APLICACIONES ACTUALES PARA CRISPR: EDITA GENES, CURA ENFERMEDADES Y REINVENTA LA MEDICINA MODERNA

AUTORES: RAFAEL ALEJANDRO BAUTISTA PALACIOS, IVANA ATENCIO BERRUETA

RESUMEN

CRISPR-Cas9 ha revolucionado la biomedicina al ofrecer una herramienta precisa, versátil y de bajo costo para la edición genómica. Esta revisión analiza los avances más relevantes entre 2024 y 2025, con énfasis en variantes de alta fidelidad, editores de bases y *prime editing*, así como en las aplicaciones clínicas más destacadas. Se examinan los primeros tratamientos aprobados para beta-talasemia y anemia falciforme, las estrategias emergentes en oncología e inmunoterapia celular, y los ensayos preclínicos en enfermedades neurológicas, cardiometabólicas y autoinmunes. Además, se abordan los desafíos regulatorios, técnicos y éticos que aún limitan su implementación clínica masiva. El artículo propone una visión crítica pero optimista del papel que jugará CRISPR en la transición hacia una medicina personalizada, segura y accesible.

CONTEXTUALIZACIÓN DEL CRISPR CAS

Una proteína bacteriana y una secuencia repetida cambiaron para siempre la forma en que entendemos el genoma humano. No es una exageración: CRISPR-Cas9 transformó una defensa microbiana en el bisturí molecular más preciso del siglo (1). Lo que comenzó como un hallazgo accidental en *E. coli* en los años 80 se convirtió, décadas más tarde, en una herramienta capaz de cortar, corregir y reescribir el ADN con una precisión sin precedentes. Este sistema, compuesto por una secuencia repetida y una enzima especializada, permite a las bacterias recordar ataques virales y neutralizarlos. Su lógica biológica fue tan elegante que bastó adaptarla mínimamente para convertirla en tecnología de edición genómica dirigida.

El verdadero hito ocurrió en 2012, cuando se demostró que bastaba una guía de ARN para dirigir Cas9 a cualquier punto del genoma humano (1). Desde ese momento, el acceso a la edición genética dejó de ser un privilegio reservado a plataformas sofisticadas. En comparación con herramientas previas como las nucleasas de dedos de zinc o TALENs, CRISPR ofrecía facilidad, bajo costo y eficiencia. Su versatilidad permite aplicaciones inmediatas: desde estudios en células madre hasta la creación de modelos animales de enfermedades. Así inició una carrera acelerada por llevar esta tecnología del laboratorio al tratamiento de patologías humanas reales, con implicaciones que aún no terminamos de dimensionar.

En menos de una década, surgieron variantes como Cas12, Cas13 y los editores de bases, que no solo cortan ADN, sino que también modifican letras genéticas sin necesidad de roturas (1). Herramientas como el *prime editing* permiten reescribir secuencias completas sin dañar la estructura del genoma. También se han desarrollado versiones inactivas de Cas9

capaces de modular la expresión génica o alterar el epigenoma. Estas capacidades han ampliado radicalmente el potencial terapéutico de CRISPR. Actualmente, ya existen terapias aprobadas para enfermedades como la anemia falciforme y la beta-talasemia. Esta revisión analiza los avances más relevantes entre 2024 y 2025, explorando cómo esta tecnología pasó de los microorganismos a los hospitales, y por qué promete transformar la medicina como la conocemos.

DISCUSIÓN

Si CRISPR-Cas9 fue el inició, sus variantes son la evolución inevitable. La búsqueda de precisión llevó al desarrollo de Cas9-HF1 y eSp Cas9, enzimas diseñadas para reducir errores sin sacrificar eficiencia (2). Estas versiones introducen modificaciones estructurales que disminuyen la unión a secuencias no deseadas, minimizando así los temidos efectos *off-target*. En estudios preclínicos, estas nucleasas de alta fidelidad han demostrado tasas de edición específicas superiores al 90%, con una reducción significativa de mutaciones no deseadas (3). Gracias a ellas, la edición dirigida en células humanas resulta ahora más segura, incluso en aplicaciones sensibles como embriones o neuronas. Este refinamiento técnico es fundamental para garantizar que la edición genómica se traduzca en terapias confiables.

