

Edición Genética de las Células Madre con CRISPR-Cas: Avances en la Medicina Regenerativa**Genetic Editing of Stem Cells with CRISPR-Cas: Advances in Regenerative Medicine***Gabriela Valenzuela Sánchez, Ingrid Sevilla Villacís & Tatiana Vallejo Ocaña***PUNTO CIENCIA.****Julio - diciembre, V°6 - N°2; 2025****Recibido:** 19-12-2025**Aceptado:** 27-12-2025**Publicado:** 29-12-2025**PAIS**

- Ecuador, Ambato
- Ecuador, Ambato
- Ecuador, Ambato

INSTITUCION

- Universidad Técnica de Ambato
- - Grupo de Investigación NUTRIGENX
- Universidad Técnica de Ambato
- Universidad Técnica de Ambato

CORREO:

- ✉ gp.valenzuela@uta.edu.ec
- ✉ isevilla0489@uta.edu.ec
- ✉ tvallejo0725@uta.edu.ec

ORCID:

- 🌐 <https://orcid.org/0000-0002-2691-4447>
- 🌐 <https://orcid.org/0009-0003-2600-4704>
- 🌐 <https://orcid.org/0009-0004-3610-8221>

FORMATO DE CITA APA.

Valenzuela, G., Sevilla, I. & Vallejo, T. (2025). Edición Genética de las Células Madre con CRISPR-Cas: Avances en la Medicina Regenerativa. *Revista G-ner@ndo*, V°6 (N°2). Pág. 4080 – 4098.

Resumen

La edición génica de células madre mediante CRISPR-Cas se ha convertido en un motor real de transformación de la medicina regenerativa, al permitir una corrección precisa de mutaciones y generación de modelos celulares fiables. Se destacan modelos de edición *ex vivo* e *in vivo*, así como nuevas formas de administración que han generado avances terapéuticos importantes en la actualidad. Analizar la evidencia científica disponible sobre la edición genética de células madre con tecnología CRISPR-Cas, mediante una revisión sistemática de bases de datos especializadas y confiables, con el fin de consolidar la información actual sobre su aplicabilidad y contribución al desarrollo de la medicina regenerativa. Los estudios revisados demuestran que la edición genética de células madre con tecnología CRISPR-Cas ha logrado avances importantes en la terapéutica actual, especialmente en enfermedades hematológicas monogénicas y hereditarias. Terapias *ex vivo* (exa-cel) para anemia falciforme y β -talasemia han alcanzado la edición estable. El caso de terapias *in vivo* utilizadas en amiloidosis ha resultado en reducciones sostenidas de proteínas patogénicas. A pesar de las distintas ventajas de la terapia con CRISPR-Cas, aún persisten retos conocidos como la variabilidad interindividual, riesgos off-target y accesibilidad de estas tecnologías en países con recursos limitados. La convergencia entre la tecnología CRISPR y la plasticidad de las células madre representa un profundo avance en la medicina regenerativa, que no se mide solo en la capacidad de editar, sino en la precisión de hacerlo sin alterar la viabilidad de la célula o la estabilidad del genoma.

Palabras clave: Células madre, Edición genética, CRISPR-Cas, Medicina regenerativa, Terapia génica.

Abstract

Introduction: Gene editing of stem cells using CRISPR-Cas has become a major driver of transformation in regenerative medicine, enabling precise correction of mutations and the generation of reliable cell models. *Ex vivo* and *in vivo* editing approaches stand out, as do novel delivery strategies that have led to significant therapeutic advances. To analyze the available scientific evidence on stem cell gene editing using CRISPR-Cas technology through a systematic review of specialized and reliable databases, in order to consolidate current information on its applicability and contribution to the development of regenerative medicine. The studies reviewed demonstrate that CRISPR-Cas-mediated gene editing of stem cells has achieved significant advances in current therapeutic applications, particularly in monogenic and hereditary hematological diseases. *Ex vivo* therapies (exa-cel) for sickle cell anemia and β -thalassemia have achieved stable editing. The use of *in vivo* therapies in amyloidosis has resulted in sustained reductions of pathogenic proteins. Despite the various advantages of CRISPR-Cas therapy, challenges remain, including interindividual variability, off-target risks, and limited accessibility of these technologies in resource-constrained countries. The convergence of CRISPR technology and stem cell plasticity represents a profound advance in regenerative medicine, measured not only in terms of editing capacity but also in terms of the precision with which gene editing can be achieved without compromising cell viability or genome stability.

Keywords: Stem cells, Gene editing, CRISPR-Cas, Regenerative medicine, Gene therapy.

Introducción

Las células madre, también conocidas como células troncales, constituyen un grupo de células primitivas de gran interés debido a sus propiedades de autorrenovación y diferenciación, que les permite generar diversos linajes celulares a través de divisiones asimétricas. Se definen como células indiferenciadas, inmaduras y capaces de originar uno o más tipos de células especializadas, lo que las convierte en un pilar fundamental tanto para comprender el desarrollo embrionario como para explicar los procesos de reparación tisular en individuos adultos. (Pimentel-Parra & Murcia-Ordoñez, 2018) (Rafi, 2011)

Su potencial terapéutico ha impulsado su aplicación experimental y clínica en diversas patologías degenerativas y crónicas, incluyendo enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer, diabetes mellitus, así como afecciones cardíacas, hepáticas, pulmonares, articulares y cartilaginosas. (Pimentel-Parra & Murcia-Ordoñez, 2018)

Desde el punto de vista biológico, se clasifican según su potencialidad en totipotentes, pluripotentes y multipotentes, e incluyen tanto células madre embrionarias (CME) como células madre adultas (CMA) o mesenquimales (CMM); a estas se suman las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs), obtenidas por reprogramación de células somáticas, que han permitido superar limitaciones éticas y ampliar el desarrollo de terapias personalizadas. (Quesada Leyva et al., 2018) (Vizoso et al., 2023)

