Activación epigenética del gen SERPINA3 como estrategia compensatoria para la deficiencia de alfa-1 antitripsina: propuesta de un modelo con CRISPRa

Epigenetic activation of the SERPINA3 gene as a compensatory strategy for alpha-1 antitrypsin deficiency: proposal of a model with CRISPRa

Maciel Andrea Alfaro-Ulate[1], Luis Alfredo Barboza-Fallas[2], Sylvanna Samira Dodero-Ramírez[3], Ronald Steven Quesada-Monge[4], Josué David Rojas-Rojas[5], Laura Viviana Sanabria-Rodríguez[6]

Fecha de recepción: 1 de diciembre, 2025
Fecha de aprobación: 16 de abril, 2026

Alfaro-Ulate, M.A; Barboza-Fallas, L.A; Dodero-Ramírez, S.S; Quesada-Monge, R.S; Rojas-Rojas, J.D; Sanabria-Rodríguez, L.V. Activación epigenética del gen SERPINA3 como estrategia compensatoria para la deficiencia de alfa-1 antitripsina: propuesta de un modelo con CRISPRa. *Tecnología en Marcha*. Vol. 39 Nº 4. Octubre-Diciembre, 2026. Pág. 132-142.

https://doi.org/10.18845/tm.v39i4.8348

1 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
macalfaro@estudiantec.cr
https://orcid.org/0009-0001-7404-3615
2 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
lubarboza@itcr.ac.cr
https://orcid.org/0000-0003-1669-3764
3 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
sdodero@estudiantec.cr
https://orcid.org/0009-0002-0463-1574
4 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
ronquesada@estudiantec.cr
https://orcid.org/0009-0003-6033-5996
5 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
j.rojas.10@estudiantec.cr
https://orcid.org/0009-0000-0782-2486
6 Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
lasanabria@estudiantec.cr
https://orcid.org/0009-0004-2614-3111

Palabras clave

Sobrexpresión; *SERPINA3*; AATD; hepatocitos; antiproteasa; hígado.

Resumen

La deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD) es una enfermedad genética asociada principalmente con mutaciones en *SERPINA1*, que ocasionan acumulación de proteína mal plegada en el hígado y menor protección antiproteasa pulmonar. Este artículo revisa los avances recientes en terapias génicas para la AATD y propone un modelo alternativo basado en la activación epigenética de *SERPINA3* mediante CRISPRa. La estrategia utilizaría ARNm de dCas9-VP64 o dCas9-p300core y sgRNA dirigidos al promotor de *SERPINA3*, administrados mediante nanopartículas lipídicas funcionalizadas con GalNAc. La propuesta se evaluaría inicialmente en hepatocitos derivados de células iPSC y posteriormente en modelos murinos con hígado humanizado. Se analizarían la expresión génica, la secreción de alfa-1-antiquimotripsina, la actividad antiproteasa, la viabilidad celular y los posibles efectos fuera del objetivo. El modelo busca determinar si la activación controlada de *SERPINA3* puede compensar parcialmente el desequilibrio entre proteasas y antiproteasas característico de la AATD sin modificar directamente la secuencia del ADN.

Keywords

Overexpression; *SERPINA3*; AATD; hepatocytes; antiprotease; liver.

Abstract

Alpha-1 antitrypsin deficiency (AATD) is an inherited disorder mainly associated with pathogenic variants in *SERPINA1*, which cause misfolded protein accumulation in the liver and reduced pulmonary antiprotease protection. This article reviews recent advances in gene therapies for AATD and proposes an alternative model based on epigenetic activation of *SERPINA3* using CRISPRa. The strategy would use mRNA encoding dCas9-VP64 or dCas9-p300core and sgRNAs targeting the *SERPINA3* promoter, delivered through GalNAc-functionalized lipid nanoparticles. The approach would be evaluated initially in hepatocytes derived from induced pluripotent stem cells and subsequently in humanized liver mouse models. Gene expression, alpha-1 antichymotrypsin secretion, antiprotease activity, cell viability, and potential off-target effects would be assessed. The model seeks to determine whether controlled *SERPINA3* activation can partially compensate for the protease-antiprotease imbalance associated with AATD without directly modifying the DNA sequence, thereby providing a potentially reversible compensatory strategy for further preclinical investigation and validation in relevant experimental systems.

Introducción

La deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD) es causada por mutaciones en el gen *SERPINA1*, encargado de codificar la proteína alfa-1 antitripsina (A1AT), cuya función principal es proteger el tejido pulmonar mediante la inhibición de la elastasa de los neutrófilos. Dependiendo de la variante, los niveles de A1AT en la sangre pueden disminuir o la proteína puede plegarse de forma anómala, lo que provoca dos problemas principales: la destrucción del tejido pulmonar y la acumulación de polímeros en el hígado, que pueden conducir al desarrollo de enfisema y daño hepático, respectivamente [1], [2].

En el ámbito clínico, la AATD se asocia con enfisema de inicio temprano, bronquiectasias y, en los casos más graves, cirrosis y carcinoma hepatocelular. Los síntomas suelen aparecer entre los 20 y 50 años, y el tabaquismo acelera significativamente la progresión de la enfermedad [2]. Aunque se considera una enfermedad rara, su prevalencia global se estima entre 1 de cada 2000 y 6000 individuos, con mayor frecuencia en poblaciones de ascendencia europea. Además, gran parte de los pacientes permanece sin diagnóstico, lo que refleja un subreconocimiento clínico importante [2], [3].

