investigadores de la Universidad de Sichuan en China. Dicha estrategia terapéutica tenía el objetivo de promover la respuesta inmune para eliminar las células neoplásicas, pues la inactivación del gen que codifica la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1, por sus siglas en inglés) de los linfocitos mediante la tecnología CRISPR/ CAS 9 tuvo como consecuencia la activación de las células T para reconocer las células tumorales, ralentizando así la progresión del cáncer.^{14, 15}

Una revisión de la literatura dirigida por Markeshaw y cols. (2021), menciona la implementación de CRISPR asociado a un ARN guía acompañado de la proteína CAS 9, con el objetivo de buscar la secuencia del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) mutado, para que CAS 9 escinda el ADN inhibiendo a EGFR, lo que incrementó la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase I; mejorando así la identificación de las células tumorales por los linfocitos citotóxicos y propiciando su muerte celular.²

Otra entidad patológica notable es el CCR, cuya etiología es multifactorial al involucrar estilo de vida, obesidad y factores tanto genéticos como epigenéticos. Takeda y cols. (2019) evidenciaron genes candidatos de CCR en los que se incluían: *Acvr2a*, *Acvr1b*, *Ror2*, *Spen* y *Arid2*. Dichos genes fueron editados por CRISPR/ CAS 9 e insertados en los enterocitos de modelos murinos, permitiendo su identificación como supresores tumorales que juegan un papel importante en la metástasis de células neoplásicas mutadas con Trp53 y aquellas con mutación en el receptor de activina y TGF- β (factor de crecimiento transformante β) que, sinérgicamente, promueven la génesis tumoral. De este modo, la restauración o ganancia de función de los genes supresores tumorales afectados en CCR representa una estrategia terapéutica con un prospecto favorable.^{16, 17, 18, 19}

Otro factor genético involucrado en la patología y metástasis tumoral de CCR es la proteína similar de partición defectuosa 3 (Par3L), que compromete la mitosis celular asimétrica interfiriendo en la autorrenovación de la progenie celular. Se ha observado una relación entre la hiperexpresión de Par3L y etapas avanzadas de cáncer, metástasis y tumores de gran tamaño en el CCR. Li y cols. (2017) usaron el sistema CRISPR/ CAS 9 con el objetivo de investigar la función de Par3L en células de CCR al disminuir su expresión; obteniendo como resultado una regulación en la proliferación celular por la inducción de apoptosis.^{20, 21}

A pesar de que las mutaciones genéticas representan un factor etiológico predisponente para el desarrollo de CCR, también se ha confirmado que los receptores hepatocelulares productores de eritropoyetina (EPH); los cuales se detectan en diferentes tipos de cáncer; juegan un papel importante en la oncogénesis. No obstante, la información disponible sobre la función reguladora de EPHA 1 relacionada con CCR, se ha vinculado con la carcinogénesis y propuesto como un nuevo blanco farmacológico. Wu y cols. (2016) emplearon CRISPR/ CAS 9 para investigar el rol de EPHA 1 en la proliferación, migración e invasión celular a otros tejidos (en este caso células del ano) en CCR al disminuir su expresión en la línea celular de adenocarcinoma HRT 18. Posteriormente, se verificó la delección mediante la reacción en cadena de la polimerasa confirmando niveles reducidos de EPHA 1 en las células HRT. Dichas células aumentaron su capacidad de adhesión y propagación en contraste con células control, representando una controversia con la literatura previa al estudio, por lo que se hipotetiza que EPHA 1 tiene funciones diferentes

dependiendo del tipo celular donde se encuentre expresada.²²

Por otra parte, se han iniciado líneas de investigación ligadas a CRISPR/ CAS 9 en el HCC donde Zhang y cols. (2019) utilizaron un modelo de ratón con xenoinjerto para estudiar la acción de CRISPR/ CAS 9 sobre el dominio SET de unión al receptor nuclear (NSD1), los cuales son metiltransferasas que suelen encontrarse sobre expresadas en distintos tipos de cáncer, dando como resultado la inhibición de la proliferación, migración e invasión celular de HCC *in vitro* e *in vivo*.²³