No obstante, pese a los avances alcanzados, la mayoría de estas patologías carecen aún de tratamientos curativos, ya que las terapias basadas exclusivamente en células madre no permiten corregir de forma precisa las alteraciones genéticas subyacentes que condicionan la progresión de la enfermedad. (Rafi, 2011)

En este escenario, la edición genética emerge como una herramienta clave, capaz de complementar la medicina regenerativa al posibilitar la corrección dirigida de mutaciones patogénicas, posicionando a tecnologías como CRISPR-Cas como una estrategia prometedora para el desarrollo de terapias regenerativas de precisión. (Rafi, 2011) (Hendriks et al., 2020)

Las aplicaciones clínicas de las células madre abarcan desde su uso como vehículos terapéuticos de genes en enfermedades monogénicas hasta su implementación como terapias de reemplazo celular destinadas a restaurar tejidos dañados. Sin embargo, a pesar de su amplio potencial, su efectividad ha estado históricamente limitada por la incapacidad de corregir con precisión las mutaciones subyacentes que originan o modulan diversas enfermedades. (Pimentel-Parra & Murcia-Ordoñez, 2018)(Rafi, 2011). Esta limitación técnica ha impedido que muchas terapias celulares alcancen su máximo desempeño clínico, evidenciando la necesidad de incorporar herramientas capaces de modificar el genoma con exactitud y seguridad.

Con este contexto, la tecnología de edición genética basada en CRISPR-Cas ha marcado un punto de transformación sustancial en el enfoque terapéutico de la medicina regenerativa; esto a partir de un mecanismo inmunológico bacteriano adaptativo, que permite modificar de forma exacta regiones específicas del genoma, superando las restricciones que por años limitaron la eficacia de las terapias celulares. Su evolución hacia herramientas más refinadas, como prime editing y base editing, ha ampliado enormemente su precisión y aplicabilidad, integrándose de manera natural en el campo de la medicina regenerativa. (Vizoso et al., 2023)

En los últimos años, los avances en el campo de la edición genética mediada por CRISPR han sido significativamente notables. Desde la edición ex vivo de células madre hematopoyéticas con el desarrollo del sistema Casgevy para corregir trastornos hemoglobínicos, la creación de modelos isogénicos con iPSCs editadas como

estrategias de reemplazo celular en enfermedades neurodegenerativas o generación de tejidos derivados sin mutaciones residuales, hasta la reprogramación segura de HSCs capaces de mantener injertos estables a largo plazo con perfiles epigenéticos controlados. (Rafi, 2011) (Hendriks et al., 2020)

En paralelo, nuevas formas de administración, como nanopartículas lipídicas dirigidas, vectores no virales de alta eficiencia y vesículas extracelulares modificadas, han permitido llevar CRISPR directamente a tejidos afectados sin alterar células sanas, expandiendo el alcance de la medicina regenerativa hacia terapias in vivo más seguras. Así la evidencia respalda, no solo la solidez tecnológica de CRISPR, sino también su integración con células madre como el eje central de las terapias regenerativas emergentes, capaz de transformar el tratamiento de enfermedades que históricamente carecían de opciones curativas. (Rafi, 2011) (Vizoso et al., 2023)

De esta manera, el ritmo acelerado del progreso científico sugiere que la intersección entre células madre y CRISPR-Cas se perfila como el núcleo de una medicina regenerativa de precisión, con el potencial de transformar el tratamiento de enfermedades históricamente incurables y abrir nuevas rutas terapéuticas para la reparación y el reemplazo tisular. (Vizoso et al., 2023)

En consecuencia, este artículo tiene como objetivo analizar la evidencia científica disponible sobre la edición genética de células madre con tecnología CRISPR-Cas, mediante una revisión sistemática de bases de datos especializadas y confiables, con el fin de consolidar la información actual sobre su aplicabilidad y contribución al desarrollo de la medicina regenerativa.

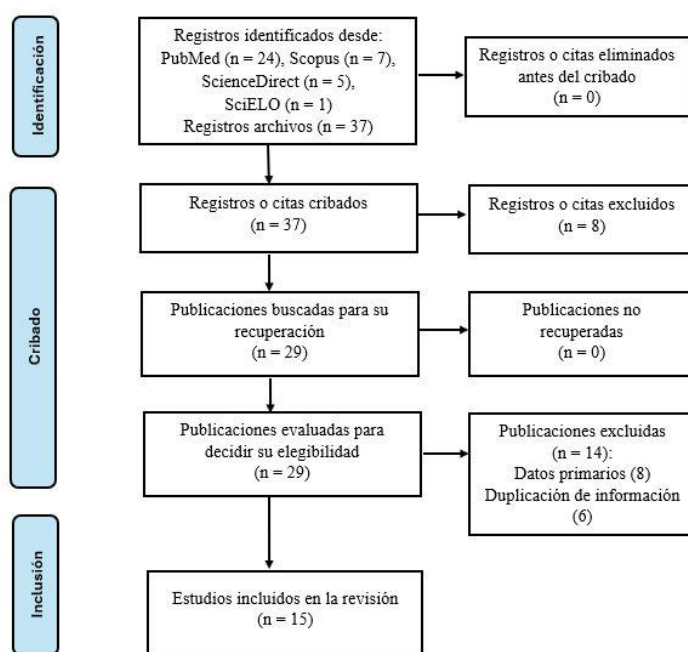
Métodos y Materiales

La presente investigación adoptó un enfoque cualitativo, orientado a un análisis sistemático, comparativo y descriptivo, en busca de interpretar los nuevos avances,

aplicaciones terapéuticas y limitaciones de la tecnología CRISPR-Cas aplicada en el desarrollo de la medicina regenerativa.

Con este enfoque, se desarrolló una revisión sistemática de alcance exploratorio y descriptivo, cuyo diseño metodológico se estructuró a partir de las recomendaciones PRISMA 2020 en cuatro fases: identificación y delimitación de la evidencia universal, cribado a partir de criterios de inclusión y exclusión para seleccionar los artículos relevantes para la investigación, elegibilidad y evaluación de cada artículo preseleccionado, y finalmente la extracción y sistematización de la información. (Figura 1).