Pero mejorar la precisión no lo es todo: también es necesario corregir sin cortar. De ahí emergen dos innovaciones cruciales: los *base editors* y el *prime editing* (4). Los primeros permiten convertir una base por otra—como A por G—sin romper la cadena de ADN, mediante la fusión de Cas9 inactivada con una desaminasa. Esta técnica ya ha sido utilizada para corregir mutaciones puntuales en enfermedades genéticas raras con alta eficiencia y bajo riesgo. Por su parte, el *prime editing* permite no solo sustituir, sino también insertar y eliminar secuencias, sin necesidad de donantes externos ni roturas de doble cadena. Esta versatilidad lo posiciona como una de las herramientas más prometedoras en edición clínica.

Uno de los principales retos es lograr eficiencia en células no proliferativas, como neuronas o cardiomiocitos. En estos casos, la vía HDR, que requiere división celular, es casi inoperante. El *prime editing* ofrece una solución ideal al funcionar de manera independiente del ciclo celular (4). Además, la ausencia de roturas de doble cadena evita activar mecanismos de daño genético que podrían comprometer la viabilidad celular. Estas propiedades lo hacen especialmente atractivo para enfermedades neurodegenerativas, donde preservar la función celular es tan importante como corregir la mutación.

Sin embargo, la seguridad sigue siendo una preocupación. Aunque las nuevas herramientas reducen el riesgo de mutaciones espontáneas, aún se detectan eventos raros que podrían tener consecuencias imprevisibles (2). Se requiere una caracterización exhaustiva del genoma post-edición para cada aplicación clínica. La combinación entre precisión molecular y vigilancia bioinformática es el camino para convertir estas herramientas en terapias confiables y replicables.

APLICACIONES CLÍNICAS POR TIPO DE ENFERMEDAD

a) Hematología: Beta-talasemia y anemia falciforme

Las hemoglobinopatías hereditarias, como la beta-talasemia y la anemia falciforme, han sido las primeras enfermedades humanas tratadas con terapias basadas en CRISPR-Cas9. Su fisiopatología monogénica bien definida facilita la edición dirigida y predecible. En diciembre de 2023, la FDA aprobó Casgevy (exa-cel) y Lyfgenia, marcando el inicio formal de la edición genética terapéutica. Ambas terapias utilizan células madre hematopoyéticas autólogas editadas ex vivo, posteriormente reinfundidas tras un régimen mieloablativo, es decir, una quimioterapia intensiva que elimina la médula ósea original para permitir que las células corregidas colonicen adecuadamente el organismo (5). El éxito clínico obtenido consolidó a estas enfermedades como modelo de referencia para validar nuevas tecnologías genómicas en humanos.

En la anemia falciforme, una mutación puntual en el gen HBB produce hemoglobina S, cuya polimerización en condiciones de hipoxia genera eritrocitos dismórficos con tendencia a la oclusión vascular. En la beta-talasemia, mutaciones en el mismo gen disminuyen o impiden la síntesis de cadenas beta, lo que ocasiona desequilibrio globínico, eritropoyesis ineficaz y anemia crónica. Casgevy funciona al desactivar un potenciador del gen *BCL11A*, lo que permite la reactivación de la producción de hemoglobina fetal (HbF), usualmente silenciada tras el nacimiento. Esta estrategia evita la polimerización anormal de la hemoglobina S en anemia falciforme y compensa la deficiencia de cadena beta en la talasemia. En estudios clínicos, el 93.5% de los pacientes tratados con Casgevy para anemia falciforme no presentaron crisis vasooclusivas durante al menos doce meses. En pacientes con beta-talasemia, más del 90% logró independencia transfusional sostenida (5). Estos resultados evidencian no solo eficacia clínica, sino también estabilidad genética a largo plazo.