Actualmente, los tratamientos disponibles incluyen broncodilatadores, glucocorticoides, terapia de aumento con A1AT purificada y, en casos avanzados, trasplante de hígado. Sin embargo, estos abordajes no eliminan la causa genética de la enfermedad. La terapia de aumento requiere infusiones regulares y costosas, mientras que el trasplante depende de la disponibilidad de órganos y conlleva riesgos elevados [3], [4]. En los últimos años, se han explorado nuevas estrategias, como el silenciamiento del transcrito de la variante Z de *SERPINA1* mediante siRNA, que ha mostrado mejoras en parámetros clínicos e histológicos, aunque todavía no representa una cura definitiva [5], [6].

Frente a las limitaciones de los tratamientos actuales, se han investigado estrategias de edición genética dirigidas a corregir variantes patogénicas de *SERPINA1* en los hepatocitos. Entre ellas, la edición de bases administrada mediante nanopartículas lipídicas ha conseguido corregir la variante PiZ en modelos preclínicos, aumentar la concentración sérica de A1AT y mejorar la histología hepática [7]. También se ha demostrado la corrección de esta variante en hepatocitos derivados de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) de pacientes con AATD, con una reducción en la acumulación de la proteína mal plegada y una recuperación de su secreción [8]. Sin embargo, todavía persisten desafíos relacionados con la eficiencia y estabilidad de la edición, los efectos fuera del objetivo, la inmunogenicidad y la administración eficiente de los componentes terapéuticos [7], [9]. Por ello, resulta pertinente explorar estrategias alternativas que regulen la expresión génica sin modificar directamente la secuencia del ADN.

En este contexto, el presente trabajo revisa los avances y las limitaciones de las terapias génicas desarrolladas para la AATD y propone un modelo conceptual basado en la activación epigenética de *SERPINA3* mediante CRISPRa. Este sistema utiliza una Cas9 catalíticamente inactiva unida a dominios activadores para incrementar la transcripción de genes endógenos sin producir cortes en el ADN [10]. Debido a que *SERPINA3* codifica una antiproteasa secretada principalmente por el hígado, se propone evaluar si el aumento controlado de su expresión puede contribuir a compensar parcialmente el desequilibrio entre proteasas y antiproteasas asociado con la enfermedad [11]. De esta manera, el trabajo plantea una estrategia de compensación funcional como una posible alternativa para ampliar las opciones terapéuticas dirigidas a la AATD.

Para sustentar la revisión, se realizó una búsqueda bibliográfica entre el 19 de agosto y el 28 de noviembre de 2025 mediante Google Scholar, SciELO, ResearchGate, el Repositorio Institucional de la UNAM y la Red de Bibliotecas de ODUCAL. Se utilizaron términos relacionados con la deficiencia de alfa-1 antitripsina, *SERPINA1*, *SERPINA3*, CRISPRa, edición génica y nanopartículas lipídicas. Se priorizaron publicaciones en español e inglés correspondientes al periodo 2020–2025, aunque también se incluyeron fuentes anteriores por su relevancia para explicar aspectos fundamentales de la enfermedad. La selección se realizó mediante la revisión de títulos, resúmenes y textos completos, y se excluyeron documentos duplicados o sin relación directa con el objetivo del trabajo.

Bases genéticas y moleculares de la AATD

La deficiencia de alfa-1-antitripsina se ha vinculado a mutaciones del gen *SERPINA1*, el cual es uno de los inhibidores de la proteasa en el suero [12]. Se relacionan más de 500 mutaciones diferentes para el *locus SERPINA1*, las deficiencias con mayor frecuencia en la deficiencia son Z (Glu342Lys) y el S relacionado con el alelo (Glu264Val), el tipo silvestre del alelo se denomina M [13].

Mutación en alelo Z

Este alelo presenta una mutación p.Glu342Lys, lo cual es un reemplazo de un residuo de glútamico por uno de lisina en la región clave de la estructura de la *SERPINs* que ha sido demostrado experimentalmente que altera las propiedades de la AAT [14].

Esta mutación genera la síntesis de monómeros inestables dejando abiertos el *breach* y el *shutter*, lo cual predispone al alelo Z a dimerizarse. Esto puede ocurrir por tres mecanismos distintos: mediante el intercambio del extremo C-terminal, en el que la AAT donadora presenta una auto-inserción del RCL junto con un plegamiento anormal de la región C-terminal que se inserta en la siguiente molécula de AAT; mediante la reorganización *loop-sheet*, donde el RCL ocupa el *shutter* de otra molécula de AAT; o mediante la configuración de horquilla β, cuando el RCL, junto con una β-hebra contigua, forma una estructura tipo horquilla β que se inserta en el núcleo de una molécula receptora de AAT [13]

Esta variante de deficiencia grave es la más común del gen alfa-1-antitripsina, la frecuencia de portadores es 1 en 27 personas en el norte de Europa, 1 en 83 en Estados Unidos, 1 en 75 personas de ascendencia europea en Australia, 1 en 46 personas de ascendencia europea en Nueva Zelanda; no se ha observado en China, Japón, Corea, Malasia ni en el norte y oeste de África [15].

