



Revisión

Enfermedad de células falciformes y sistema CRISPR/Cas como herramienta terapéutica. Una revisión narrativa

*Sickle cell disease and CRISPR/Cas as a therapeutic tool. A narrative review*Ingrid Chantal Márquez-Vega,¹ Javier Eden Mata-Rosas² y Beatriz Hernández-Monjaraz^{3*}¹ Pasante de Servicio Social de la Carrera Cirujano Dentista, FES Zaragoza, UNAM.² Médico Interno de Pregrado de la Carrera Médico Cirujano, FES Zaragoza, UNAM.³ Profesora de la carrera Cirujano Dentista, FES Zaragoza, UNAM.

RESUMEN

Introducción. La enfermedad de células falciformes (ECF) consiste en un grupo de trastornos de índole hereditario que afectan a la hemoglobina de los eritrocitos. La mutación en un gen afecta la molécula de la hemoglobina y causa que los eritrocitos se deformen y tengan aspecto de media luna, causando que sean poco flexibles y lleguen a obstruir los vasos sanguíneos. Las personas con esta enfermedad pueden sufrir dolor crónico, problemas pulmonares, infecciones o renopatías. Existen diferentes alternativas paliativas de tratamiento, pero recientemente se ha propuesto el uso del sistema CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats que significa "Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas Regularmente Interespaciadas y CRISPR-associated que significa "Genes asociados a CRISPR) como una alternativa. **Objetivo.** Describir como CRISPR-Cas puede ser una alternativa al tratamiento de la ECF. **Desarrollo.** El sistema CRISPR/Cas ha revolucionado el tratamiento, permitiendo modificar células troncales hematopoyéticas para reactivar la producción de hemoglobina fetal. Esto ha llevado al desarrollo de terapias como Exa-cel, aprobada por la FDA, que utiliza CRISPR/Cas9 para tratar β -talasemia y la enfermedad de células falciformes grave, mejorando la independencia de transfusiones y reduciendo complicaciones. **Conclusión.** El uso de CRISPR/Cas para tratar la ECF que se manifiesta entre los pacientes afectados por un cambio en la funcionalidad de la hemoglobina, es un excelente ejemplo de cómo la innovación en la edición genética cambiará por completo la forma en que se enfocan los trastornos hereditarios.

Palabras clave: Hemoglobinopatías, drepanocitosis, β -hemoglobinopatías, endonucleasas guiadas por ARN, Ingeniería del Genoma.

ABSTRACT

Introduction. Sickle cell disease (SCD) consists of a group of inherited disorders that affect the hemoglobin of red blood cells. The mutation in a gene affects the hemoglobin molecule and causes red blood cells to become deformed and crescent-shaped, causing them to be inflexible and obstruct blood vessels. People with this disease may suffer from chronic pain, lung problems, infections, or kidney disease. There are different palliative treatment alternatives, but recently the use of the CRISPR-Cas system (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) has been proposed as an alternative. **Aim.** To describe how CRISPR-Cas can be an alternative to the treatment of SCD. **Development.** The CRISPR/Cas system has revolutionized treatment, allowing hematopoietic stem cells to be modified to reactivate the production of fetal hemoglobin. This has led to the development of therapies such as FDA-approved Exa-cel, which uses CRISPR/Cas9 to treat β -thalassemia and severe sickle cell disease, improving transfusion independence and reducing complications. **Conclusion.** The use of CRISPR/Cas to treat SCD that manifests among patients affected by a change in hemoglobin functionality is an excellent example of how innovation in gene editing will completely change the way inherited disorders are approached.

Keywords: Hemoglobinopathies, sickle cell disease, β -hemoglobinopathies, RNA-guided endonucleases, Genome Engineering.

Correspondencia: Beatriz Hernández-Monjaraz

E.mail: beatrizhmonjaraz@comunidad.unam.mx

Artículo recibido: 23 de septiembre de 2024

Artículo aceptado: 7 de diciembre de 2024

Márquez-Vega IC, Mata-Rosas JE y Hernández-Monjaraz B. Enfermedad de células falciformes y sistema CRISPR/Cas como herramienta terapéutica. Una revisión narrativa. CyRS. 2024; 6(2): 85-95. <https://doi.org/10.22201/fesz.26831422e.2024.6.2.5>



INTRODUCCIÓN

La hemoglobina es una proteína con múltiples funciones, entre las que destacan el metabolismo del óxido nítrico, la regulación del pH y el mantenimiento del equilibrio redox. Sin embargo, su función principal es el transporte de oxígeno hacia los tejidos mediante su capacidad de unirse de manera reversible a las moléculas de oxígeno en los pulmones y liberarlas en los tejidos periféricos según sus necesidades metabólicas. La hemoglobina adulta (HbA) está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas: dos subunidades α y dos subunidades β , organizadas en dos dímeros α/β . Entre estas, las subunidades β desempeñan un papel crucial como principal transportador de oxígeno.¹