En cambio, Jingcai y cols. (2018) basaron su investigación en el receptor nuclear coactivador (NCOA5), que modula la transcripción del receptor de estrógeno alfa o ER- α , con actividad en la tumorigénesis y en el pronóstico de diferentes tipos de cáncer. En este estudio se empleó CRISPR/ CAS 9 en dos líneas celulares de HCC para eliminar NCOA5; donde se descubrió que su inactivación inhibe la proliferación celular, formación de microesferas tumorales y la migración en las células de HCC. Además, se observó que la eliminación de NCOA5 suprimió la transición epitelial mesenquimal de las células, provocando una proliferación y migración celular deteriorada.²⁴

En otro modelo experimental se empleó una variante de CAS 9 desactivada catalíticamente (dCas9) con el fin de evitar rupturas del ADN genómico, las cuales tenían como blanco el gen de la granulina en el extremo C terminal con 3 supresores de genes: DNMT3a (DNA metiltransferasa), EZH2 (hitona 3 lisina 27 metiltransferasa) y KRAB (el dominio de represión transcripcional de Krüper). La granulina es un mitógeno pluripotencial y factor de crecimiento que promueve la progresión del cáncer al mantener la capacidad regeneradora de los hepatocitos modificados, por lo que su eliminación provocó un decremento en la abundancia de células Hep3B (cancerosas).²⁵

CRISPR/ CAS 9 y otras patologías

Las patologías genéticas siempre han sido las más retadoras para el gremio médico; dentro de este campo destacan las β -hemoglobinopatías, principalmente la anemia de células falciformes y la β -talasemia; que son las enfermedades monogénicas más comunes con una incidencia anual de aproximadamente 330,000 recién nacidos, de los cuales el 83% son diagnosticados con anemia falciforme y un 17% con β -talasemia a nivel global. Estudios recientes por Frangoul y cols. (2021) describen la implementación de CRISPR/ CAS 9 en

dos pacientes: el primero con diagnóstico de β -talasemia y el segundo con anemia de células falciformes. Utilizaron una terapia autóloga de edición génica conocida como CTX001, la cual es una terapia en investigación que utiliza el CRISPR/ CAS 9 en células madre y progenitoras hematopoyéticas CD34+ que fueron editadas para reactivar la producción de hemoglobina fetal. Después del procedimiento, ambos pacientes obtuvieron como resultado aumentos acelerados, sustanciales y sostenidos en los niveles de hemoglobina fetal con más del 99% de pancelaridad dentro de un período de 12 meses.^{26, 27}

Entre otras series de enfermedades de origen hereditario sobresalen las distrofias musculares, que presentan pérdida de masa y debilidad muscular progresiva que llega a comprometer la musculatura de los sistemas respiratorio, cardíaco y nervioso. Dentro de las distrofinopatías, las dos más comunes son la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) y la de Becker (BMD) que poseen una etiopatogenia similar, ya que ambas presentan una alteración en el gen de la proteína distrofina o gen DMD, que cumple con funciones importantes como el mantenimiento de la membrana plasmática de los rhabdomiocitos y la estabilización de la glicoproteína distrofina. Por consiguiente, la ausencia de dicha proteína estructural conduce al daño y muerte celular de fibras musculares, provocando una degeneración progresiva y una acumulación fibroadipogénica dentro del músculo.^{28, 29}

Las líneas de investigación con el sistema CRISPR/ CAS 9 en relación a las distrofias, dirigen su búsqueda a la supresión de la mutación-delección en los genes implicados en dichos desórdenes con el fin de restaurar el marco de lectura de los elementos faltantes. Las investigaciones recientes reportan estudios asociados con los vectores de virus adenoasociados AAV (serotipo 8 o 9) para administrar los componentes de la técnica *in vivo*, ya sea por vía intramuscular, intraperitoneal o intravenosa a fin de eliminar el exón mutado 23 del gen DMD en el genoma de ratones. Dichos estudios confirmaron la restauración de la proteína afectada después de la intervención con CRISPR mediante técnicas de Inmunotinción y Western Blot.^{30, 31}