Mutación en alelo S

La mutación del alelo S corresponde a la variante p.Glu264Val, que consiste en la sustitución de un residuo de ácido glutámico por valina. Esta alteración reduce la estabilidad de la alfa-1 antitripsina (AAT), favorece su plegamiento anómalo parcial y disminuye su secreción desde el hígado hacia la circulación [12], [15]. El alelo S es una de las variantes deficientes más frecuentes y presenta una distribución relacionada principalmente con la ascendencia europea. Su frecuencia de portadores es de aproximadamente 1 de cada 5 personas en el sur de Europa, 1 de cada 30 en Estados Unidos, 1 de cada 23 personas de ascendencia europea en Australia y 1 de cada 26 en Nueva Zelanda. En contraste, es poco frecuente o prácticamente inexistente en poblaciones de Asia, África y entre poblaciones aborígenes australianas [15].

En la deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD), la mutación Z (Glu342Lys) provoca una polimerización de la proteína y su acumulación dentro de los hepatocitos [16]. Este proceso reduce de forma significativa la cantidad de AAT que se libera a la circulación y limita la disponibilidad de la proteína en el pulmón para inhibir la elastasa de neutrófilos [16].

Diversos estudios han mostrado que los individuos homocigotos Pi*ZZ presentan concentraciones más elevadas de polímeros de AAT en plasma, dichos niveles se asocian tanto con un peor rendimiento en pruebas de función pulmonar, como con un incremento de la rigidez hepática [17], [18]. Esto sugiere que la alteración no es solamente cuantitativa, sino también cualitativa, ya que la proteína que circula puede encontrarse en formas menos eficaces [17], [19].

La función de la AAT se ve aún más comprometida por su vulnerabilidad a la oxidación. Un mecanismo clave es la inactivación del residuo de metionina en su sitio activo, el cual es particularmente sensible al daño oxidativo en contextos como el tabaquismo, lo que anula su capacidad para unirse a la elastasa [17].

La consecuencia directa de este desequilibrio entre proteasas y antiproteasas es la degradación de fibras elásticas y matriz extracelular en el parénquima pulmonar. A nivel clínico, este mecanismo se manifiesta como enfisema panacinar, con predominio en lóbulos inferiores, acompañado de atrapamiento aéreo y disminución progresiva de la función respiratoria [20], [21].

Por último, aunque se ha utilizado históricamente el umbral sérico de 11 µM como referencia para un nivel protector de AAT, investigaciones recientes señalan que este valor debe interpretarse con cautela y en conjunto con la situación clínica de cada paciente [6]. Esto subraya que las terapias actuales no siempre garantizan una protección efectiva y refuerza la necesidad de alternativas más estables y duraderas [22], [1].

Análisis Comparativo con otras enfermedades monogénicas tratadas con CRISPR

Los avances recientes en edición génica con CRISPR-Cas9 han demostrado su potencial terapéutico en humanos para diversas enfermedades monogénicas, sentando un precedente crucial para el desarrollo de una terapia para la Deficiencia de Alfa-1 Antitripsina (AATD). Los éxitos en modelos de aplicación *ex vivo* e *in vivo* proporcionan un marco de referencia para la corrección del gen *SERPINA*1.

Enfermedades Hepáticas: Edición In Vivo en Amiloidosis por ATTR

El ensayo clínico de NTLA-2001 demostró que una única administración intravenosa del sistema *CRISPR* empaquetado en nanopartículas lipídicas (LNP) es suficiente para inducir una disminución profunda y duradera de los niveles de transtiretina en el suero de los pacientes [23]. Este estudio constituye la primera evidencia de edición génica *in vivo* eficaz en hepatocitos humanos. El paralelismo con la AATD es directo, ya que el hígado es también el órgano diana, respaldando la idea de que un enfoque similar podría restaurar la secreción de AAT funcional a la circulación.

Enfermedades oftálmicas y metabólicas: Lecciones de LCA10 y PCSK9

Para la amaurosis congénita de Leber (LCA10), el estudio EDIT-101 empleó vectores de AAV para administrar los componentes de *CRISPR* directamente en el espacio subretiniano. Los resultados mostraron un perfil de seguridad manejable y señales preliminares de mejora en la función visual en un subconjunto de pacientes tratados [24]. Por otro lado, en modelos preclínicos de hipercolesterolemia familiar, la edición de bases o *base editing* del gen PCSK9 en el hígado de primates no humanos, administrada mediante LNP, logró una reducción duradera del colesterol LDL [25]. La lección para AATD es que la edición *in vivo* es viable en humanos y primates, y que tecnologías de alta precisión como la edición de bases son candidatas ideales para corregir la mutación puntual E342K en el gen *SERPINA*1.

Estado actual de la investigación

Un estudio reciente documenta que se emplearon en ensayos preclínicos vectores AAV o adenovirus con *SERPINA1*, observándose restauración parcial de AAT sérica y reducción de los síntomas pulmonares/hepáticos en modelos animales, pero sin evidencia firme de mantenimiento prolongado en humanos [9].

Además, la inmunogenicidad al capsídeo viral y respuestas adquiridas (anticuerpos, activación de linfocitos T) han sido reportadas como causas de fallo en la expresión persistente o al impedir re-administraciones del vector [26].