Las enfermedades que afectan la estructura, función o producción de la hemoglobina se conocen como hemoglobinopatías. Estas son trastornos genéticos de origen monogénico, es decir, causados por mutaciones en un solo gen, que alteran la expresión o el funcionamiento normal de la hemoglobina. Las hemoglobinopatías son de las enfermedades hereditarias más comunes, ya que afectan al 7% de la población mundial.² Se estima que más de 300,000 recién nacidos al año presentan alguna hemoglobinopatía, de estos el 17% padecen talasemia y el 83% enfermedad de células falciformes (ECF).³ Ambas enfermedades comparten la característica de que la subunidad β de la hemoglobina está alterada lo que le confiere el nombre a este tipo de enfermedades como β -hemoglobinopatías y donde el gen que se ve afectado es el que codifica la β -globina (HBB).^{2,3} En este manuscrito nos enfocaremos a la ECF.

ENFERMEDAD DE CÉLULAS FALCIFORMES

La ECF, también conocida como drepanocitosis, es hereditaria y se caracteriza por una patogenia asociada a la polimerización de la hemoglobina falciforme (HbS). Esta condición es causada por la sustitución de un ácido glutámico por valina en la posición 6 de la cadena de β -globina. La HbS, debido a su baja solubilidad y constante polimerización, provoca hemólisis, drepanocitosis y vaso oclusión, lo que eventualmente puede desencadenar daño multiorgánico.⁴

Algo importante a considerar es que solo la HbS desoxigenada es capaz de polimerizarse, es decir, se ve favorecida en ciertas condiciones, como una presión parcial de oxígeno (PaO_2) baja o la afinidad reducida de

la hemoglobina al oxígeno. Razón por la cual la formación de polímeros HbS se da principalmente en las vénulas poscapilares el sitio de mayor actividad, así como tejidos que retienen eritrocitos a una baja PaO_2 como la médula renal y el bazo.⁵

La HbS desoxigenada deforma los eritrocitos, dándoles su característica forma falciforme. Esta alteración tiene repercusión en las propiedades físicas de los eritrocitos, reduciendo su elasticidad y promoviendo la pérdida de cationes y agua, lo que perpetua la deshidratación celular que favorece que continúe la polimerización de HbS.⁶ Además de ello estos polímeros interrumpen el flujo sanguíneo tanto en la microvasculatura como en los grandes vasos, contribuyendo en la vasooclusión y daño tisular en órganos como el bazo, riñones y cerebro.⁴

Otro efecto de la HbS es la exposición de la fosfatidilserina en la superficie de los eritrocitos, promoviendo la interacción con leucocitos, plaquetas y células endoteliales.⁷ Esta interacción activa la cascada de coagulación condicionando un estado proinflamatorio y bloqueando el flujo sanguíneo, generando crisis vaso oclusivas que provocan dolor agudo, inflamación e isquemia, cuando dichas crisis son crónicas contribuyen a la pérdida progresiva de la función de órganos diana.⁶

La vida útil de los eritrocitos se reduce aproximadamente 30 días, causando anemia hemolítica.⁸ La hemólisis está asociada con complicaciones como hipertensión pulmonar, priapismo, úlceras en piernas, proteinuria y accidentes cerebrovasculares.⁹ Además, este proceso libera hemoglobina libre y hemo en el plasma que además de activar el sistema inmune innato, eliminan óxido nítrico, reduciendo su efecto vasodilatador lo que promueve la vasoconstricción, formación de trombos e inflamación.¹⁰ Cuando esta última se vuelve crónica aumenta la adhesión de leucocitos y plaquetas, lo que prolonga la hipoxia y exacerba las crisis de vasooclusión.⁹

TRATAMIENTOS CONTRA LA ENFERMEDAD DE CÉLULAS FALCIFORMES

Actualmente, existen múltiples tratamientos enfocados a prevenir las complicaciones de la ECF y a tratar sus síntomas (Cuadro 1).

La detección temprana de la ECF es crucial para prevenir complicaciones, secuelas como el deterioro cognitivo y en general para mejorar la calidad de vida de

los pacientes.¹¹ Se recomienda implementar protocolos obligatorios de tamizaje en recién nacidos y niños menores de tres meses, ya que un diagnóstico oportuno permite iniciar medidas preventivas como la educación de los familiares para comprender la enfermedad y sus cuidados esenciales.¹² La vacunación contra el neumococo es vital debido a la susceptibilidad aumentada a infecciones graves en estos pacientes; las vacunas conjugadas han mostrado ser más eficaces en reducir el riesgo en todas las edades.¹³

El manejo del dolor, especialmente durante las crisis vaso oclusivas, incluye hidratación adecuada y analgesia multimodal, que puede combinar analgésicos no opioides y opioides como la morfina, ajustados a la intensidad del dolor.¹⁴ La hidroxiurea, como tratamiento de primera línea, reduce las crisis vaso oclusivas y la necesidad de transfusiones, mejorando significativamente la morbilidad.¹⁵