Por otro lado, el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) ha consternado a la humanidad por varios años y su tratamiento se limita al control de la enfermedad. Uno de estos tratamientos es denominado "despertar y golpear" (*shock and kill*) y consiste en la reactivación de los reservorios virales latentes del VIH-1 a través de Agentes Reactivadores de la Latencia (LRA, por sus siglas en inglés) y posteriormente la inducción

de apoptosis en células infectadas a través de un antirretroviral junto con la acción del sistema inmunológico del individuo. Desde el 2013 se iniciaron investigaciones con el sistema CRISPR/CAS 9, aplicándolo con éxito para suprimir la expresión de genes del VIH-1 en líneas celulares Jurkat, las cuales permitieron explorar si los tratamientos analizados eran capaces de ejercer un efecto, dirigiéndose a la repetición terminal larga del VIH-1.³²

Por otra parte, en el año 2018, el científico He Jiankui anunció el nacimiento de dos gemelas genéticamente modificadas, en las que se eliminó el gen CCR5 (C-C quimiocina receptora de tipo 5) con el propósito de crear resistencia al VIH, viruela y cólera. El CCR5 es un co-receptor indispensable en el proceso de infección por VIH, pues ayuda a fusionar su membrana con las células huésped (células dendríticas y linfocitos T CD4+) e introducir su material genético; sin embargo, este suceso causó gran motín debido a las inconformidades éticas.³³

Asimismo, las líneas de investigación con CRISPR/CAS 9, se han enfocado en innovar los tratamientos disponibles para la leucemia; la cual cursa con una alteración en el ciclo celular junto a una diferenciación aberrante de células madre mieloides que puede manifestarse en pacientes con alguna alteración hematológica o bien de manera espontánea. En 2020, la OMS registró una prevalencia de leucemia del 72.5% en la población mexicana con una incidencia del 69.9% y una mortalidad del 68.5%.^{34, 35, 36, 37}

Dentro de las líneas de investigación, se han logrado reconocer genes indispensables para la patogenia de la Leucemia Mieloide Aguda, entre los que destaca el gen de la enzima eliminadora de ARNm (DCPS, por sus siglas en inglés) que ha permitido establecer un nuevo esquema de tratamiento al aplicar el inhibidor DCPS RG3039; utilizado para el tratamiento de la atrofia muscular; produciendo un retraso en la multiplicación de células leucémicas. En un estudio terapéutico sobre subtipos de leucemia, se habla especialmente de la Leucemia Linfoblástica Aguda y se propone la utilización de CRISPR/CAS 9 para incidir en la unión anormal de los genes BCR—ABL1 (codificante de este subtipo), formada por la proteína p210. La presencia de dichos genes en células mieloides normales representa un riesgo de fracaso de la técnica, ya que al eliminarlos se pueden provocar múltiples modificaciones fenotípicas, por lo que se propone la eliminación específica de la proteína de unión (p210) sin afectar la integridad de los genes. Tan y cols. (2019) aplicaron esta técnica en modelos murinos obteniendo un resultado alentador, especialmente para casos que presentan

resistencia a los tratamientos convencionales; sin embargo, este estudio permanece en desarrollo, pues la técnica de vector lentiviral requiere optimizaciones para lograr resultados efectivos en la totalidad de las células afectadas, ya que existe el riesgo de recidiva por la proliferación de ciertas células malignas sobrevivientes posterior a la intervención con CRISPR/CAS 9.^{38, 39}