Por otro lado, los desafíos de lograr una expresión segura incluyen variabilidad en la dosis requerida, riesgo de toxicidad hepática en pacientes PiZZ debido al estrés por acumulación de PiZ, y la necesidad de que la expresión sea lo suficientemente alta para proteger los pulmones con menor incidencia de posibles efectos adversos [9].

En los últimos años, ha habido adelantos notables con edición génica basada en *CRISPR*, especialmente mediante *base editors* y *prime editors*. Por ejemplo, un estudio de 2022 demostró que el uso de *base editors*, entregados con nanopartículas lipídicas, corrigió la mutación PiZ en ratones transgénicos, aumentando la AAT sérica y mejorando la histología hepática [7]. Otro trabajo en 2025 usó un *adenine base editor* compacto empaquetado en un AAV, que logró aproximadamente un 23 % de edición sobre el gen mutante en hígado murino, reduciendo el daño hepático asociado [27].

El sistema de administración hacia el órgano diana continúa siendo uno de los principales desafíos. Las nanopartículas lipídicas han permitido administrar editores genéticos al hígado y corregir la variante PiZ de *SERPINA1* en modelos preclínicos [7]. Asimismo, la funcionalización de estas nanopartículas con ligandos GalNAc ha demostrado favorecer la entrega hepática de componentes de edición genética en modelos animales [26], [28]. Sin embargo, su aplicación para transportar sistemas dirigidos específicamente a la corrección o regulación de *SERPINA1* y *SERPINA3* todavía requiere validación adicional.

En cuanto a los modelos celulares *ex vivo*, se ha demostrado que los editores de adenina pueden corregir la variante Z en hepatocitos derivados de células madre pluripotentes inducidas de pacientes con AATD. Esta corrección redujo la acumulación de la proteína mal plegada y restauró parcialmente la secreción de AAT, sin que se detectaran modificaciones fuera del objetivo mediante los métodos de secuenciación utilizados en el estudio [28].

A pesar de estos avances, todavía persisten desafíos relacionados con la eficiencia de la edición *in vivo* y su estabilidad a largo plazo [9], [27]. Los editores de bases también pueden producir modificaciones fuera del objetivo o cambios no deseados en bases cercanas al sitio seleccionado [28]. Por otra parte, la respuesta inmunitaria frente a los componentes de edición o sus vehículos de administración puede limitar la persistencia del tratamiento y dificultar su readministración, especialmente cuando se utilizan vectores virales [9], [26]. Estos riesgos deben evaluarse mediante estudios preclínicos específicos antes de considerar su aplicación clínica.

Finalmente, a la fecha considerada en esta revisión, no se dispone de evidencia clínica publicada y revisada por pares que demuestre la corrección de la AATD mediante CRISPR. Los estudios publicados comprenden la edición de *SERPINA1* en modelos murinos mediante nanopartículas lipídicas [7] y vectores AAV [27], así como su evaluación en hepatocitos derivados de células iPSC de pacientes con AATD [28]. Por tanto, la evidencia disponible continúa siendo principalmente preclínica.

Potenciales implicaciones clínicas

El enfisema es una enfermedad que se caracteriza por la formación de espacios aéreos distales al bronquiolo terminal debido a la destrucción de las paredes alveolares, debido a que la elastasa degrada fibras elásticas y colágeno en los alvéolos [29]. Otra de las enfermedades desarrolladas es la hepatopatía, que lleva a una incapacidad de digerir los alimentos, almacenar energía y eliminar toxinas, debido a que el genotipo ZZ tiene un mal plegamiento de

la proteína AAT que precipita en agregados de polímeros en el hígado. Ambas manifestaciones se relacionan en cuanto a la concentración plasmática de ATT, 80mg/dl-120 mg/dl [30], y el enfisema suele darse de 30mg/dl-40mg/dl y, también, se puede manifestar debido a alelos nulos, siendo el riesgo más alto, sin embargo, la hepatopatía suele expresarse en las etapas iniciales de la vida y se le asocia al genotipo dominante [31],[32].

La terapia de reemplazo enzimático (TRE) se basa en la administración periódica, vía intravenosa, de una enzima exógena biológicamente activa obtenida tradicionalmente a partir del plasma humano purificado. Sin embargo, actualmente se busca desarrollar proteínas recombinantes como alternativa de producción, con el objetivo de disponer de una fuente más accesible, segura y eficiente de la enzima necesaria para la terapia [33]. Esta enzima es absorbida en las células y reemplaza la que está defectuosa, permitiendo la degradación de los sustratos acumulados, lo que provoca que el equilibrio de las proteasas sea restaurado, reduciendo la degradación de tejido [28][34]. La sustancia infundida ha demostrado mantener su actividad enzimática en plasma y en lavado broncoalveolar. Como la vida media de la AAT infundida es de 4–5 días, las primeras pautas de administración ensayadas tuvieron una periodicidad semanal de 60 mg/kg/semana; sin embargo, si se aplica una concentración menor, puede generar periodos menores de protección tisular [31][34].