Adicionalmente, la glutamina ayuda a prevenir el estrés metabólico y las crisis dolorosas.¹⁶ Mientras que las transfusiones periódicas y el trasplante de células madre alogénicas son opciones terapéuticas avanzadas que pueden mitigar las complicaciones o incluso curar la enfermedad en casos seleccionados, sin embargo, este tiene la desventaja de que depende de la disponibilidad de un donante compatible con antígeno leucocitario humano (HLA) y posteriormente la administración de fármacos inmunosupresores, con el fin de evitar complicaciones asociadas al trasplante.¹⁷

Por otra parte, se ha demostrado que la hemoglobina fetal (HbF) puede modular la ECF, ya que no puede incorporarse al polímero de HbS, lo que reduce la concentración media de HbS corpuscular.¹⁸ En este sentido, la HbF es una forma de hemoglobina que predomina durante la vida intrauterina. Después del nacimiento, su producción disminuye de manera gradual y es reemplazada por la HbA. Está compuesta por dos subunidades α y dos subunidades γ , organizadas en dímeros $\alpha\gamma$, lo que la diferencia estructuralmente de la HbA, que se organiza en dímeros $\alpha\beta$.¹⁸

CRISPR/CAS UN TRATAMIENTO NOVEDOSO CONTRA LA ECF

Entre los tratamientos emergentes para la ECF se encuentra el uso de la terapia génica, en específico el uso del sistema CRISPR/Cas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/associated Proteins*). La

“CRISPR-associated” es la “proteína asociada a CRISPR.”¹⁹ Esta es una poderosa herramienta de edición genética que ha sido resultado del trabajo de numerosos grupos de científicos alrededor del planeta.²⁰⁻²⁸

Este sistema génico está presente de forma natural tanto en bacterias y arqueas donde funciona como un mecanismo de inmunidad adaptativa que les permite defenderse de virus y otros elementos genéticos invasores al “recordar” y desactivar material genético extraño.²⁹ Al igual que la inmunidad adaptativa en los mamíferos, este sistema tiene especificidad, diversidad y memoria. Utiliza secuencias de ARN (ARNcr) para identificar el ADN invasor y se adapta de manera sencilla, logrando una especificidad sin necesidad de múltiples etapas de selección (como en los mamíferos). La diversidad se basa en la adquisición de secuencias de ADN invasor que se heredan tras la división bacteriana, ofreciendo a la descendencia una memoria inmunológica.³⁰

Desde su descubrimiento en 2005 el CRISPR-Cas ha sido objeto de interés en la investigación biomédica por su capacidad para editar genes, abriendo oportunidades revolucionarias en genética, biotecnología y medicina.²³

Los sistemas CRISPR pueden clasificarse en dos clases principales según la actividad de las proteínas efectoras que los componen.³¹ Los sistemas de clase 1 están formados por complejos multiproteicos en los que cada proteína cumple una función específica dentro del proceso. Estos sistemas se caracterizan por la formación de un complejo unido al crRNA conocido como “complejo asociado a CRISPR de defensa antiviral” o *Cascade*.³² Este complejo tiene la función de reconocer secuencias de ADN invasoras y reclutar una nucleasa Cas para realizar el corte correspondiente.³¹

Por otro lado, los sistemas CRISPR de clase 2 operan mediante una única proteína multidominio que se asocia con una secuencia de ARN para formar un ARN guía (gRNA). El gRNA consta de dos componentes esenciales: el crRNA, que proporciona especificidad y selectividad hacia el ADN diana, y una región de ARN no codificante que facilita la unión del gRNA a la proteína efectora Cas.³³ Este proceso induce cambios estructurales en la proteína efectora, lo que lleva a la formación de un complejo ribonucleoproteico de vigilancia encargado de escanear los ácidos nucleicos y seleccionar secuencias complementarias al crRNA para su posterior degradación.³¹



Cuadro 1. Estudios sobre terapias para disminuir las secuelas de la enfermedad de células falciformes