Figura 1. Diagrama de flujo



Como población inicial, se identificaron un total de 37 publicaciones (artículos originales, metaanálisis y ensayos clínicos) relacionadas al tema CRISPR-Cas en células madre con aplicaciones enfocadas a la medicina regenerativa, edición celular y corrección de patologías genéticas, todas indexadas en bases de datos de relevancia científica a nivel mundial. De estas se realizó un cribado y se excluyeron 8. Tras una evaluación de elegibilidad, se excluyeron otras 13 publicaciones por no cumplir

estrictamente los criterios de inclusión y exclusión, disponiéndose finalmente una muestra total de 16 publicaciones para el presente artículo.

Criterios de Inclusión:

Para la presente síntesis se definieron criterios estrictos orientados a asegurar la pertinencia temática y la solidez metodológica de la evidencia seleccionada. Se incluyeron los estudios que cumplieron con las siguientes condiciones (Tabla 1):

Tabla 1. Estrategia de búsqueda y criterios de inclusión y exclusión de los estudios

<i>Periodo de publicación:</i>	Artículos publicados entre enero de 2018 y 2025, con el objetivo de integrar evidencia actualizada relacionada con el uso de CRISPR en células madre y su aplicación en medicina regenerativa
<i>Tipo de estudio:</i>	Artículos originales, metaanálisis, revisiones bibliográficas, incluyendo estudios experimentales <i>in vitro</i> , modelos animales y ensayos preclínicos y clínicos tempranos que evaluaran técnicas de edición genética mediante sistemas CRISPR en células madre.
<i>Contenido temático:</i>	Estudios que abordaran de manera directa la edición genética con CRISPR-Cas9 o tecnologías derivadas aplicada a: ✓ células madre embrionarias, ✓ células madre pluripotentes inducidas (iPSC), ✓ células madre mesenquimales (MSC), ✓ células madre hematopoyéticas (HSC), en el contexto de medicina regenerativa, trasplante celular o ingeniería de tejidos.
<i>Calidad metodológica:</i>	Investigaciones que demostraron un nivel adecuado de rigurosidad científica, valoradas de forma cualitativa y/o cuantitativa, priorizando diseños con controles apropiados y técnicas validadas.

Criterios de Exclusión:

<i>Datos primarios:</i>	Aquellos manuscritos que no generaban datos relevantes primarios, tales como revisiones narrativas, sistemáticas, metaanálisis, comentarios editoriales, <i>letters</i> o puntos de vista
<i>Duplicación de la información:</i>	Estudios que replicaban datos ya presentados en otros artículos seleccionados fueron descartados para evitar sesgo por duplicado.

Descripción: Criterios metodológicos empleados para la selección de los estudios incluidos en la revisión, detallando el periodo de publicación, tipo de estudio, contenido temático y criterios de exclusión aplicados

Recolección de la información:

La estrategia de búsqueda se construyó mediante descriptores DeCS/MeSH combinados con operadores booleanos, utilizando ecuaciones (Tabla 2):

Tabla 2. Estrategia de búsqueda

("stem cells"[MeSH Terms] OR "induced pluripotent stem cells"[MeSH Terms] OR "hematopoietic stem cells"[MeSH Terms] OR "mesenchymal stem cells"[MeSH Terms] OR stem cells OR iPSC OR MSC)
AND
("CRISPR-Cas Systems"[MeSH Terms] OR CRISPR OR "CRISPR-Cas9" OR "gene editing"[MeSH Terms] OR "genome editing" OR "genetic engineering")
AND
("regenerative medicine"[MeSH Terms] OR "tissue engineering"[MeSH Terms] OR "cell transplantation"[MeSH Terms] OR "cell therapy" OR "regenerative therapy")
Descripción: Estrategia de búsqueda utilizada para la identificación de los estudios, incluyendo las bases de datos consultadas, los descriptores DeCS/MeSH empleados y las combinaciones de operadores booleanos aplicadas.

La ecuación fue diseñada para identificar estudios de relevancia que integraran células madre con tecnologías CRISPR-Cas en el contexto de terapias regenerativas. No se aplicaron restricciones de idioma y se delimitó el periodo entre 2020 y 2025, con el objetivo de garantizar que únicamente se incluyera evidencia actual y metodológicamente vigente.

Posteriormente, se aplicaron filtros temáticos y metodológicos orientados a mantener exclusivamente artículos con datos primarios y diseño experimental o clínico verificable, excluyendo un total de 21 estudios correspondientes a revisiones narrativas, revisiones sistemáticas, metaanálisis o manuscritos sin aporte de evidencia original. Finalmente se seleccionaron 16 artículos que cumplieron los requisitos de calidad, pertinencia y rigor metodológico, conformando el cuerpo de evidencia que sustenta la presente síntesis.

Análisis de resultados

En la (Tabla 3) se sintetiza las principales características metodológicas y los hallazgos de los 16 estudios incluidos, destacando el tipo de célula madre empleada, la herramienta molecular utilizada y el objetivo terapéutico o experimental de la edición

genética. En conjunto, la evidencia muestra que los avances en edición genética mediante tecnologías basadas en CRISPR han transformado el abordaje de diversas enfermedades hereditarias y condiciones hematológicas, con un énfasis creciente en terapias personalizadas y modelos celulares de alta fidelidad. Un hallazgo transversal es la progresiva sustitución de enfoques convencionales por estrategias de edición génica más seguras, estables y con impacto clínico sostenido.