Asimismo, se buscan alternativas debido a que los costos pueden llegar ser realmente elevados, además, si no es compatible se podrían presentar efectos adversos. Una de las alternativas que han dado resultados es la INBRX-101, lo cual requiere una dosis cada 3 semanas, igualmente el estudio menciona que es bien tolerado y que aumentó la actividad anti-elastasa, lo cual indica un descenso en la degradación del tejido pulmonar [35].

Propuesta de Terapia Epigenética con CRISPRa para la Deficiencia de Alfa-1 Antitripsina (AATD)

Se propone un análisis comparativo sobre técnicas de terapia epigenética, esperando la respuesta compensatoria del gen *SERPINA3*, las cuales se basan en el sistema CRISPRa, evaluando dCas9-VP64 frente a dCas9-p300core, las cuales deben presentar disparidad de resultados según la inducción de SERPINA3, la secreción de proteína y la ausencia de toxicidad, previamente al estudio in vivo.

El objetivo consiste en inducir en los hepatocitos una sobreexpresión controlada de *SERPINA3*, gen que codifica la alfa-1-antiquimotripsina, una antiproteasa, producida principalmente por el hígado y con actividad inhibitoria sobre serinproteasas como la catepsina G, la quimotripsina y la quimasa [11]. A partir de estas propiedades, se propone evaluar si el aumento de su expresión puede contribuir a compensar parcialmente el desequilibrio entre proteasas y antiproteasas asociado con la AATD. Esta compensación constituye una hipótesis del modelo y todavía debe demostrarse experimentalmente.

El sistema CRISPRa utiliza una nucleasa Cas9 catalíticamente inactiva, denominada dCas9, fusionada a dominios activadores transcripcionales. Mediante sgRNA complementarios a secuencias reguladoras específicas, el complejo se dirige hacia la región promotora de *SERPINA3* y estimula su transcripción sin cortar ni modificar directamente la secuencia del ADN [10]. Se compararán dos configuraciones de los activadores, que difieren entre sí por su fusión: una está relacionada con el activador VP64, el cual recluta la maquinaria trancripcional, y la otra con su contraparte unida al dominio catalítico de la acetiltransferasa, creando la dCas9-VP64 y la dCas9-p300core, respectivamente [36].

Para su administración en hepatocitos, se propone utilizar LNP funcionalizadas con ligandos GalNAc, debido a que estos ligandos favorecen la captación hepática mediante su reconocimiento por el receptor de asialoglicoproteína presente en los hepatocitos [8], [25]. Este sistema permitiría una expresión transitoria de los componentes de CRISPRa; sin embargo, su eficiencia, seguridad, duración y posibilidad de readministración deberán evaluarse experimentalmente.

El diseño partirá del sitio de inicio de la transcripción (TSS) predominante de *SERPINA3* en hepatocitos humanos, verificado con anotaciones GENCODE y datos de expresión o cromatina accesible. Para cada activador se diseñarán de tres a cinco sgRNA independientes que cubran la ventana promotora de -400 a -50 pb respecto al TSS para activadores transcripcionales como se considera dCas9-VPR, o la vecindad de -100 a +100 pb para dCas9-p300core. Se conservarán guías adyacentes a motivos NGG, con puntuación alta de actividad y sin sitios alternativos con menos de tres desajustes en la región semilla. Se excluirán guías que solapen variantes frecuentes o regiones repetitivas. Las guías se evaluarán individualmente y en combinaciones de dos o tres; se elegirá la combinación que maximice la inducción de SERPINA3 con el menor cambio transcriptómico fuera del objetivo [37][38].

Los grupos control deberán permitir atribuir el efecto a cada componente: células sin tratamiento; LNP vacías; LNP sin GalNAc con la misma carga de RNA; LNP-GalNAc con sgRNA no dirigido; LNP-GalNAc con dCas9 sin dominio activador más sgRNA contra *SERPINA3*; y LNP-GalNAc con dCas9-activador más sgRNA no dirigido. Un control positivo de inducción de un gen hepático validado para CRISPRa puede confirmar que un resultado negativo no proviene de la plataforma. Los controles de vehículo deben igualar composición lipídica, dosis total de RNA y número de administraciones.

En modelos *in vitro* de hepatocitos derivados de células iPSC, preferiblemente con pacientes con genotipo PiZZ y una línea sana para denominar un control, la eficacia se evaluaría mediante el incremento en la expresión de *SERPINA3*, cuantificada por RT-qPCR y Western blot [39], junto con ensayos funcionales para determinar su actividad antiproteasa.

En hepatocitos derivados de al menos tres líneas iPSC independientes, se realizará una matriz exploratoria de 0.1, 0.3 y 1.0 microgramos por mililitro de RNA total encapsulado, con tres réplicas biológicas por condición. La relación entre mRNA del activador y sgRNA se mantendrá constante. El MOI no aplica porque la plataforma propuesta usa LNP no virales. La captación y expresión se medirán a 24, 48, 72 y 96 horas, y la persistencia a 7 días tras una dosis única. El criterio de avance será una inducción reproducible de SERPINA3 y proteína secretada frente a todos los controles, sin pérdida relevante de viabilidad ni respuesta inflamatoria.