Autor (año)	Objetivo	Características de la población	Tipo de tratamiento	Hallazgos
Gluckman <i>et al.</i> (2017) ⁴⁰	Evaluar el efecto del TACTH en pacientes con ECF.	N=1000 pacientes (niños n = 846 y adultos n = 154) con ECF que se sometieron a un TACTH antes del 2013 a nivel mundial.	TACTH donado por hermano con HLA idéntico, las células troncales se obtuvieron de la médula ósea o sangre periférica.	La supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global a 5 años fue de 95% en pacientes menores de 16 años, del 80% en mayores de 16; también encontraron un 10% de muerte después de los 5 años por complicaciones relacionadas con el trasplante y el riesgo potencial de EICH, lo que confirma que la edad es un factor pronóstico significativo tanto para la supervivencia global como para la supervivencia libre de enfermedad.
Meerpohl <i>et al.</i> (2014) ⁴¹	Evaluar la efectividad y la seguridad del deferasirox oral en pacientes con ECF y sobrecarga de hierro secundaria.	N= 415 pacientes con ECF tratados con quelantes de hierro.	Administración de deferasirox y la deferoxamina como terapia de quelación de hierro.	La derivación temprana para el trasplante puede disminuir riesgos de una EICH aguda más alta y aumenta la probabilidad de la supervivencia a largo plazo. La eliminación de hierro fue mejor con deferoxamina, sin embargo, se observaron mayores efectos adversos con este tratamiento. Mientras que inocuidad del deferasirox es aceptable, reduce la concentración de hierro del hígado y presenta menos efectos adversos.
Howard <i>et al.</i> (2021) ⁴²	Evaluar la eficacia y seguridad y los cambios en las concentraciones de hemoglobina y hemólisis tras el consumo de voxelotor a las 72 semanas.	N= 449 pacientes de 12 a 65 años con ECF.	Administración de voxelotor 1,500 mg (n = 90), al grupo de voxelotor 900 mg (n = 92) o al grupo placebo (n = 92).	El consumo de 1,500mg de Voxelotor produjo mejoras rápidas y duraderas en las concentraciones de hemoglobina mantenidas durante 72 semanas y reduce la morbilidad de la anemia hemolítica como consecuencia de la ECF y crisis vasooclusivas .

Cuadro 1. Estudios sobre terapias para disminuir las secuelas de la enfermedad de células falciformes

Autor (año)	Objetivo	Características de la población	Tipo de tratamiento	Hallazgos
Alonso <i>et al.</i> (2019) ⁴⁴	Conocer los resultados del alo-TPH en pacientes pediátricos con ECF realizados en unidades de trasplante hematopoyético pediátrico incluidas dentro del Grupo Español de Trasplante de Médula Ósea en Niños (GETMON).	N=65 pacientes pediátricos con ECF de GETMON.	alo-TPH en 6 unidades GETMON entre noviembre de 1989 y diciembre de 2014.	La supervivencia libre de eventos 3 años ~ postrasplante fue del 79% y la supervivencia global del 85% en pacientes con ECF. Los resultados serie son comparables a los resultados de otros estudios internacionales y ofrecen un punto de partida para continuar intentando mejorar la evolución de estos pacientes.
Kanter <i>et al.</i> (2024) ⁴⁵	Evaluar la farmacocinética, la farmacodinamia (inhibición de la P-selectina), la seguridad y la eficacia de crizanlizumab, con o sin hidroxiurea/hidroxycarbamida, en pacientes con ECF.	N=57 pacientes con ECF de entre 16 y 70 años, con más de 1 CVO en el último año.	Administración de infusión intravenosa de crizanlizumab 5,0 (n=45) o 7,5 (n=12) mg/kg cada 4 semanas.	Se encontró una inhibición de la P-Selectina en ambas dosis, hubo una reducción de las visitas a la atención médica por CVO siendo mayor con la dosis de 7.5mg/kg, en ambas dosis hubo efectos adversos. El perfil de seguridad del fármaco es tolerable. El crizanlizumab es una opción de tratamiento útil para los pacientes con ECF que han experimentado COV.
Dampier <i>et al.</i> (2023) ⁴⁶	Evaluar la eficacia del rivipansel para mejorar el flujo sanguíneo en CVO midiendo el tiempo hasta la preparación para el alta hospitalaria.	N=345 pacientes con ECF hospitalizados por CVO que requerían tratamiento con analgésicos opioides intravenosos de 6 años en adelante.	Administración de dosis intravenosas de rivipansel, n = 173; placebo, n = 172 después de la primera dosis de opioide IV	La E-selectina disminuyó un 61 % y el tratamiento con rivipansel fue bien tolerado, sin embargo no mostró una mejoría en comparación con placebo en el tiempo medio hasta la preparación para el alta, de tiempo hasta el alta y tiempo hasta la interrupción de los opioides intravenosos. El uso de rivipansel en etapas tempranas de la CVO pareció acortar la duración de la hospitalización



Cuadro 1. Estudios sobre terapias para disminuir las secuelas de la enfermedad de células falciformes