En primera línea de investigación, los estudios centrados en modelos celulares pluripotentes demuestran el valor de combinar células madre con herramientas de edición de alta precisión. En este sentido, Cerna-Chávez et al. (2024) emplearon células madre pluripotentes inducidas (hiPSC) junto con prime editing, logrando generar modelos isogénicos de enfermedades mendelianas con eficiencias superiores al 25% y mínimas tasas de indels (Tabla 3). Este enfoque resulta particularmente relevante para hiPSC, dado que la precisión del prime editing reduce el riesgo de alteraciones genómicas no deseadas en células con alto potencial de diferenciación. De forma complementaria, Wang et al. (2021) demostraron que la modulación del microambiente mediante matriz extracelular puede revertir la senescencia de células madre musculoesqueléticas, ampliando la aplicabilidad de terapias regenerativas basadas en células modificadas.

Posteriormente, y en una fase más avanzada de aplicación clínica, los estudios de Frangoul et al. (2021, 2024) y Locatelli et al. (2023) aportan evidencia sólida sobre la efectividad de la edición de células madre hematopoyéticas CD34+ mediante CRISPR-Cas9, dirigida al potenciador eritroide del gen BCL11A, para el tratamiento de la enfermedad falciforme severa y la β -talasemia dependiente de transfusión (Tabla 3). En continuidad con los modelos celulares previamente descritos, la terapia celular exagamglogene autotemcel (exa-cel) eliminó prácticamente las crisis vasooclusivas y logró independencia transfusional en la mayoría de los pacientes evaluados, con una edición estable en células hematopoyéticas a largo plazo. Estos resultados consolidan

la transición desde la investigación preclínica hacia intervenciones potencialmente curativas, posicionando a exa-cel como uno de los primeros tratamientos basados en CRISPR con impacto clínico sostenido.

En paralelo, los estudios de edición in vivo amplían el alcance terapéutico de estas tecnologías. Gillmore et al. (2021) y Longhurst et al. (2024) administraron CRISPR-Cas9 mediante nanopartículas lipídicas directamente en pacientes con amiloidosis por transtiretina y angioedema hereditario, respectivamente, logrando reducciones dosis-dependientes de proteínas patogénicas circulantes (TTR y calicreína plasmática), sin efectos adversos graves (Tabla 3). Estos hallazgos respaldan la seguridad preliminar de la edición somática directa y refuerzan el potencial de los sistemas no virales para aplicaciones clínicas.

Más allá de las enfermedades hematológicas, los estudios preclínicos de muestran versatilidad de CRISPR en distintos contextos celulares. Lara-Sáez et al. (2024) desarrollaron un modelo no viral de inducción tumoral en ratones mediante RNPs CRISPR/Cas9, alcanzando mutagénesis eficiente sin el riesgo asociado a vectores virales. Asimismo, investigaciones preclínicas en distrofia muscular (Science Advances, 2018) y parkinsonismo relacionado a mutaciones en LRRK2 (2021) demostraron que la corrección de mutaciones mediante CRISPR restaura fenotipos celulares, incluyendo expresión de distrofina y funciones dopaminérgicas.

Finalmente, Xu et al. (2019) documentaron el primer caso de trasplante de células madre hematopoyéticas editadas mediante CRISPR en un paciente con VIH y leucemia linfoblástica aguda. Aunque la eficiencia de edición del gen CCR5 fue limitada (~5%), el estudio confirmó la seguridad y persistencia a largo plazo del injerto humano editado (Tabla 3).

Tabla 3. Estudios incluidos sobre edición genética de células madre, utilizando herramientas CRISPR-Cas y sus principales aplicaciones terapéuticas.

AUTOR / AÑO DE PUBLICACIÓN	TÍTULO DEL ARTÍCULO	TIPO DE CÉLULA	PATOLOGÍAS A TRATAR	HERRAMIENTA MOLECULAR	HALLAZGO PRINCIPAL	CONCLUSIÓN
Cerna-Chavez et al., 2024	Edición optimizada de células madre pluripotentes humanas inducidas para generar modelos isogénicos de enfermedades mendelianas	iPSC humanas	Modelado experimental de enfermedades mendelianas usando iPSC	<i>Prime editing</i>	Mejoras en epegRNAs y condiciones que aumentan la eficiencia y disminuyen indels; protocolo reproducible.	Al optimizar <i>prime editing</i> en iPSC humanos generan modelos isogénicos de mutaciones mendelianas con alta eficiencia y menor introducción de <i>indels</i> , facilitando estudios funcionales y modelos preclínicos.
Frangoul et al., 2021	Edición genética CRISPR-Cas9 para la anemia de células falciformes y la β -talasemia	Células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPC) CD34+ autólogas	Anemia por células falciformes (SCD) y β -talasemia dependiente de transfusión	CRISPR-Cas9 dirigido al potenciador eritroide de BCL11A para reactivar HbF	La edición produjo altos niveles de modificación (~80% de alelos) y reactivación de hemoglobina fetal distribuidamente, con independencia de transfusión y eliminación de crisis en SCD.	La edición ex vivo de HSPC autólogas mediante CRISPR-Cas9 es viable, los injertos son estables y restituye niveles funcionales de HbF, reduciendo de forma significativa la expresión clínica de enfermedad.
Frangoul et al., 2024	Exagamglogene Autotemcel para la anemia de células falciformes grave	Células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPC) CD34+ autólogas	Enfermedad falciforme severa.	CRISPR-Cas9 ex vivo en la región potenciadora eritroide de BCL11A	Alta eficacia del tratamiento al eliminar crisis vaso-oclusivas y hospitalizaciones en el grupo de estudio; mejoría sostenida de biomarcadores clave (Hb, HbF) y edición genética (BCL11A) estable en el tiempo.	En el estudio fase 3, exa-cel (edición ex vivo de BCL11A) eliminó las crisis vasoocclusivas en ~97% de los pacientes durante ≥ 12 meses; muestra eficacia clínica robusta y duradera en el periodo reportado.
Locatelli et al., 2023	Exagamglogene Autotemcel para la β -talasemia dependiente de transfusiones	HSC autólogas	β -talasemia dependiente de transfusión (TDT).	CRISPR-Cas9	El estudio en fase 3 CLIMB THAL-111, el tratamiento con exagamglogene autotemcel (exa-cel), condujo a independencia de transfusiones en ~91 % de los pacientes con β -talasemia dependiente de transfusiones, con elevación sostenida de hemoglobina total y fetal, y un perfil de seguridad consistente con el condicionamiento mieloablativo y el trasplante de HSPC.	El tratamiento con exa-cel, resultó en niveles clínicamente significativos de independencia en la mayoría de pacientes adultos y adolescentes con β -talasemia dependiente de transfusiones. Demuestra un beneficio terapéutico y perfil de seguridad sostenidos para trasplantes autólogos de HSPC, consolidando su potencial como una opción curativa en esta hemoglobinopatía.
Gillmore et al., 2021	Edición genética in vivo mediante CRISPR-Cas9 para la amiloidosis por transtiretina	<i>Edición in vivo</i> : No usa trasplante celular	Amiloidosis por transtiretina hereditaria (ATTR)	CRISPR-Cas9	Reducciones en la concentración de la proteína TTR en suero con respecto al valor basal al día 14, tratamiento con NTLA-2001 mostró un efecto dosis-dependiente.	La edición génica directa in vivo del gen TTR con NTLA-2001 redujo significativamente los niveles de proteína patológica con eventos adversos leves, evidenciando que un tratamiento CRISPR-Cas9 administrado sistémicamente puede modificar un gen causal en humanos de forma segura y eficaz.
Longhurst et al., 2024	Edición genética in vivo mediante CRISPR-Cas9 del gen KLKB1 para el	Edición hepática <i>in vivo</i>	Angioedema hereditario (ataques de edema por disfunción del	CRISPR-Cas9	Una dosis única de NTLA-2002 (CRISPR-Cas9 in vivo dirigido al gen KLKB1) redujo de manera considerable y	NTLA-2002 demostró eficacia preliminar en la reducción de ataques de angioedema y en la disminución de los niveles