Lyfgenia, en cambio, utiliza un vector lentiviral, es decir, un virus modificado derivado del VIH que actúa como vehículo para introducir genes terapéuticos de forma estable en el genoma celular. En este caso, el vector incorpora una variante modificada de la hemoglobina A que evita la polimerización tóxica de la hemoglobina S. Aunque esta terapia mostró una tasa de resolución de eventos vasooclusivos del 88%, también se notificaron casos de neoplasias mieloides, lo que llevó a la FDA a emitir una advertencia (5). A pesar de ese riesgo, ambas terapias representan un punto de inflexión en medicina personalizada. Demuestran que la edición genética ya no es una promesa futura, sino una realidad clínica capaz de cambiar el curso natural de enfermedades previamente incurables.

b) Oncología: Cáncer e inmunoterapia celular

¿Qué pasaría si el sistema inmune pudiera ser reprogramado como un software, para reconocer y destruir tumores con precisión quirúrgica? Esa es la premisa que ha transformado la inmunoterapia celular mediante CRISPR (6). Más allá de potenciar la función de los linfocitos T, esta tecnología

permite escribir directamente su programación genética, eliminando genes inhibidores como PD-1, CTLA-4 o LAG-3 que limitan su actividad. De esta manera, las células T adquieren un perfil funcional más persistente y agresivo frente a células cancerosas. En tumores sólidos y hematológicos, estas ediciones han demostrado mejorar la supervivencia celular, incrementar la actividad citotóxica y facilitar el acceso a microambientes tumorales inmunosupresores.

Zhou et al. describen un ensayo clínico de fase I en el que células T humanas fueron modificadas para eliminar simultáneamente tres genes: TRAC, TRBC y PDCD1 (6). Estas ediciones eliminaron el receptor T endógeno y el gen supresor PD-1, permitiendo introducir un receptor TCR sintético específico para el antígeno tumoral NY-ESO-1, común en sarcomas y melanomas. Las células editadas fueron infundidas en pacientes con cáncer avanzado, y los resultados preliminares mostraron buena tolerancia clínica y activación inmunológica específica, sin toxicidades adversas graves (6). Este enfoque demuestra que es posible editar múltiples loci en células T humanas con seguridad y funcionalidad, validando a CRISPR como una herramienta clínicamente viable en inmunoterapia antitumoral.

Otra innovación clave es la creación de células T universales. Al eliminar genes como B2M y HLA-A, se evita la presentación antigénica que podría desencadenar rechazo por parte del receptor (6). Esto permitiría desarrollar terapias alogénicas "listas para usarse" en múltiples pacientes, reduciendo el tiempo y costo de producción. Adicionalmente, se están integrando sistemas de control genético que permiten activar, silenciar o eliminar las células editadas en respuesta a señales externas, aumentando la seguridad del tratamiento. CRISPR ha dejado de ser solo una técnica de edición para convertirse en una plataforma de diseño inmunológico, capaz de crear terapias celulares con arquitectura genética personalizada, eficiencia elevada y potencial terapéutico revolucionario.

c) Neurología: Edición genética en enfermedades cerebrales

Editar genes en el cerebro parecía impensable hace una década, pero hoy es una posibilidad científica real. CRISPR ha comenzado a romper las barreras estructurales y moleculares que durante años hicieron del sistema nervioso central un terreno vedado para la terapia génica. A diferencia de la edición ex vivo, donde las células se modifican fuera del cuerpo, aquí se requiere una edición in vivo, lo que implica entregar la maquinaria CRISPR directamente al tejido cerebral. Para lograrlo, se han utilizado vectores adenoasociados (AAV), virus modificados no replicantes que transportan secuencias específicas sin integrarse agresivamente al genoma. Estos vectores han alcanzado regiones como el hipocampo, la corteza o la sustancia negra, activando ediciones específicas sin neurotoxicidad observable (7). Esta tecnología ha sido validada en modelos murinos con mutaciones humanas, abriendo un camino experimental hacia terapias neurológicas dirigidas.

En la enfermedad de Parkinson, el foco se ha puesto en el gen *SNCA*, que codifica la alfa-

sinucleína. Su sobreexpresión y agregación anormal son eventos clave en la formación de cuerpos de Lewy, marcadores patológicos de la enfermedad. Utilizando base editing, se ha logrado silenciar variantes patológicas de este gen, reduciendo significativamente la carga de inclusiones proteicas (7). En modelos animales, esta intervención preservó neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra y mejoró la motricidad espontánea, incluso en estadios avanzados de neurodegeneración. Lo notable es que estos efectos se lograron sin alterar otras funciones neuronales, lo que refuerza el potencial de CRISPR como herramienta terapéutica altamente específica para enfermedades motoras crónicas.