Autor (año)	Objetivo	Características de la población	Tipo de tratamiento	Hallazgos
Ataga <i>et al.</i> (2017) ⁴⁷	Determinar la eficacia y seguridad del crizanlizumab en las CVO evaluando la tasa anual de crisis de dolor relacionadas con ECF y los tiempos hasta la primera y segunda crisis.	N=198 pacientes con ECF de 16- 65 años con 2-10 CVO en el último año, con o sin tratamiento de hidroxiurea.	Administración de crizanlizumab en dosis baja (2,5mg/kg) crizanlizumab en dosis alta (5,0 mg/kg) o placebo, administrados por vía intravenosa por 52 semanas.	El inhibidor de la P-selectina crizanlizumab redujo la tasa de CVO anual en un 32,1 % en dosis altas entre los pacientes que recibieron hidroxiurea y un 50,0 % más baja entre los pacientes que no recibieron hidroxiurea. Además, los tiempos hasta la primera y la segunda crisis fue de dos a tres veces más larga en los pacientes que recibieron dosis altas de crizanlizumab, y se encontró una baja incidencia de efectos adversos.
Rankine-Mullings <i>et al.</i> (2022) ⁴⁸	Determinar si el uso de hidroxiurea en personas con ECF altera el patrón de los eventos agudos: dolor; previene, retrasa o revierte la disfunción de los órganos; altera la mortalidad y la calidad de vida; o se asocia con efectos adversos.	N= 1104 adultos y niños con ECF.	Tratamiento con hidroxiurea en cualquier presentación y dosis, en comparación con placebo o tratamiento estándar (sin placebo) durante períodos de un mes o más.	La hidroxiurea podría ser efectiva para reducir la frecuencia de los episodios de dolor, para prevenir los eventos neurológicos potencialmente mortales. Sin embargo, todavía no hay evidencia suficiente sobre los efectos beneficiosos de la hidroxiurea a largo plazo. Los efectos adversos no están bien reportados.
Onalo <i>et al.</i> (2022) ⁴⁹	Evaluar el impacto de la suplementación con l -arginina en la hemodinámica cardiopulmonar en niños hospitalizados con CVO y STA.	N=66 pacientes de 5 a 17 años con ECF hospitalizados por CVO y/o ACS, que manifiesten dolor severo.	Administración de l -arginina oral (n=35) o placebo (n=31) El fármaco o placebo se disolvió en jugo de uva roja y se administraron 300 mg/kg/d durante 5 días o hasta el alta.	Se encontró que la suplementación oral con arginina se asoció con una disminución 18,4% mayor en la VRT que el placebo. Se sugieren beneficios de la terapia con arginina para adultos y niños con ECF que experimentan un VRT elevado. La l -arginina puede desempeñar un papel importante en la mejora de la hemodinámica cardiopulmonar en pacientes con ECF durante la CVO y STA.

TACTH: trasplante alogénico de células troncales hematopoyéticas; ECF: enfermedad de células falciformes; HLA: antígenos leucocitarios humanos; EICH: enfermedad injerto contra huésped; CVO: crisis vasooclusiva; alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; VRT: Velocidad de regurgitación tricúspide; STA: síndrome torácico agudo.

Asimismo, los sistemas *CRISPR/Cas* se subclasifican en diferentes tipos, numerados del I al VI, según la proteína *Cas* efectora involucrada. Los tipos I, III y IV corresponden a los sistemas de clase 1, ya que operan mediante complejos multiproteicos, con proteínas *Cas* como *Cas3* en el tipo I y *Cas10* en el tipo III. Por su parte, los tipos II, V y VI son característicos de los sistemas de clase 2, que funcionan a través de una sola proteína efectora (*Cas9*, *Cas12* y *Cas13*, respectivamente).³⁴

MECANISMO DE ACCIÓN DE CRISPR/CAS EN BACTERIAS

Su mecanismo se divide en tres etapas: (i) adaptación, (ii) expresión y maduración, (iii) interferencia (Figura 1). Durante la adaptación, las proteínas *Cas* identifican el ADN extraño y capturan una secuencia específica llamada "espaciador,"³⁵ este puede ser del ADN de un patógeno, como el de un virus o un plásmido.³⁶ Después reconoce un motivo adyacente al protoespaciador (PAM) y agrega nucleótidos cercanos a este PAM como un nuevo espaciador integrado en la matriz *CRISPR*, creando la memoria inmunológica.³⁷ En la etapa de ex-

presión y maduración, la matriz se transcribe y procesa en fragmentos pequeños de ARN, conocidos como ARNcr, los cuales se combinan con proteínas *Cas* para formar el complejo activo *CRISPR/Cas*.³⁵ En la etapa de interferencia, *Cas-crRNA* reconoce y se une a secuencias invasoras degradando el ácido nucleico extraño. Esto permite que en una segunda infección *CRISPR/Cas* reconoce secuencias complementarias en el material genético invasor y si el ARNcr detecta una coincidencia con una secuencia patógena, los dominios de la enzima *Cas* cortan ambas hebras del ADN del patógeno destruyendo así el material invasor y protegiendo a la célula.³⁶

USO DE CRISPR/CAS EN HEMOGLOBINOPATÍAS

El sistema *CRISPR/Cas* ha abierto el panorama en la atención de distintas patologías en base a la edición genética, esto dado la posibilidad modificar genes específicos de manera precisa, lo que permitirá explorar su aplicación como herramienta terapéutica. Uno de los avances más destacados que emplean el sistema *CRISPR/Cas* es el tratamiento de enfermedades hematólogicas como las β -hemoglobinopatías, cuyo blanco



Figura 1. Mecanismo de acción de CRISPR/Cas. Este se divide en tres etapas: la adaptación, la expresión/maduración y la interferencia. Una vez que se lleva a cabo, esto permite que la bacteria sea resistente a una segunda infección, ya que podrá encontrar de forma eficiente la secuencia invasora y así destruirla



terapéutico es la HbF puesto que la γ -globina puede reemplazar a la β -globina, por lo que la terapia está orientada a activar la producción de HbF mediante la modificación de células troncales hematopoyéticas lo que permite mejorar la función eritrocitaria.³⁷