DILEMAS ÉTICOS EN EL USO DE CRISPR

CRISPR ha sido significativamente recibida por su utilidad y aplicación dentro de la edición genómica en tejidos específicos, modelos animales (comprensión y estudio de enfermedades), mutaciones genéticas, estudios epigenéticos, innovación de inteligencia artificial, control y manejo de enfermedades e infecciones, así como en el tratamiento de las patologías anteriormente mencionadas, sin limitarse a aplicaciones posteriores. De esta manera se piensa como idea y verdad absoluta que CRISPR es un método esperanzador por ser una técnica precisa, específica y factible por los resultados mayormente positivos en sus investigaciones. A pesar de dichos argumentos, CRISPR no ha sido exenta de críticas en cuanto a dilemas bioéticos, jurídicos y sociales por los principios racionales que trascienden en los hábitos y costumbres de la sociedad, lo que justifica un amplio debate social.⁴⁰

Hoy en día, dentro de los debates éticos con mayor impacto se encuentra el uso de CRISPR en embriones humanos, donde no toma como punto principal la terapia génica, sino la falta de claridad sobre el estado del embrión. La comunidad científica argumenta que es éticamente inconcebible realizar estudios en embriones, ya que estos no cuentan con un consentimiento informado para comprender los beneficios y riesgos al ser sometidos a una técnica que no está completamente desarrollada. Sin embargo, el Instituto Nacional de Salud fundamenta que la aplicación de CRISPR debe tener la perspectiva de un beneficio directo para el feto y el consentimiento tanto materno como paterno.^{41, 42}

Así mismo, se cuestiona la edición de la línea germinal, la cual consiste en someter modificaciones en gametos y embriones con fines de eugenesia para mejorar las capacidades o rasgos hereditarios. Esta práctica podría tener como consecuencia la esterilización obligatoria y la propagación de políticas de discriminación racial; además de que estas modificaciones persistirán en próximas generaciones, poniendo como debate y preocupación la falta de consentimiento informado que puede impactar negativamente en personas

con discapacidad (asociadas a variantes genéticas), juicios de negligencia de los padres por decidir la realización de edición genómica y preocupaciones religiosas. El disputar los dilemas éticos, ventajas y desventajas de la tecnología CRISPR, permitirá redireccionar su optimización y salvaguardar su desarrollo para una aplicación segura en humanos, así como la innovación de métodos en la ingeniería genética.^{41, 43}

CONCLUSIÓN

Tras la revisión de diferentes panoramas patológicos en los que es posible utilizar CRISPR/CAS 9, resalta su implementación en el área oncológica para el manejo terapéutico de algunas neoplasias malignas prevalentes a nivel mundial; tal es el caso del CA de mama, en donde la técnica incide en HER2 y ER o bien, se dirige al gen MDR1. Así mismo, es factible su uso en CP al activar linfocitos T capaces de reconocer células tumorales y para inhibir el gen mutado del EGFR. De igual manera, se describe su utilización en CCR restableciendo la función de genes supresores tumorales y disminuyendo la expresión de Par3L. Finalmente, se hizo una revisión de CRISPR aplicado en HCC en donde se inhibe su proliferación y metástasis, dirigiéndose a NSD1, NCOA5 y el gen de la granulina. Expresado lo anterior, esta técnica

biomédica representa un futuro prometedor para la terapéutica en una amplia gama de enfermedades, confiriendo un panorama genético que sin lugar a duda será el arquetipo de las nuevas generaciones en esquemas de tratamiento. Sin embargo, aún es necesario que futuras investigaciones se centren en el desarrollo de vectores biológicos y sintéticos para obtener una eficacia definitiva y brindar una óptima seguridad y confianza en su implementación. Si bien, múltiples investigaciones enfocadas en la ejecución de la técnica han arrojado resultados esperanzadores, resulta indispensable trabajar en consensos internacionales para regular su aplicación, respondiendo así a las problemáticas bioéticas y confiriendo una mayor aceptación e implementación de la tecnología CRISPR/ CAS 9.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos a la doctora Mejía Carmona y Gloria Erika por sus comentarios y correcciones en la edición final del artículo.