	angioedema hereditario		sistema de cininas).		sostenida los niveles de proteína kallikrein, así como la frecuencia de ataques de angioedema hereditario en comparación con placebo.	de kallikrein sin eventos adversos graves, apoyando su desarrollo en ensayos de fase 3 como una potencial terapia de una sola administración para angioedema hereditario.
Lara-Sáez et al., 2024	Mutagénesis no viral CRISPR/Cas9 para la generación optimizada de modelos de cáncer de pulmón en ratones	Células progenitoras pulmonares en ratón	Modelado preclínico de cáncer de pulmón (SCLC), generación de modelos animales.	CRISPR-Cas9 no viral (RNP)	Eficacia en generar mutaciones driver en pulmón, menor complicación asociada a vectores virales.	Desarrollo de una metodología no viral para introducir mutaciones (CRISPR/Cas9) en pulmón de ratón que genera modelos de SCLC eficientes; útil para estudios mecanísticos y pruebas preclínicas sin vectores virales.
Xu et al., 2019	Células madre editadas mediante CRISPR en un paciente con VIH y leucemia linfocítica aguda	HSPC autólogas	VIH-1 (y el paciente con ALL, contexto clínico).	CRISPR-Cas9	Se trasplantaron HSPC donantes con ablación de CCR5; las células editadas persistieron >19 meses sin eventos adversos relacionados con la edición, aunque la tasa de células con CCR5 interrumpido fue ~5% en linfocitos.	Se demostró factibilidad y <i>engraftment</i> a largo plazo de HSPC CRISPR editadas en humano; la baja proporción de edición en linfocitos (≈5%) indica que se requiere continuar su investigación para alcanzar eficacia terapéutica.
Wang et al., 2021	La matriz revierte la determinación del destino de las células madre mediada por la inmortalización	Células madre del tendón (IPFSCs)	Problemas relacionados con senescencia de células madre y aplicación en regeneración de cartílago (patologías articulares / reparación cartilaginosa).	Ingeniería de matriz	Identificación de dECM depositada por células inmortalizadas mejora la proliferación y capacidad condrogénica de IPFSCs; el efecto depende del origen/pasaje del dECM y del método de inmortalización.	El microambiente de matriz (dECM) modula la capacidad regenerativa de IPFSCs; estrategias de dECM +/- inmortalización pueden ser útiles para obtener células rejuvenecidas para ingeniería de cartílago.
J. Wang et al., 2023	Reprogramación química para la manipulación del destino celular: métodos, aplicaciones y perspectivas.	iPSC / células reprogramadas	NO APLICA: No es un artículo clínico dirigido a una única patología, aborda reprogramación celular con aplicaciones potenciales (regeneración, enfermedades degenerativas).	Reprogramación química	Síntesis de métodos químicos para reprogramación, estados intermedios celulares y aplicaciones experimentales; discute ventajas/desafíos y direcciones futuras.	La reprogramación química es una estrategia prometedora para manipular destinos celulares sin factores genéticos; todavía existen retos de eficiencia, seguridad y traducción clínica.
Long et al., 2018	Corrección de diversas mutaciones de distrofia muscular en músculo cardíaco humano modificado mediante edición genómica de sitio único	Células musculares derivadas de iPSC	Duchenne muscular dystrophy (DMD) / distrofias musculares (mutaciones en gen <i>DMD</i>).	CRISPR de sitio único	Evidencia que una estrategia de edición de un único sitio corrige múltiples mutaciones de DMD en músculo cardíaco humano modelado y restaura expresión de distrofina/función en esos modelos.	La edición dirigida de un sitio puede corregir diferentes mutaciones de DMD en modelos humanos in vitro (engineered heart muscle), apoyando estrategias de corrección genómica para DMD.
Chang et al., 2021	La edición genómica in vitro rescata fenotipos de parkinsonismo en neuronas dopaminérgicas derivadas de células madre pluripotentes inducidas portadoras de la	Neuronas dopaminérgicas derivadas de iPSC	Enfermedades parkinsonianas (modelos celulares de parkinsonismo idiopático/genético).	CRISPR / ABE	En modelos iPSC derivados de pacientes con parkinsonismo, la corrección génica in vitro restauró marcadores/funciones celulares asociadas y mostró diferencias en eficiencia/ <i>of-target</i> entre métodos.	Edición génica dirigida en iPSC puede rescatar fenotipos celulares de parkinsonismo; la selección del método de edición impacta eficiencia y seguridad.