Se ha demostrado que la edición de células troncales hematopoyéticas autólogas “*ex vivo*”, seguida de su trasplante resulta exitoso en pacientes con hemoglobinopatías, evitando así riesgos inmunológicos de rechazo al injerto.²⁸ Incluso este proceso llevó a la aprobación de Exa-cel siendo la primer terapia basada en CRISPR/Cas9 por la FDA (*Food and Drug Administration*) para el tratamiento de la β -talasemia y la ECF grave, este emplea células troncales hematopoyéticas autólogas electroporadas “*ex vivo*” mediante el sistema CRISPR/Cas9 con el fin de alterar el potenciador específico de eritroides de BCL11a logrando activar la producción de HbF y teniendo resultados positivos en términos de independencia de transfusiones y disminución de eventos vasooclusivos.³⁸ Esta activación también se podría conseguir mediante la interrupción de regiones inhibitoras en los genes HGB1/2 o bien la modificación directa en sitios específicos de dichos genes, dado que γ -globina está codificada en dichos genes.³⁷

En el caso de la ECF, la HbF puede atenuar la fisiopatología de esta patología y moderar su curso clínico. Esto se debe a que prolonga el tiempo necesario para que la HbS se polimerice, permitiendo que los eritrocitos falciformes logren pasar de la microcirculación a las venas mayores. Una vez en los pulmones, tras la reoxigenación, el polímero de HbS se desintegra, reduciendo la concentración de esta hemoglobina en la circulación y disminuyendo los efectos nocivos asociados a su polimerización.³⁹

RIESGOS DEL TRATAMIENTO CON CRISPR/CAS

El sistema CRISPR/Cas9 se utiliza ampliamente en modelos terapéuticos debido a su diseño sencillo y su alta eficiencia.¹⁶ Sin embargo, también es importante considerar los riesgos de seguridad asociados. Por ejemplo, podría desencadenarse una respuesta inmune adaptativa contra la endonucleasa Cas9, especialmente en individuos que ya presentan anticuerpos preexistentes contra esta proteína. Este riesgo es particularmente elevado cuando se trabaja en células “*in vivo*”. En contraste, al realizar la edición genética “*ex vivo*”, este problema puede evitarse mediante la exposición transitoria al Cas9, eliminando la endonucleasa antes de realizar el trasplante.³⁹

Otro riesgo asociado al uso de CRISPR/Cas9 es la posibilidad de que las rupturas de doble cadena que induce provoquen reordenamientos cromosómicos, como deleciones, inversiones y translocaciones. Este fenómeno ocurre porque las rupturas de doble cadena son reparadas a través de la vía de unión de extremos no homólogos, un mecanismo propenso a errores que puede generar alteraciones en el ADN.³⁸

En este contexto, se ha propuesto el uso de editores de bases como una alternativa más precisa y eficiente para la edición genética. Este enfoque permite corregir mutaciones puntuales sin generar rupturas de doble cadena. Los editores de bases combinan una proteína nickasa Cas9 (*nCas9*) con una desaminasa, lo que posibilita la edición específica de bases en ubicaciones determinadas del genoma sin necesidad de romper ambas hebras de ADN.³⁸

CONCLUSIÓN

El sistema CRISPR/Cas ha revolucionado la biotecnología y la medicina al proporcionar una herramienta para la edición genética. Este sistema ha permitido abordar enfermedades genéticas complejas como la ECF. Los avances logrados con terapias como Exa-cel, aprobada para el tratamiento de esta enfermedad evidencian el potencial de CRISPR/Cas en la medicina. Sin embargo, resulta importante considerar los riesgos de la aplicación de dicha tecnología y las alternativas propuestas como es el uso de editores de base. Por el momento es una herramienta con gran prospecto a futuro pero que aún requiere más investigación.

AGRADECIMIENTOS

El manuscrito fue revisado y editado en el Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM. Agradecemos a la Red Académica Asesora de Revisiones Sistemáticas (RAARS) de la FES Zaragoza, UNAM, por la revisión de estilo.