En el caso del Alzheimer, los esfuerzos se han dirigido a genes como *APP* y *PSEN1*, cuyas mutaciones hereditarias aumentan la producción de péptidos β-amiloide. La acumulación de estos péptidos forma placas extracelulares que alteran la sinapsis y promueven la neurodegeneración progresiva. Estudios recientes han demostrado que la edición de estos genes mediante CRISPR reduce significativamente los niveles de β-amiloide en modelos animales, con efectos positivos en memoria espacial, comportamiento exploratorio y estabilidad sináptica (7). Incluso se ha observado un rescate funcional en circuitos de hipocampo sin efectos adversos detectables. Estas intervenciones no solo disminuyen el daño estructural, sino que modifican procesos clave en la patogenia, lo que plantea la posibilidad de terapias genéticas que prevengan el deterioro cognitivo desde sus etapas más tempranas.

d) Cardiología y metabolismo

Un solo tratamiento, una única infusión intravenosa, logró reducir hasta en un 96% los niveles de transtiretina en sangre en pacientes con amiloidosis, superando incluso a las terapias aprobadas (TTR) (8). No es una hipótesis de laboratorio ni un ensayo preliminar: es una intervención real en seres humanos, registrada clínicamente y publicada. Por primera vez, CRISPR ha demostrado que puede reescribir el curso natural de una enfermedad genética letal, no solo detenerla, sino borrar su causa (TTR). Donde antes había paliativos, ahora hay posibilidad de remisión funcional o incluso curación.

Pero la revolución no se detiene ahí. En primates, una sola edición del gen *PCSK9* ha reducido en un 60% el colesterol LDL, el principal motor molecular de los infartos y accidentes cerebrovasculares (PCSK9, ANGPTL3). Los genes editados —*PCSK9* y *ANGPTL3*— codifican proteínas que normalmente impiden que el hígado elimine el colesterol de la sangre. Su silenciamiento transforma radicalmente el metabolismo lipídico, ofreciendo una alternativa permanente a décadas de medicación crónica (8). Esto representa una edición potencialmente permanente que busca reemplazar el tratamiento crónico con una única intervención genómica.

Estudios en ratones humanizados han confirmado que esta edición persiste al menos ocho meses sin señales de toxicidad hepática (PCSK9). Las nanopartículas lipídicas y los vectores virales entregan la maquinaria CRISPR con precisión quirúrgica, y los editores de adenina corrigen con una exactitud milimétrica mutaciones en zonas

clave de splice en hepatocitos humanos (PCSK9) (8).

CRISPR también ha abierto un portal hacia el entendimiento profundo de las arritmias y miocardiopatías. En modelos murinos, la edición somática del gen *Myh6* ha replicado cardiomiopatías hipertróficas humanas (8), revelando mecanismos de remodelación cardíaca imposibles de estudiar antes (Myh6). En cardiomiocitos derivados de células madre humanas, las ediciones isogénicas han permitido distinguir con claridad quirúrgica entre variantes benignas y patológicas en genes como *TNNT2*, cambiando decisiones clínicas en tiempo real (8).

MODELOS PRECLÍNICOS Y TERAPIAS EN FASE DE INVESTIGACIÓN

La edición de genomas en modelos animales ha permitido simular enfermedades humanas con una fidelidad antes inalcanzable. A través de CRISPR, hoy es posible introducir mutaciones puntuales patogénicas en genes humanos directamente en el ADN de especies modelo como el ratón o el cerdo. Por ejemplo, en el síndrome de Rett, se han generado modelos isogénicos con mutaciones en *MECP2*, responsables de disfunción neuronal progresiva y deterioro cognitivo. En la epidermólisis ampollar distrófica, se han editado genes como *COL7A1*, cuya alteración impide la formación de colágeno tipo VII, generando fragilidad cutánea extrema (9). Estos modelos permiten validar terapias genéticas, analizar rutas moleculares implicadas y predecir respuestas clínicas con mayor realismo que los sistemas in vitro.

En el campo de las enfermedades autoinmunes, CRISPR ha hecho posible la exploración funcional de genes inmunorreguladores implicados en susceptibilidad genética. Por ejemplo, mutaciones en *TYK2* se asocian con lupus eritematoso sistémico al alterar la señalización de interferones tipo I; *STAT3* contribuye a la hiperactividad de células T y producción de citocinas proinflamatorias en colitis ulcerosa; y *CTLA4* está relacionado con defectos en los puntos de control inmunológico en esclerosis múltiple (9). Al introducir estas variantes en modelos animales, los investigadores pueden estudiar con precisión el inicio y progresión de la autoinmunidad, así como evaluar terapias dirigidas sobre vías moleculares específicas. Esta aproximación experimental ha elevado el nivel de comprensión inmunogenética de enfermedades complejas.