REFERENCIAS

1. Sganzerla A, Pessini L. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. *Saúde em Debate* [Internet]. 2020 [Consultado el 05 de abril de 2021];44(125):527–40. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/sdeb/a/8z84LrTTPq6Xzr77D3jtWDG/?lang=pt>
2. Markeshaw T y cols. Current Applications and Future Perspectives of CRISPR-cas9 for the Treatment of Lung Cancer. *Biologics* [Internet]. 2021 [Consultado el 10 de mayo de 2021]; 15: 199-204. DOI: 10.2147/BTT.s310312. PMID: 34103894.
3. Han Y y cols. Methods Favoring Homology-Directed Repair Choice in Response to CRISPR/Cas9 Induced-Double Strand Breaks. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 [Consultado el 15 de mayo de 2021]; 21 (15): 6461. DOI: 10.2290/ijms21186461. PMID: 32899704.
4. Matsumoto D, Tamamura H, Nomura W. A cell cycle-dependent CRISPR-Cas9 activation system based on an anti-CRISPR protein shows improved genome editing accuracy. *Communications Biology* [Internet]. 2020 [Consultado el 30 de abril de 2021]; 601. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7584632/>
5. Geisinger J, Stearns T. CRISPR/Cas9 treatment causes extended TP53-dependent cell cycle arrest in human cells. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2020 [Consultado el 09 de mayo de 2021]; 48 (16):9067–9081. DOI: 10.1093/nar/gkaa603. PMID: 32687165.
6. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of new cases in 2020, worldwide, both sexes, all ages, Cancer Today. Global Cancer Observatory [Internet]. 2020 [Consultado 15 de Julio de 2021]. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1
7. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of new cases in 2020, Mexico, both sexes, all ages, Cancer Today. Global Cancer Observatory [Internet]. 2020 [Consultado el 15 de Julio de 2021]. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=484&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1#collapse-group-0-1
8. Yeuan T, Yi J, Chern E. Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. *Eur J Pharmacol.* [Internet]. 2018 [consultado el 28 de septiembre de 2021]; 834:188-96. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.07.034. PMID: 30031797.
9. Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [Internet]. 2015 [consultado el 28 de septiembre de 2021];93:52-79. DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.03.018
10. American Cancer Society. Information and Resources about Cancer: Breast, Colon, Lung, Prostate, Skin [Internet]. Tipos de tratamiento. 2021 [consultado el 28 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento.html>
11. Yinnan C & Yanmin Z. Application of the CRISPR/Cas9 System to Drug Resistance in Breast Cancer. *Adv Sci (Weinh)* [Internet]. 2018 [consultado el 01 de octubre de 2021]; 5 (6): 1700964. DOI: 10.1002/adv.201700964. PMID: 29938175.
12. Dekkers J y cols. Modeling Breast Cancer Using CRISPR-Cas9–Mediated Engineering of Human Breast Organoids. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2020 [consultado el 01 de octubre de 2021]; 112 (5): 540-544. DOI: 10.1093/jnci/djz196. PMID: 31589320.
13. Korkmaz G y cols. A CRISPR-Cas9 screen identifies essential CTCF anchor sites for estrogen receptor-driven breast cancer cell proliferation. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2019 [consultado el 30 de