REFERENCIAS

1. Ahmed MH, Ghatge MS, Safo MK. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Subcell Biochem.* 2020; 94: 345-382. doi: 10.1007/978-3-030-41769-7_14.
2. Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: present and future. *Curr Mol Med.* 2008; 8(7): 592-599. doi: 10.2174/156652408786241375.
3. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization.* 2008; 86: 480-487. doi: 10.2471/blt.06.036673.
4. Brandow AM, Liem RI. Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease. *J Hematol Oncol.* 2022; 15(1): 20. doi: 10.1186/s13045-022-01237-z.
5. Kunz JB, Tagliaferri L. Sickle Cell Disease. *Transfus Med Hemother.* 2024; 51(5):332-344. doi: 10.1159/000540149.
6. Kuypers FA. Hemoglobin s polymerization and red cell membrane changes. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014; 28(2): 155-179. doi: 10.1016/j.hoc.2013.12.002.
7. Kuypers FA. Membrane lipid alterations in hemoglobinopathies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007:68-73. doi: 10.1182/asheducation-2007.1.68.
8. Quinn CT, Smith EP, Arbabi S, Khera PK, Lindsell CJ, Niss O, et al. Biochemical surrogate markers of hemolysis do not correlate with directly measured erythrocyte survival in sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 2016; 91(12): 1195-1201. doi: 10.1002/ajh.24562.
9. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest.* 2017; 127(3): 750-760. doi: 10.1172/JCI89741.
10. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO 3rd, Schechter AN, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med.* 2002; 8(12): 1383-1389. doi: 10.1038/nm1202-799.
11. Alpakra M, Hamed NF, Almakki ZE, Al Bakrah E. The Association Between Sickle Cell Anemia and Cognitive Dysfunction: A Systematic Review. *Cureus.* 2024; 16(9): e69104. doi: 10.7759/cureus.69104.
12. Aguirre M, Medina D, Araujo MV, Campo MA, Castro A, Fernández-Trujillo L, et al. Importancia de la detección temprana de hemoglobinopatías en la población pediátrica en países en desarrollo. *Rev Chil Pediatr.* 2020; 91(4): 568-572. doi:10.32641/rchped.vi91i4.1438.
13. Davies EG, Hirst C, Lottenberg R, Dower N. Pneumococcal vaccines for sickle cell disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2004; 1: CD003885. doi: 10.1002/14651858.CD003885.pub2.
14. Diallo AB, Seck M, Keita M, Toure SA, Bousso ES, Ngasia B, et al. Management of acute pain in adults with sickle cell disease: the experience of the Clinical Hematology Department of the University of Dakar. *Turk J Med Sci.* 2024; 54(5): 1185-1189. doi: 10.55730/1300-0144.5897.
15. López Rubio M, Argüello Marina M. The Current Role of Hydroxyurea in the Treatment of Sickle Cell Anemia. *J Clin Med.* 2024; 13(21): 6404. doi: 10.3390/jcm13216404.
16. Praget-Bracamontes S, Soto-Rodríguez G. Anemia de células falciformes.: Un nuevo enfoque a través del soporte nutricional. *JBF.* 2021; 2(1): 1-7. doi: 10.32870/jbf.v2i1.23
17. Frati G, Miccio A. Genome Editing for β -Hemoglobinopathies: Advances and Challenges. *J Clin Med.* 2021; 10(3): 482. doi: 10.3390/jcm10030482.
18. Steinberg MH, Sebastiani P. Genetic modifiers of sickle cell disease. *Am J Hematol.* 2012; 87(8): 795-803. doi: 10.1002/ajh.23232.
19. Barrangou R, Marraffini LA. CRISPR-Cas systems: Prokaryotes upgrade to adaptive immunity. *Mol Cell.* 2014; 54(2): 234-244. doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.011.
20. Mojica FJ, Díez-Villaseñor C, Soria E, Juez G. Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Mol Microbiol.* 2000; 36(1): 244-246. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01838.x.
21. Haft DH, Selengut J, Mongodin EF, Nelson KE. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotes.