Por otro lado, los ensayos clínicos con células madre editadas genéticamente están ampliando sus horizontes terapéuticos. Si bien las primeras aplicaciones exitosas se centraron en enfermedades hematológicas, actualmente se desarrollan protocolos experimentales para inmunodeficiencias congénitas, como el síndrome de Wiskott-Aldrich; enfermedades metabólicas hereditarias, como la enfermedad de Gaucher; y trastornos neurológicos, como la enfermedad de Batten (9). Estos ensayos, aún en fases tempranas, utilizan células madre autólogas corregidas ex vivo con CRISPR, que luego se diferencian in vitro y se reinfunden al paciente. Aunque los resultados preliminares muestran integración genómica estable y baja incidencia de efectos adversos, persisten desafíos técnicos clave: evitar ediciones fuera del objetivo, lograr expresión sostenida del gen corregido y demostrar eficacia funcional

a largo plazo. La integración clínica de esta tecnología requiere validación continua, pero el ritmo del progreso sugiere que su consolidación es solo cuestión de tiempo.

DISCUSIÓN

Aunque CRISPR-Cas9 ha generado gran entusiasmo por su potencial terapéutico, aún enfrenta obstáculos importantes que limitan su aplicación clínica. A nivel molecular, uno de los principales retos es el mosaicismo. Esto ocurre cuando la edición genética no afecta a todas las células, sino sólo a una parte de ellas. Como resultado, el organismo queda compuesto por una mezcla de células modificadas y no modificadas. Esta mezcla puede reducir el efecto terapéutico, ya que las células con la mutación original siguen presentes y pueden seguir causando enfermedad (2).

Otro riesgo importante es la activación de la vía p53, una proteína esencial en la vigilancia del ADN. Cuando CRISPR provoca roturas de doble cadena, esta vía puede inducir la muerte de las células editadas, reduciendo así la eficacia del tratamiento. Sin embargo, en algunos casos, podrían sobrevivir células que escapan a este control, lo que plantea un posible riesgo de transformación maligna. Además, como Cas9 es una proteína de origen bacteriano, el sistema inmune puede reconocerla como extraña y generar una respuesta inflamatoria o eliminar las células modificadas, afectando la estabilidad y seguridad de la terapia.

A nivel sistémico, los desafíos regulatorios son considerables. La ausencia de marcos homogéneos entre países dificulta la estandarización de ensayos clínicos y retrasa la aprobación de nuevas terapias. Mientras que Estados Unidos ha aprobado las primeras terapias basadas en CRISPR para hemoglobinopatías, muchas regiones carecen de legislación que contemple los riesgos y particularidades éticas de la edición genética (9). Este desfase regulatorio ralentiza la transición de los desarrollos preclínicos hacia intervenciones clínicas autorizadas, incluso cuando la evidencia científica es sólida.

En términos de equidad, la brecha tecnológica amenaza con profundizar desigualdades existentes. Aunque CRISPR permite el desarrollo de terapias personalizadas, su alto costo inicial y la infraestructura especializada requerida limitan el acceso a países de ingresos bajos y medianos. A ello se suma la priorización de enfermedades monogénicas raras con modelos comerciales viables, mientras que condiciones más prevalentes pero menos rentables quedan relegadas en la agenda de investigación (9).

El panorama actual de CRISPR está definido por un contraste marcado: avances espectaculares en eficacia terapéutica conviven con barreras logísticas, económicas y éticas que dificultan su implementación masiva. El reto ya no es demostrar que esta tecnología funciona, sino garantizar que funcione para todos, de manera segura, justa y sostenible. El futuro de la medicina genómica dependerá de cómo respondamos, colectivamente, a estos desafíos.