- septiembre de 2021]; 47 (18): 9557-9572. DOI: 10.1093/nar/gkz675. PMID: 31372638.
14. Castillo, A. Edición de genes usando CRISPR-Cas9 para el tratamiento del cáncer de pulmón. *Colomb Med* [Internet]. 2016 [consultado el 10 de agosto de 2021]; 47 (4). ISSN: 1657-9534. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1657-95342016000400178&script=sci_arttext&lng=es
 15. Midthun D. Overview of the initial treatment and prognosis of lung cancer. Lilenbaum RC, editor. *UpToDate* [Internet]. 2021 [Consultado el 19 de octubre de 2021]. Disponible en: www.uptodate.com
 16. Brenner H, Kloor M, Pox C. Colorectal cancer. *The Lancet* [Internet]. 2013 [Consultado el 24 de Julio de 2021]; 383 (9927): 1490–1502. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61649-9.
 17. Dekker E y cols. Colorectal cancer. *The Lancet* [Internet]. 2019 [Consultado el 24 de Julio de 2021]; 294 (1027): 1467-80. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
 18. Juárez C, Rosales M. Cáncer colorrectal (CCR): alteraciones genéticas y moleculares. *Gac Med Mex* [Internet]. 2014 [Consultado el 26 de Julio de 2021]; 150 (2): 154-164. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=49339>
 19. Takeda H y cols. CRISPR-Cas9-mediated gene knockout in intestinal tumor organoids provides functional validation for colorectal cancer driver genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2019 [Consultado el 26 de Julio de 2021]; 116 (31): 15635-15644. DOI: 10.1073/pnas.1904714116. PMID: 31300537.
 20. Jan YJ y cols. Expression of partitioning defective 3 (Par-3) for predicting extrahepatic metastasis and survival with hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2013 [Consultado el 26 de Julio de 2021]; 14(1):1684-1697. DOI: 10.3390/ijms14011684. PMID: 23322019.
 21. Li T y cols. Par3L enhances colorectal cancer cell survival by inhibiting Lkb1/AMPK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2017 [Consultado el 16 de Julio de 2021]; 482(4): 1037-1041. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.11.154. PMID: 27908725.
 22. Wu B y cols. Knockdown of EPHA 1 by CRISPR/CAS9 Promotes Adhesion and Motility of HRT18 Colorectal Carcinoma Cells. *Anticancer Research. Anticancer Res* [Internet]. 2016 [Consultado el 26 de Julio de 2021]; 36 (3): 1211-1219. PMID: 26977017.
 23. Zhang S y cols. CRISPR/Cas9-mediated knockout of NSD1 suppresses the hepatocellular carcinoma development via the NSD1/H3/Wnt10b signaling pathway. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* [Internet]. 2019 [consultado el 28 de septiembre de 2021]; 467. DOI: 10.1186/s13046-019-1462-y
 24. Jingcai H y cols. Knockout of NCOA5 impairs proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells by suppressing epithelial-to-mesenchymal transition. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [Internet]. 2018 [consultado el 28 de septiembre de 2021]; 500 (2): 117-183. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.017
 25. Wang H y cols. Epigenetic Targeting of Granulin in Hepatoma Cells by Synthetic CRISPR dCas9 Epi-suppressors. *Molecular Therapy Nucleic Acids* [Internet]. 2018 [consultado el 28 de septiembre de 2021];11:23-33. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.01.002
 26. Frangoul H y cols. CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 [consultado el 17 de septiembre de 2021]; DOI: 10.1056/NEJMoa2031054.
 27. Le Rhun A y cols. CRISPR-Cas in *Streptococcus pyogenes*. *RNA Biol* [Internet]. 2019 [consultado el 16 de agosto de 2021];16(4):380–9. DOI: 10.1080/15476286.2019.1582974. PMID: 30856357.
 28. Carter J, Sheehan D, Prochoroff A, & Birnkrant D. Muscular Dystrophies. *Clin Chest Med* [Internet]. 2018 [Consultado el 18 Septiembre 2021]; 39 (2): 377–389. DOI: 10.1016/j.ccm.2018.01.004.
 29. Duan D y cols. Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2021 [consultado el 20 de octubre de 2021]; 7 (13). DOI: 10.1038/s41572-021-00248-3
 30. Ortez C y cols. Avances en el tratamiento de la distrofia de Duchenne. *Medicina (B. Aires)* [Internet]. 2019 [consultado el 28 de septiembre de 2021]; 79(3): 77-81. ISSN: 1669-9106. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script>