En modelos murinos con hígados humanizados se analizarían las concentraciones séricas de SERPINA3 y los posibles cambios histológicos en el hígado y el pulmón, además de evaluar la presencia de respuestas hepáticas o inflamatorias adversas. La evaluación pulmonar tendrá de carácter exploratorio y de seguridad, debido a que este modelo no permite verificar la seguridad pulmonar. Debido a que CRISPRa regula la transcripción sin producir cortes en el ADN, esta estrategia reduciría el riesgo de mutaciones asociadas con la ruptura de la doble cadena; sin embargo, todavía deberán evaluarse sus posibles efectos transcripcionales y epigenéticos fuera del objetivo [10].

Para farmacodinámica inicial se utilizarán ratones con hígado humanizado, puesto que los ARN guía (sgRNA) se diseñan contra el promotor humano de *SERPINA3*. Tras una administración intravenosa única de LNP-GalNAc, se explorarán 0.1, 0.3 y 1.0 mg por kg de mRNA encapsulado, con muestreo a 24 h, 72 h, día 7 y día 14. Se compararán dosis-respuesta, distribución hepática, SERPINA3 humano en hígado y suero, ALT, AST, histopatología, citoquinas y expresión fuera del

objetivo. Un estudio de redosificación se considerará solo después de demostrar reversibilidad y ausencia de respuesta inmunitaria limitante. Este modelo evalúa entrega y activación hepática; por sí solo no demuestra protección pulmonar.

Los resultados se interpretarán por la influencia de SERPINA3 mediante su actividad inhibitoria al momento de quimotripsina, catepsina G y quimasa. El ensayo se basa en estas pruebas, igualmente se puede incluir una complementaria como el estudio de elastasa de neutrófilos para comprobar la compensación funcional directa, debido a que el aumento en biomarcador puede ser una prueba rápida para el análisis, sin embargo, no estaria directamente influenciada en el resultado principal sobre el modelo del AATD.

Esta estrategia podría aplicarse como terapia compensatoria o adyuvante en pacientes con genotipos PiZZ o PiSZ, especialmente en fases tempranas, ofreciendo una alternativa no mutagénica para restaurar el equilibrio proteasa-antiproteasa. Además, el modelo abre la posibilidad de explorar la activación dirigida de otros genes con funciones protectoras endógenas, consolidando una línea de investigación emergente en terapias génicas de regulación epigenética.

Conclusiones

El análisis de la evidencia disponible indica que la activación génica mediante CRISPRa representa una alternativa terapéutica potencialmente viable para el tratamiento de la deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD). Este enfoque busca intervenir sobre el desequilibrio molecular de la enfermedad, originado principalmente por la variante Z del gen *SERPINA1*, que genera una proteína defectuosa asociada con acumulación hepática y pérdida de la protección pulmonar. En este contexto, la activación de *SERPINA3* mediante CRISPRa constituye una hipótesis terapéutica preclínica cuya factibilidad deberá demostrarse mediante la evaluación de la especificidad de la activación, la secreción de proteína funcional, la actividad antiproteasa y la seguridad de la plataforma de administración.

Los estudios preclínicos revisados muestran que la corrección de *SERPINA1* en hepatocitos mediante editores de bases incrementa la secreción de AAT funcional y mejora la histología hepática. Estos resultados constituyen un antecedente relevante para el desarrollo de nuevas estrategias de intervención genética dirigidas al hígado y respaldan la exploración de CRISPRa, aunque su aplicación para activar *SERPINA3* en el contexto de la AATD todavía requiere validación experimental.

Asimismo, los avances clínicos en otras patologías monogénicas tratadas con tecnologías CRISPR, como la amiloidosis por ATTR, respaldan la seguridad y eficacia potencial de estas herramientas y fortalecen el fundamento científico para explorar su aplicación en la AATD. No obstante, aún se requiere establecer indicadores estandarizados que relacionen los cambios moleculares obtenidos con una mejoría funcional objetiva, incluida la restauración de la actividad antielastasa y la reducción del daño hepático y pulmonar.

A pesar de estos avances, la revisión también pone en evidencia una brecha científica significativa. A la fecha considerada, no se conocen ensayos clínicos en humanos que hayan demostrado la corrección de *SERPINA1* mediante CRISPR con resultados clínicos verificables. Además, persisten desafíos relacionados con la eficiencia y estabilidad de la intervención *in vivo*, la inmunogenicidad asociada con los sistemas de administración, los posibles efectos fuera del objetivo y la necesidad de plataformas de entrega más precisas, redosificables y dirigidas al hígado.

En este marco, el valor del presente trabajo se encuentra en la propuesta de una línea de investigación que integra el conocimiento actual de la fisiopatología de la AATD con los avances recientes en biotecnología génica y epigenética. La activación del gen *SERPINA3* mediante CRISPRa se presenta como un modelo conceptual de estrategia terapéutica compensatoria y potencialmente reversible. La posibilidad de inducir la expresión de una antiproteasa endógena abre nuevas perspectivas para el desarrollo de intervenciones personalizadas y complementarias a las terapias actualmente disponibles.

Referencias

[1] G. Ávalos-Navarro, R. Ramírez-Patiño, L. F. Jave-Suárez, and E. Reyes-Uribe, "La proteína alfa-1 antitripsina y su papel en la fisiopatología del cáncer," *Biotecnia*, vol. 26, Art. no. e2287, 2024, doi: 10.18633/biotecnia.v26.2287.