CONCLUSIÓN

La edición genética con CRISPR ha pasado de ser una innovación de laboratorio a una

herramienta terapéutica concreta, con aplicaciones clínicas validadas. Entre los avances más prometedores se destacan el *prime editing*, que permite modificaciones sin roturas de ADN; la edición *in vivo*, que ha superado las barreras del sistema nervioso central; y la aprobación de *Casgevy*, que marca un hito en el tratamiento curativo de enfermedades monogénicas como la anemia falciforme. Estas tecnologías no solo amplían las posibilidades de intervención, sino que redibujan los límites de la medicina contemporánea.

No obstante, su adopción masiva exige avanzar con ensayos clínicos controlados, protocolos estandarizados y vigilancia activa de seguridad genómica. El riesgo de mosaicismo, la activación de vías oncogénicas y la posible inmunogenicidad deben abordarse con herramientas bioinformáticas robustas y un enfoque experimental riguroso. Asimismo, es imprescindible incorporar marcos regulatorios equitativos y considerar implicaciones éticas como el acceso justo y el uso responsable de la edición heredable.

A mediano plazo, es previsible una transición hacia una medicina personalizada sustentada por CRISPR, capaz de diseñar terapias a la medida de cada genoma. Este escenario requerirá profesionales médicos formados en genética funcional, una infraestructura clínica avanzada y una gobernanza internacional ética. CRISPR no solo ofrece curar lo incurable; propone reescribir la relación entre el médico, el paciente y su biología.

REFERENCIAS

1. Pacesa M, Pelea O, Jinek M. Past, present, and future of CRISPR genome editing technologies. Cell. 2024 Feb 29;187(5):1076-1100. doi: 10.1016/j.cell.2024.01.042. PMID: 38428389.
2. Tao J, Bauer DE, Chiarle R. Assessing and advancing the safety of CRISPR-Cas tools: from DNA to RNA editing. Nat Commun. 2023 Jan 13;14(1):212. doi: 10.1038/s41467-023-35886-6. PMID: 36639728; PMCID: PMC9838544.
3. Kleinstiver BP, Pattanayak V, Prew MS, Tsai SQ, Nguyen NT, Zheng Z, Joung JK. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. Nature. 2016 Jan 28;529(7587):490-5. doi: 10.1038/nature16526. Epub 2016 Jan 6. PMID: 26735016; PMCID: PMC4851738.
4. Zhao Z, Shang P, Mohanraju P, Geijsen N. Prime editing: advances and therapeutic applications. Trends Biotechnol. 2023 Aug;41(8):1000-1012. doi: 10.1016/j.tibtech.2023.03.004. Epub 2023 Mar 30. PMID: 37002157.
5. Parums DV. Editorial: First Regulatory Approvals for CRISPR-Cas9 Therapeutic Gene Editing for Sickle Cell Disease and Transfusion-Dependent β-Thalassemia. Med Sci Monit. 2024 Mar 1;30:e944204. doi: 10.12659/MSM.944204. PMID: 38425279; PMCID: PMC10913280.
6. Zhou X, Renauer PA, Zhou L, Fang SY, Chen S. Applications of CRISPR technology in cellular immunotherapy. Immunol Rev. 2023 Nov;320(1):199-216. doi: 10.1111/imr.13241. Epub 2023 Jul 14. PMID: 37449673; PMCID: PMC10787818.
8. Shang J, Song F, Zhang Z, Chen D, Yang S. Application of novel CRISPR tools in brain therapy. Life Sci. 2024 Sep 1;352:122855. doi: 10.1016/j.lfs.2024.122855. Epub 2024 Jun 20. PMID: 38908787.
9. Musunuru K. CRISPR and cardiovascular diseases. Cardiovasc Res. 2023 Mar 17;119(1):79-93. doi: 10.1093/cvr/cvac048. PMID: 35388882.
10. Cetin B, Erendor F, Eksi YE, Sanlioglu AD, Sanlioglu S. Advancing CRISPR genome editing into gene therapy clinical trials: progress and future prospects. Expert Rev Mol Med. 2025 Mar 31;27:e16. doi: 10.1017/erm.2025.10. PMID: 40160040; PMCID: PMC12094669
11. Zhang ML, Li HB, Jin Y. Application and perspective of CRISPR/Cas9 genome editing technology in human diseases modeling and gene therapy. Front Genet. 2024 Apr 11;15:1364742. doi: 10.3389/fgene.2024.1364742. PMID: 38666293; PMCID: PMC11043577.