	mutación <i>LRRK2</i> p. G2019S					
Bjursell et al., 2018	La edición genómica terapéutica con CRISPR/Cas9 en un modelo murino humanizado mejora el fenotipo de deficiencia de α 1-antitripsina	Hepatocitos humanos en ratón humanizado	Deficiencia de α 1-antitripsina (AATD): enfermedad hepática/pulmonar monogénica.	CRISPR-Cas9	En modelo humanizado de ratón, la edición génica redujo la proteína mal plegada y mejoró marcadores de enfermedad (mejoría fenotípica).	Prueba de concepto de edición hepática terapéutica para AATD; demuestra que la corrección genética puede atenuar el fenotipo en modelo humanizado.
Smith et al., 2020	Análisis de todo el genoma de la actividad CRISPR/Cas9 fuera del objetivo en clones de células madre y progenitoras hematopoyéticas humanas derivadas de células individuales	HSC humanas clonales	No trata una patología concreta: estudia seguridad genómica de edición en hematopoyéticos (relevante para terapias HSC para enfermedades hematológicas).	CRISPR-Cas9	Análisis genómicos detallados y caracterización del perfil <i>off-target</i> en clones clonales de HSPC; proporcionan datos sobre frecuencia/ubicación de <i>off-targets</i> .	Aporta evidencia empírica sobre perfil de <i>off-target</i> en HSPC clonales, información clave para evaluar seguridad de terapias con CRISPR en células hematopoyéticas.
Balboa et al., 2019	Edición genómica de modelos de células beta pancreáticas humanas: problemas, posibilidades y perspectivas	Células B-pancreáticas humanas	Diabetes mellitus en sus principales formas (tipo 1, tipo 2 y formas monogénicas)	CRISPR-Cas9	Edición génica permite modificar líneas celulares beta para introducir mutaciones o correcciones, facilitando el estudio de la función beta-celular bajo diferentes condiciones de salud/enfermedad, lo que refuerza la validez de los modelos experimentales.	La edición genómica en modelos celulares de célula beta es una herramienta valiosa para investigar mecanismos de disfunción y prueba de hipótesis terapéuticas en diabetes u otras enfermedades metabólicas.

Descripción: Síntesis de los estudios más relevantes sobre edición genética de células madre mediante tecnologías CRISPR-Cas, especificando el tipo celular, la estrategia molecular empleada y los principales resultados obtenidos. Su análisis comparativo permite

En conjunto, los artículos analizados coinciden en probar que la tecnología CRISPR utilizada en edición genética de células madre, tanto ex vivo como in vivo, ofrece beneficios significativos clínicamente, con niveles de eficacia sin precedentes, especialmente en enfermedades monogénicas, y un perfil de seguridad aceptable de acuerdo con los datos obtenidos. Sin embargo, persisten retos importantes relacionados con eficiencia de edición en tejido humano, variabilidad interindividual, riesgos off-target y accesibilidad de estas tecnologías en países con recursos limitados.

De esta forma se resalta la importancia de continuar la optimización del sistema con el fin de reducir los riesgos de mutaciones u otros daños celulares, establecer protocolos estandarizados y potenciar la práctica de la medicina regenerativa contemporánea y futura.

Ventajas y limitaciones:

Tabla 4: *Ventajas y limitaciones de la edición genética con CRISPR en células madre.*

	Ventajas	Limitaciones
Precisión genética	Alta especificidad en la corrección de mutaciones puntuales; reducción de errores asociados a técnicas convencionales.	Riesgo residual de efectos <i>off-target</i> , necesidad de plataformas avanzadas de detección genómica y seguimiento molecular.
Potencial al futuro	Versatilidad para corregir, activar o desactivar genes; tecnologías derivadas (<i>prime editing</i> , <i>base editing</i>).	Requiere marcos regulatorios actualizados, evaluación ética continua y validación clínica prolongada.
Aplicabilidad clínica	Resultados exitosos en anemia falciforme, β -talasemia, amiloidosis y angioedema hereditario.	Acceso limitado por elevado costo e infraestructura especializada en países de ingresos medios y bajos.
Aplicación en células madre	Generación de modelos isogénicos fiables; restauración de fenotipos celulares; uso en iPSCs, HSCs y MSCs.	Variabilidad en la eficiencia de edición según el linaje celular, estado de diferenciación y microambiente celular.
Terapias ex vivo	Permiten control más seguro del proceso; edición estable antes del trasplante; éxito demostrado en enfermedades hematológicas.	Procedimientos complejos y costosos; requieren laboratorios de certificación GMP.
Terapias in vivo	Administración directa al tejido u órgano afectado, potencial para evitar trasplantes celulares y procedimientos invasivos.	Evidencia aún limitada; desafíos en vectores, nanopartículas y distribución tisular.
Seguridad	Estudios clínicos muestran baja incidencia de eventos adversos graves.	Falta de seguimiento a largo plazo; riesgo de inmunogenicidad por Cas9 u otros

componentes del sistema CRISPR.

Descripción: Síntesis de las principales ventajas y limitaciones asociadas al uso de tecnologías CRISPR en la edición genética de células madre, considerando aspectos de precisión, aplicabilidad clínica, seguridad, viabilidad técnica y desafíos éticos y regulatorios, con base en la evidencia analizada

Discusiones

Los continuos avances que la terapia genética presenta transforman la percepción de las enfermedades crónicas, desplazando la idea del simple tratamiento paliativo y generando la posibilidad real de una cura definitiva. La evidencia actual, desarrollada a partir de ensayos in vivo y ex vivo, no solo evalúa la seguridad, sino que valida la eficacia que existe de la edición genética en patologías consideradas como carentes de alternativas terapéuticas. Uno de los hitos más prometedores es el éxito que existe a partir de la terapia exa-cel (Casgevy), estudiada y publicada por Frangoul et al. (2021). Este avance en particular demuestra que la manipulación de las células madre hematopoyéticas ha dejado de ser un simple experimento de laboratorio y se convierte en una realidad y esperanza de vida para los pacientes que padecen de anemia falciforme.