[2] M. Meseeha, A. Sankari, and M. Attia, "Alpha-1 antitrypsin deficiency," in *StatPearls*. Treasure Island, FL, USA: StatPearls Publishing, 2024. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442030/.

[3] National Heart, Lung, and Blood Institute, "Deficiencia de alfa-1 antitripsina," 2024. [Online]. Available: https://www.nhlbi.nih.gov/es/salud/deficiencia-de-alfa-1-antitripsina. Accessed: Sep. 29, 2025.

[4] R. A. Wise, "Deficiencia de alfa1-antitripsina," *Manual MSD, versión para profesionales*, 2024. [Online]. Available: https://www.msdmanuals.com/es/professional/trastornos-pulmonares/enfermedad-pulmonar-obstructiva-cr%C3%B3nica-y-trastornos-relacionados/deficiencia-de-alfa1-antitripsina . Accessed: Sep. 29, 2025.

[5] P. Strnad *et al.*, "Fazirsiran for liver disease associated with alpha1-antitrypsin deficiency," *The New England Journal of Medicine*, vol. 387, no. 6, pp. 514–524, 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2205416.

[6] K. Remih, S. Amzou, and P. Strnad, "Alpha1-antitrypsin deficiency: New therapies on the horizon," *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 59, pp. 149–156, 2021, doi: 10.1016/j.coph.2021.06.001.

[7] M. S. Packer *et al.*, "Evaluation of cytosine base editing and adenine base editing as a potential treatment for alpha-1 antitrypsin deficiency," *Molecular Therapy*, vol. 30, no. 4, pp. 1396–1406, 2022, doi: 10.1016/j.ymthe.2022.01.040.

[8] R. B. Werder *et al.*, "Adenine base editing reduces misfolded protein accumulation and toxicity in alpha-1 antitrypsin-deficient patient iPSC-hepatocytes," *Molecular Therapy*, vol. 29, no. 11, pp. 3219–3229, 2021, doi: 10.1016/j.ymthe.2021.06.021.

[9] R. Lorincz and D. T. Curiel, "Advances in alpha-1 antitrypsin gene therapy," *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 63, no. 5, pp. 560–570, 2020, doi: 10.1165/rcmb.2020-0159PS.

[10] E. Becirovic, "Maybe you can turn me on: CRISPRa-based strategies for therapeutic applications," *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 79, no. 2, Art. no. 130, 2022, doi: 10.1007/s00018-022-04175-8.

[11] M. de Mezer *et al.*, "SERPINA3: Stimulator or inhibitor of pathological changes," *Biomedicines*, vol. 11, no. 1, Art. no. 156, 2023, doi: 10.3390/biomedicines11010156.

[12] S. Seixas and P. I. Marques, "Known mutations at the cause of alpha-1 antitrypsin deficiency: An updated overview of the *SERPINA1* variation spectrum," *The Application of Clinical Genetics*, vol. 14, pp. 173–194, 2021, doi: 10.2147/TACG.S257511.

[13] F. Dasí, "Alpha-1 antitrypsin deficiency," *Medicina Clínica (English Edition)*, vol. 162, no. 7, pp. 336–342, 2024, doi: 10.1016/j.medcle.2023.10.026.

[14] R. Falfán-Valencia, I. Silva-Zolezzi, G. Pérez-Rubio, Á. Camarena, F. Morales-Mandujano, M. Montaño, and A. Ramírez-Venegas, "Bases genéticas y moleculares de alfa-1 antitripsina (*SERPINA1*) y su papel en la EPOC," *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México*, vol. 22, no. 2, pp. 124–136, 2009.

[15] P. Strnad, N. G. McElvaney, and D. A. Lomas, "Alpha1-antitrypsin deficiency," *The New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 15, pp. 1443–1455, 2020, doi: 10.1056/NEJMra1910234.

[16] S. Tumpara *et al.*, "Polymerization of misfolded Z alpha-1 antitrypsin protein lowers CX3CR1 expression in human PBMCs," *eLife*, vol. 10, Art. no. e64881, 2021, doi: 10.7554/eLife.64881.

[17] A. Núñez *et al.*, "Association between circulating alpha-1 antitrypsin polymers and lung and liver disease," *Respiratory Research*, vol. 22, no. 1, Art. no. 244, 2021, doi: 10.1186/s12931-021-01842-5.

[18] G. Menga *et al.*, "Normativas de diagnóstico y tratamiento del déficit de alfa-1 antitripsina," *Revista Americana de Medicina Respiratoria*, vol. 14, no. 1, pp. 28–46, 2014. [Online]. Available: https://www.scielo.org.ar/pdf/ramer/v14n1/v14n1a06.pdf.

[19] C. Mazzuca *et al.*, "Immunological and homeostatic pathways of alpha-1 antitrypsin," *Frontiers in Immunology*, vol. 15, Art. no. 1443297, 2024, doi: 10.3389/fimmu.2024.1443297.

[20] D. Toumpanakis *et al.*, "Small airways disease in patients with alpha-1 antitrypsin deficiency," *Respiratory Medicine*, vol. 213, Art. no. 107248, 2023, doi: 10.1016/j.rmed.2023.107248.

[21] M. E. O'Brien *et al.*, "A review of alpha-1 antitrypsin binding partners for activity and function," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 6, Art. no. 3140, 2022, doi: 10.3390/ijms23063140.