- tic genomes. PLoS Comput Biol. 2005; 1(6): e60. doi: 10.1371/journal.pcbi.0010060.
22. Mojica FJ, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. J Mol Evol. 2005; 60(2):174-182. doi: 10.1007/s00239-004-0046-3.
23. Bolotin A, Quinkis B, Sorokin A, Ehrlich SD. Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. Microbiology (Reading). 2005; 151(Pt 8): 2551-2561. doi: 10.1099/mic.0.28048-0.
24. Haft DH, Selengut J, Mongodin EF, Nelson KE. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes. PLoS Comput Biol. 2005; 1(6): e60. doi: 10.1371/journal.pcbi.0010060.
25. Marraffini LA, Sontheimer EJ. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. Science. 2008; 322(5909): 1843-1845. doi: 10.1126/science.1165771.
26. Brouns SJ, Jore MM, Lundgren M, Westra ER, Slijkhuis RJ, Snijders AP, *et al.* Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. Science. 2008 Aug 15;321(5891):960-964. doi: 10.1126/science.1159689.
27. Garneau JE, Dupuis MÈ, Villion M, Romero DA, Barrangou R, Boyaval P, *et al.* The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. Nature. 2010;468(7320):67-71. doi: 10.1038/nature09523.
28. Deltcheva E, Chylinski K, Sharma CM, Gonzales K, Chao Y, *et al.* CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. Nature. 2011; 471(7340): 602-607. doi: 10.1038/nature09886.
29. Burstein D, Harrington LB, Strutt SC, Probst AJ, Anantharaman K, Thomas BC, *et al.* New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes. Nature. 2017; 542(7640): 237-241. doi: 10.1038/nature21059.
30. Barrangou R, Marraffini LA. CRISPR-Cas systems: Prokaryotes upgrade to adaptive immunity. Mol Cell. 2014; 54(2): 234-244. doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.011.
31. Makarova KS, Wolf YI, Iranzo J, Shmakov SA, Alkhnbashi OS, Brouns SJJ, *et al.* Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. Nat Rev Microbiol. 2020; 18(2): 67-83. doi: 10.1038/s41579-019-0299-x.
32. Nishimasu H, Nureki O. Structures and mechanisms of CRISPR RNA-guided effector nucleases. Curr Opin Struct Biol. 2017; 43: 68-78. doi: 10.1016/j.sbi.2016.11.013.
33. van Dongen JE, Berendsen JTW, Steenbergen RDM, Wolthuis RMF, Eijkel JCT, Segerink LI. Point-of-care CRISPR/Cas nucleic acid detection: Recent advances, challenges and opportunities. Biosens Bioelectron. 2020; 166: 112445. doi: 10.1016/j.bios.2020.112445.
34. Koonin EV, Makarova KS. Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2019; 374(1772): 20180087. doi: 10.1098/rstb.2018.0087.
35. Amitai G, Sorek R. CRISPR-Cas adaptation: insights into the mechanism of action. Nat Rev Microbiol. 2016; 14(2): 67-76. doi: 10.1038/nrmicro.2015.14.
36. Lammoglia-Cobo MF, Lozano-Reyes R, García-Sandoval CD, Avilez-Bahena CM, Trejo-Reveles V, Muñoz-Soto RB, *et al.* La revolución en ingeniería genética: sistema CRISPR/Cas. Investigación en Discapacidad. 2016; 5(2): 116-128.
37. Wang W, Zhang L, Wang X, Zeng Y. The advances in CRISPR technology and 3D genome. Semin Cell Dev Biol. 2019; 90: 54-61. doi: 10.1016/j.semcdb.2018.07.009.
38. Laurent M, Geoffroy M, Pavani G, Guiraud S. CRISPR-Based Gene Therapies: From Preclinical to Clinical Treatments. Cells. 2024; 13(10): 800. doi: 10.3390/cells13100800.
39. Steinberg MH. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. Blood. 2020; 136(21): 2392-2400. doi: 10.1182/blood.2020007645.
40. Gluckman E, Cappelli B, Bernaudin F, Labopin M, Volt F, Carreras J, *et al.* Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2017; 129(11): 1548-1556. doi: 10.1182/blood-2016-10-745711.

41. Meerpohl JJ, Schell LK, Rücker G, Motschall E, Fleeman N, Niemeyer CM, Bassler D. Deferasirox for managing transfusional iron overload in people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;5(5):CD007477. doi: 10.1002/14651858.CD007477.pub3.
42. Howard J, Ataga KI, Brown RC, Achebe M, Nduba V, El-Beshlawy A, *et al.* Voxelotor in adolescents and adults with sickle cell disease (HOPE): long-term follow-up results of an international, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* 2021; 8(5): e323-33. doi: 10.1016/S2352-3026(21)00059-4.
43. Niihara Y, Miller ST, Kanter J, Lanzkron S, Smith WR, Hsu LL *et al.* A Phase 3 Trial of L-Glutamine in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2018; 379(3): 226-235. doi: 10.1056/NEJMoa1715971.
44. Alonso L, González-Vicent M, Belendez C, Badell I, Sastre A, Rodríguez-Villa A, *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients with thalassemia and sickle cell disease: An experience of the Spanish Working Group for Bone Marrow Transplantation in Children (GETMON). *Med Clin (Barc).* 2019; 152(4): 135-140. doi: 10.1016/j.medcli.2018.05.013.
45. Kanter J, Mennito S, Nair SM, Manwani D, Kutlar A, Shah N, *et al.* Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and efficacy of crizanlizumab in patients with sickle cell disease: final results from the phase II SOLACE-adults study. *Ther Adv Hematol.* 2024; 15: 20406207241292508. doi: 10.1177/20406207241292508.
46. Dampier CD, Telen MJ, Wun T, Brown RC, Desai P, El Rassi F, *et al.* A randomized clinical trial of the efficacy and safety of rivipansel for sickle cell vaso-occlusive crisis. *Blood.* 2023; 141(2): 168-179. doi: 10.1182/blood.2022015797.
47. Ataga KI, Kutlar A, Kanter J, Liles D, Cancado R, Friedrich J, *et al.* Crizanlizumab for the Prevention of Pain Crises in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2017; 376(5): 429-439. doi: 10.1056/NEJMoa1611770.
48. Rankine-Mullings AE, Nevitt SJ. Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022; 9: CD002202. doi: 10.1002/14651858.CD002202.pub3.
49. Onalo R, Cilliers A, Cooper P, Morris CR. Arginine Therapy and Cardiopulmonary Hemodynamics in Hospitalized Children with Sickle Cell Anemia: A Prospective, Double-blinded, Randomized Placebo-controlled Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022; 206(1): 70-80. doi: 10.1164/rccm.202108-1930OC.