Sin embargo, el éxito de estas terapias aún se mantiene en análisis principalmente asociada a la metodología de la entrega. El entorno ex vivo permite garantizar seguridad al paciente debido a que todos los parámetros están controlados, la aplicación in vivo por otro lado todavía presenta grandes retos. Uno de los retos, no es solo encontrar el mejor vehículo para la entrega de la maquinaria CRISPR, sino también en saber y prever la respuesta inmune del huésped. La proteína Cas9 es de origen bacteriano por lo que puede ser reconocida por el sistema inmune y generar una respuesta inflamatoria, además, de estos retos se suman conocer los niveles de toxicidad o efectos off-target que se asociarían a las dificultades de la terapia in vivo. Un ejemplo claro es la edición in vivo para la amiloidosis, aunque los resultados son bastante alentadores debido a que existe una reducción de proteínas patógenas, la

precisión de entrega sigue siendo un gran obstáculo, ya que la distribución de la terapia presenta especificidad limitada, realizándose entregas fuera del tejido hepático como lo mencionan Gillmore et al. (2021) y Longhurst et al. (2024). Considerando esto el uso de nanopartículas lipídicas (LNPs) podría ser la mejor opción para la amiloidosis, ya que tienen un gran tropismo hepático, siendo la mejor manera de entregar la terapia.

En cuanto a la evaluación de la precisión se debe considerar las herramientas que actualmente se tienen para la edición genética, es este aspecto Cerna-Chavez et al. (2024), consideran que existe un desplazamiento de la herramienta Cas9 estándar hacia nuevos sistemas de Prime editing y Base editing. La primera generación de CRISPR era la generación de cortes de doble cadena y esto a menudo resultaba en inserciones o deleciones que eran completamente impredecibles. Las herramientas actuales con el uso de epegRNAs y sistemas de edición de base permite generar modelos isogénicos de enfermedades mendelianas con una eficiencia drásticamente superior y lo más importante, con un perfil de seguridad epigenética mucho más estable. Esto sugiere que futuro de la medicina regenerativa no solo buscar cortar ADN, principalmente reescribirlo sin comprometer la viabilidad celular a largo plazo.

Así pues, el uso de células madre pluripotentes inducidas editadas in vitro a más de proporcionarnos información relevante sobre patologías y de corregir estas mutaciones específicas, nos permite identificar entre efectos causados directamente por alteraciones genéticas y aquellos que pueden darse por motivos ambientales. Este avance, en la medicina regenerativa abre nuevas puertas (Hendriks et al. 2020), en cuanto al desarrollo acelerado de fármacos y establece las bases para trasplantes autólogos que disminuiría el riesgo de rechazo inmunológico.

Conclusiones

En conclusión, la convergencia entre la tecnología CRISPR y la plasticidad que tienen las células madre no representa simplemente una mejora técnica, sino un profundo cambio en la historia de la medicina regenerativa: el paso definitivo de resolver solo sintomatología, a la corrección directa de la patología. La evidencia sistematizada en esta revisión nos permite establecer las nuevas técnicas y el uso actual en la medicina, sin embargo, el uso de esta dependerá de superar los desafíos críticos y perfeccionar la escritura genómica, estos avances, además, permite desarrollar otros campos como la medicina personalizada.

El éxito en células hematopoyéticas ya es una realidad clínica que cuenta con terapias aprobadas y probadas para el uso en pacientes, la expansión hacia otros tejidos depende estrictamente de resolver la especificidad de las nanopartículas lipídicas o los vectores virales, además, la respuesta inmune a la proteína Cas9. En definitiva, el avance de la medicina regenerativa ya no se mide en la capacidad de editar, si no en la precisión de hacerlo sin altear la viabilidad de la célula o la estabilidad del genoma a largo plazo.