- =sci_arttext&pid=S0025-76802019000700017&lng=es.
31. Kemaladewi D y cols. A mutation-independent approach for muscular dystrophy via upregulation of a modifier gene. *Nature* [Internet]. 2019 [consultado el 28 de septiembre de 2021]; 572: 125-30. DOI: 10.1038/s41586-019-1430-x
 32. Xiao Q, Guo D, Chen S. Application of CRISPR/Cas9-Based Gene Editing in HIV-1/AIDS Therapy. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2019 [consultado el 28 de agosto de 2021]; 9:69. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00069. PMID: 30968001.
 33. Martínez-Oliva B. Crispr, una herramienta para editar genomas. *Gac Med Bol* [Internet]. 2020 [consultado el 29 de septiembre de 2021]; 43 (2): 179-83 Disponible en: <https://www.gacetamedicaboliviana.com/index.php/gmb/article/view/66>
 34. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of new cases in 2020, leukemia, both sexes, all ages. *Cancer Today*. Global Cancer Observatory [Internet]. 2021 [Consultado el 15 de octubre de 2021]. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=36&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=7&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=15&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&population_group_list=84,188,222,320,340,484,558,591&alf_pie=0&donut=0&population_group_globocan_id=916
 35. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of deaths in 2020, leukemia, both sexes, all ages. *Cancer Today*. Global Cancer Observatory [Internet]. 2021 [Consultado el 15 de octubre de 2021]. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=36&type=1&statistic=5&prevalence=0&population_group=7&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=15&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&population_group_list=84,188,222,320,340,484,558,591&alf_pie=0&donut=0&population_group_globocan_id=916
 36. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of prevalent cases (5-years) in 2020, leukemia, both sexes, all ages. *Cancer Today*. Global Cancer Observatory [Internet]. 2021 [Consultado el 15 de octubre de 2021]. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=36&type=2&statistic=5&prevalence=1&population_group=7&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=15&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&population_group_list=84,188,222,320,340,484,558,591&alf_pie=0&donut=0&population_group_globocan_id=916
 37. De Kouchkovsky I & Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer J* [Internet]. 2016 [Consultado el 15 de octubre de 2021]; 6 (7): 441. DOI: 10.1038/bcj.2016.50. PMID: 27367478.
 38. Yamauchi T y cols. Genome-wide CRISPR-Cas9 Screen Identifies Leukemia-Specific Dependence on a Pre-mRNA Metabolic Pathway Regulated by DCPS. *Cancer Cell* [Internet]. 2018 [Consultado el 20 de agosto de 2021]; 33 (3): 386-400. e5. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.01.012. PMID: 29478914.
 39. Tan YT y cols. CRISPR/Cas9-mediated gene deletion efficiently retards the progression of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia in a p210 BCR-ABL^{T315I} mutation mouse model. *Haematológica* [Internet]. 2020 [Consultado el 20 de octubre de 2021]; 105 (5): 232-236. DOI: 10.3324/haematol.2019.229013. PMID: 31537693.
 40. Bergel S. El impacto ético de las nuevas tecnologías de edición genética. *Revista Bioética* [Internet]. 2017 [Consultado el 19 Julio 2021]; 25 (3): 454-461. ISSN 1983-8034. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/1983-80422017253202>.
 41. Brokowski C, Adli M. CRISPR Ethics: Moral Considerations for Applications of a Powerful Tool. *J Mol Biol* [Internet]. 2018 [Consultado el 19 de Julio de 2021]; 431 (1): 88-101. DOI:

- 10.1016/j.jmb.2018.05.044. PMID:
29885329.
42. Coller B. Ethics of Human Genome Editing. Annual Review of Medicine. Annual Reviews [Internet]. 2019. [Consultado el 19 Julio de 2021]; 70: 289-305. DOI: 10.1146/annurev-med-112717-094629.
43. Gómez L & Aznar J. CRISPR-CAS9. El mayor avance en técnicas de edición genética requiere una reflexión ética. Dialnet [Internet]. 2018 [Consultado el 19 de Julio de 2021]; 20 (99): 171-185. ISSN: 2386-3773. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7035731>