[22] A. N. Franciosi *et al.*, "Alpha-1 antitrypsin deficiency: Clarifying the role of the putative protective threshold," *European Respiratory Journal*, vol. 59, no. 2, Art. no. 2101410, 2022, doi: 10.1183/13993003.01410-2021.

[23] J. D. Gillmore *et al.*, "CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis," *The New England Journal of Medicine*, vol. 385, no. 6, pp. 493–502, 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2107454

[24] E. A. Pierce *et al.*, "Gene editing for CEP290-associated retinal degeneration," *The New England Journal of Medicine*, vol. 390, no. 4, pp. 341–353, 2024, doi: 10.1056/NEJMoa2309915

[25] T. Rothgangl *et al.*, "In vivo adenine base editing of *PCSK9* in macaques reduces LDL cholesterol levels," *Nature Biotechnology*, vol. 39, no. 8, pp. 949–957, 2021, doi: 10.1038/s41587-021-00933-4.

[26] A. Meliani *et al.*, "Antigen-selective modulation of AAV immunogenicity with tolerogenic rapamycin nanoparticles enables successful vector re-administration," *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, Art. no. 4098, 2018, doi: 10.1038/s41467-018-06621-3.

[27] J. Gao *et al.*, "A compact base editor rescues AATD-associated liver and lung disease in mouse models," *Molecular Therapy*, vol. 33, no. 11, pp. 5817–5828, 2025, doi: 10.1016/j.ymthe.2025.08.040.

[28] L. N. Kasiewicz *et al.*, "GalNAc-lipid nanoparticles enable non-LDLR dependent hepatic delivery of a CRISPR base editing therapy," *Nature Communications*, vol. 14, no. 1, Art. no. 2776, 2023, doi: 10.1038/s41467-023-37465-1.

[29] A. O. Carrasco Moctezuma, "Caracterización clínica, bioquímica y genética de individuos con deficiencia de alfa-1 antitripsina: relación de los valores de la función pulmonar y enfisema evaluado por tomografía de alta resolución en pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias del 2010 a 2020," specialty thesis in pulmonology, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, 2020. [Online]. Available: https://repositorio.unam.mx/contenidos/3622281.

[30] R. Reinoso-Arija *et al.*, "Resultados de la implementación de un programa de detección de casos de déficit de alfa-1 antitripsina en pacientes con EPOC," *Open Respiratory Archives*, vol. 5, no. 3, Art. no. 100251, 2023, doi: 10.1016/j.opresp.2023.100251.

[31] R. Vidal, I. Blanco, F. Casas, R. Jardí, and M. Miravitlles, "Diagnóstico y tratamiento del déficit de alfa-1-antitripsina," *Archivos de Bronconeumología*, vol. 42, no. 12, pp. 645–659, 2006, doi: 10.1157/13095974.

[32] R. Cortes-Lopez and I. Barjaktarevic, "Alpha-1 antitrypsin deficiency: A rare disease?," *Current Allergy and Asthma Reports*, vol. 20, no. 9, Art. no. 51, 2020, doi: 10.1007/s11882-020-00942-4.

[33] S. N. Triviño Clavijo, "Estrategias para la optimización de la producción de proteínas recombinantes terapéuticas en *Pichia pastoris* modificadas genéticamente: revisión de literatura," thesis, Dept. Microbiology, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2020. [Online]. Available: http://hdl.handle.net/10554/50034

[34] P. H. Feitosa, "Diagnosis and augmentation therapy for alpha-1 antitrypsin deficiency: Current knowledge and future potential," *Drugs in Context*, vol. 12, Art. no. 2023-3-1, 2023, doi: 10.7573/dic.2023-3-1.

[35] M. L. Brantly *et al.*, "Recombinant alpha-1 antitrypsin–Fc fusion protein INBRX-101 in adults with alpha-1 antitrypsin deficiency: A phase 1 study," *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation*, vol. 11, no. 3, pp. 282–292, 2024, doi: 10.15326/jcopdf.2023.0469.

[36] K. Omachi y J. H. Miner, «Comparative analysis of dCas9-VP64 variants and multiplexed guide RNAs mediating CRISPR activation», PLoS ONE, vol. 17, n.o 6, p. e0270008, jun. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0270008.

[37] M. A. Horlbeck et al., «Compact and highly active next-generation libraries for CRISPR-mediated gene repression and activation», eLife, vol. 5, sep. 2016, doi: 10.7554/elife.19760.

[38] I. B. Hilton et al., «Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers», Nature Biotechnology, vol. 33, n.o 5, pp. 510-517, abr. 2015, doi: 10.1038/nbt.3199.

[39] R. Sule, G. Rivera, and A. V. Gomes, "Western blotting (immunoblotting): History, theory, uses, protocol and problems," *BioTechniques*, vol. 75, no. 3, pp. 99–114, 2023, doi: 10.2144/btn-2022-0034.

Declaración sobre uso de Inteligencia Artificial (IA)

Los autores declaramos haber utilizado *ChatGPT* para múltiples tareas: el apoyo en la estructura y redacción y la traducción de textos. Todos los resultados e información asistidos por IA fueron revisados, verificados y validados minuciosamente por los autores, quienes asumen plena responsabilidad por la precisión, coherencia e integridad del contenido publicado.