Referencias bibliográficas

- Balboa, D., Prasad, R. B., Groop, L., & Otonkoski, T. (2019). Genome editing of human pancreatic beta cell models: problems, possibilities and outlook. *Diabetologia*, 62(8), 1329–1336. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4908-z>
- Bjursell, M., Porritt, M. J., Ericson, E., Taheri-Ghahfarokhi, A., Clausen, M., Magnusson, L., Admyre, T., Nitsch, R., Mayr, L., Aasehaug, L., Seeliger, F., Maresca, M., Bohlooly-Y, M., & Wiseman, J. (2018). Therapeutic Genome Editing With CRISPR/Cas9 in a Humanized Mouse Model Ameliorates α 1-antitrypsin Deficiency Phenotype. *EBioMedicine*, 29, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.02.015>
- Cerna-Chavez, R., Ortega-Gasco, A., Baig, H. M., Ehrenreich, N., Metais, T., Scandura, M. J., Bujakowska, K., Pierce, E. A., & Garita-Hernandez, M. (2024). Optimized Prime Editing of Human Induced Pluripotent Stem Cells to Efficiently Generate Isogenic Models of Mendelian Diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 26, Issue 1, p. 114). <https://doi.org/10.3390/ijms26010114>
- Chang, K.-H., Huang, C.-Y., Ou-Yang, C.-H., Ho, C.-H., Lin, H.-Y., Hsu, C.-L., Chen, Y.-T., Chou, Y.-C., Chen, Y.-J., Chen, Y., Lin, J.-L., Wang, J.-K., Lin, P.-W., Lin, Y.-R., Lin, M.-H., Tseng, C.-K., & Lin, C.-H. (2021). In vitro genome editing rescues parkinsonism phenotypes in induced pluripotent stem cells-derived dopaminergic neurons carrying LRRK2 p.G2019S mutation. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), 508. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02585-2>
- Frangoul, H., David, A., Domenica, C. M., Yi-Shan, C., Jennifer, D., K., E. B., Juergen, F., Josu, de la F., Stephan, G., Rupert, H., W., H. T., Antonis, K., Andrew, K., Julie, L.-H., M., L. A., Franco, L., Y., M. M., Mariane, de M., Damiano, R., ... Selim, C. (2021). CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. *New England Journal of Medicine*, 384(3), 252–260. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054>
- Frangoul, H., Franco, L., Akshay, S., Monica, B., Markus, M., Lyndsay, M., Donna, W., I., L. R., Paul, T., J., S. A., Marina, C., Selim, C., Damiano, R., Roland, M., Laurence, D., Stephan, L., Mariane, de M., H., S. M., C., W. M., ... A., G. S. (2024). Exagamglogene Autotemcel for Severe Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*, 390(18), 1649–1662. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2309676>
- Gillmore, D. J., Ed, G., Jorg, T., Justin, K., Marianna, F., L., M. M., Jessica, S., Daniel, O., R., W. K., Kristy, W., Jonathan, P., Yuanxin, X., Adam, A., P., B. A., E., C. J., D., M. M., Andrew, S., Olivier, H., Andrew, M., ... David, L. (2021). CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis. *New England Journal of Medicine*, 385(6), 493–502. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2107454>
- Hendriks, D., Clevers, H., & Artegiani, B. (2020). CRISPR-Cas Tools and Their Application in Genetic Engineering of Human Stem Cells and Organoids. *Cell Stem Cell*, 27(5), 705–731. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.014>
- Lara-Sáez, I., Mencía, Á., Recuero, E., Li, Y., García, M., Oteo, M., Gallego, M. I., Enguita, A. B., de Prado-Verdún, D., A, S., Wang, W., García-Escudero, R.,

- Murillas, R., & Santos, M. (2024). Nonviral CRISPR/Cas9 mutagenesis for streamlined generation of mouse lung cancer models. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(28), e2322917121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2322917121>
- Locatelli, F., Lang, P., Corbacioglu, S., Wall, D., Meisel, R., Li, A. M., de La Fuente, J., Shah, A. J., Carpenter, B., Kwiatkowski, J. L., Mapara, M., Liem, R. I., Cappellini, M. D., Algeri, M., Kattamis, A., Sheth, S., Grupp, S., Kohli, P., Shi, D., ... Frangoul, H. (2023). Exagamglogene Autotemcel for Transfusion-Dependent β -Thalassemia. *Blood*, 142(Supplement 1), 1053. <https://doi.org/10.1182/blood-2023-190534>
- Long, C., Li, H., Tiburcy, M., Rodriguez-Caycedo, C., Kyrychenko, V., Zhou, H., Zhang, Y., Min, Y.-L., Shelton, J. M., Mammen, P. P. A., Liaw, N. Y., Zimmermann, W.-H., Bassel-Duby, R., Schneider, J. W., & Olson, E. N. (2018). Correction of diverse muscular dystrophy mutations in human engineered heart muscle by single-site genome editing. *Science Advances*, 4(1), eaap9004. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9004>
- Longhurst, L. H., Karen, L., S., P. R., M., F. L., Padmalal, G., David, M., S., B. J., Y., S. M., Adele, G., Yuanxin, X., Carri, B., D., V. J., M., A. A., L., M. M., D., M. M., Jessica, S., W., H. B., Samantha, S., John, L., ... M., C. D. (2024). CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing of KLKB1 for Hereditary Angioedema. *New England Journal of Medicine*, 390(5), 432–441. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2309149>
- Pimentel-Parra, G. A., & Murcia-Ordoñez, B. (2018). Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatología y Reproducción Humana*, 31(1), 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.rprh.2017.10.013>
- Quesada Leyva, L., León Ramentol, C. C., Fernández Torres, S., & Nicolau Pestana, E. (2018). Células madre: una revolución en la medicina regenerativa. In *MEDISAN* (Vol. 21, pp. 574–581). scielocu.
- Rafi, M. A. (2011). Gene and stem cell therapy: alone or in combination? *BioImpacts* : BI, 1(4), 213–218. <https://doi.org/10.5681/bi.2011.030>
- Smith, R. H., Chen, Y.-C., Seifuddin, F., Hupalo, D., Alba, C., Reger, R., Tian, X., Araki, D., Dalgard, C. L., Childs, R. W., Pirooznia, M., & Larochelle, A. (2020). Genome-Wide Analysis of Off-Target CRISPR/Cas9 Activity in Single-Cell-Derived Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Clones. *Genes*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/genes11121501>
- Vizoso, F. J., Costa, L. A., & Eiro, N. (2023). Nueva era de la medicina basada en las células madre mesenquimales: bases, retos y perspectivas. *Revista Clínica Española*, 223(10), 619–628. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rce.2023.10.002>
- Wang, J., Sun, S., & Deng, H. (2023). Chemical reprogramming for cell fate manipulation: Methods, applications, and perspectives. *Cell Stem Cell*, 30(9), 1130–1147. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2023.08.001>
- Wang, Y., Hu, G., Hill, R. C., Dzieciatkowska, M., Hansen, K. C., Zhang, X.-B., Yan, Z., & Pei, M. (2021). Matrix reverses immortalization-mediated stem cell fate determination. *Biomaterials*, 265, 120387.
-

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120387>

Xu, L., Jun, W., Yulin, L., Liangfu, X., Bin, S., Danlei, M., Longteng, W., Tingting, L., Xiaobao, W., Bin, Z., Long, Z., Liangding, H., Hongmei, N., Yufeng, Z., Kai, D., Lifeng, L., Xiaofan, L., Tong, Z., Jun, X., ... Hu, C. (2019). CRISPR-Edited Stem Cells in a Patient with HIV and Acute Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, 381(13), 1240–1247. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1817426>.