Artículo Original

Aplicación del Sistema Crispr - Cas9 para la corrección y edición de genes que intervienen en la aparición de la hendidura labial y/o palatina

Application of the crispr - Cas9 System for the Correction and Editing of genes involved in the appearance of cleft lip and/or palate.

Gutiérrez, Cesar

Cesar Gutiérrez
cesarod05@gmail.com
Odontólogo, Doctor en Salud Pública, Profesor Instructor, Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela; Secretario Ejecutivo del Consejo de la Facultad de Medicina.

Revista Digital de Postgrado
Universidad Central de Venezuela, Venezuela
ISSN-e: 2244-761X
Periodicidad: Cuatrimestral
vol. 15, núm. 3, e476, 2026
revistadpgmeducv@gmail.com

Recepción: 16 de junio de 2026
Aprobación: 12 de octubre de 2026

DOI: https://doi.org/10.37910/RDP.2026.15.3.e476

Cómo citar: Gutiérrez, C. Aplicación del Sistema Crispr - Cas9 para la corrección y edición de genes que intervienen en la aparición de la hendidura labial y/o palatina. Rev. Digit Postgrado 2026; 15(3): e476.doi.10.37910/RDP.2026.15.3.e476

Resumen: Las nuevas herramientas de uso biotecnológico e ingeniería genética, como CRISPR/Cas9, son consideradas técnicas revolucionarias que nos podrían permitir la mejora genética. CRISPR/Cas9 se describe como la acción de una nucleasa (Cas9), guiada por fragmentos cortos de ARN con complementariedad de bases al genoma, y como consecuencia, un rompimiento de doble cadena que tendrá que ser reparado. CRISPR/Cas9, como herramienta de edición genética, depende de algunos factores, como una entrega exitosa dentro de la célula o embrión, o el tipo de reparación del ADN activado: Non-Homologous End Joining (NHEJ) u Homology-Directed Repair (HDR). La hendidura labial y/o palatina (HLP) es una de las malformaciones más comunes en el ser humano; es considerada multifactorial, determinada por alteraciones genéticas, sociodemográficas y/o ambientales. El objetivo del presente estudio es realizar el diseño de una "tijera biológica" utilizando CRISPR-Cas9 en los padres y los niños(as) con HLP, ya que existen cuatro categorías de genes que son responsables de la susceptibilidad genética —siendo esta la causa genética más frecuente para la HLP—: genes expresados en un área particular del embrión o en un período particular del desarrollo del arco palatino, tales como los factores de crecimiento transformante alfa y beta ($TGF\alpha$, $TGF\beta_2$, $TGF\beta_3$); genes con actividad biológica asociada a la patogenia del labio y/o paladar hendido sin actuar directamente (receptor del ácido retinoico, receptor del ácido fólico); genes o locus identificados en animales de laboratorio, tales como los genes homeóticos MSX1 y MSX2; y genes involucrados en la interacción con el metabolismo del citocromo P450.

Palabras clave: CRISPR-Cas9, Hendidura labial y/o palatina, Malformación congénita, Anomalías congénitas, Genes.

Abstract: New tools in biotechnology and genetic engineering, such as CRISPR/Cas9, are considered revolutionary techniques that could enable genetic improvement. CRISPR/Cas9 involves the action of a nuclease (Cas9) guided by short RNA fragments that are base-pair complementary to the genome, resulting in a double-strand break that must be repaired. Although CRISPR/Cas9 is a powerful genetic editing tool, its effectiveness depends on factors such as successful delivery into the cell or embryo, or the type of DNA repair triggered—Non-Homologous End Joining (NHEJ) or Homology-Directed Repair (HDR). Cleft lip and/or palate (CLP) is one of the most common malformations in humans. It is considered a multifactorial malformation determined by genetic, sociodemographic, and environmental factors. The objective of this study is to design biological scissors using CRISPR-Cas9 in parents and children with cleft lip and/or palate, as there are four categories of genes responsible for genetic susceptibility, which is the most common genetic cause of CLP: genes expressed in a specific region of the embryo or during a specific period of palatal arch development, such as transforming growth factors alpha and beta ($TGF\alpha$, $TGF\beta_2$, $TGF\beta_3$), and genes with biological activity associated with the pathogenesis of cleft lip and/or palate without acting directly.

Keywords: CRISPR-Cas9, Cleft lip and/or palate, Congenital malformation, Congenital anomalies, Academic research.

INTRODUCCIÓN

Las malformaciones congénitas, como las hendiduras labiales y/o palatinas (HLP), ocupan un lugar preponderante dentro de la patología humana, tanto por su relativa frecuencia como por las repercusiones estéticas, funcionales, psicológicas y sociales que implican.1 El logro de mejorar las condiciones de salud se convirtió en una meta compartida de nuestras sociedades, y se ha actuado permanentemente en la búsqueda del conocimiento que nos permita prevenirlas o detectarlas precozmente. El sistema CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, por sus siglas en inglés) es una herramienta de edición genética que está revolucionando la biotecnología moderna. [1-3] Descubierto en la década de 1980 en bacterias, este sistema funciona como un mecanismo inmunitario que permite a los microorganismos neutralizar secuencias genéticas de virus invasores. El sistema CRISPR opera mediante una enzima, Cas9, que actúa como una tijera molecular para cortar el ácido desoxirribonucleico (ADN) en sitios específicos. [4,5] Para dirigir la enzima al lugar correcto, se utiliza una molécula de ARN guía que lleva la enzima al punto exacto del ADN donde se necesita realizar el corte. Una vez realizado el corte, los mecanismos celulares se encargan de reparar el fragmento: se puede inactivar un gen uniendo los extremos cortados o editar las secuencias introduciendo moldes de ADN.

El ADN está compuesto por cuatro bases nitrogenadas que se emparejan de manera específica para formar una estructura de doble hélice: Adenina (A), que se empareja con la Timina (T) mediante dos puentes de hidrógeno; Timina (T), que lo hace con la Adenina (A); Citosina (C), con la Guanina (G) mediante tres puentes de hidrógeno; y Guanina (G), que se empareja con la Citosina (C). [6-8] Actualmente, en bases de datos como PubMed, podemos encontrar más de 24.000 publicaciones relacionadas con CRISPR que abarcan diversos avances tecnológicos y generación de conocimiento. CRISPR depende de un sistema de entrega del material de edición un mecanismo de transporte al objetivo con la capacidad de generar mutaciones eficientes, precisas y seguras. Es una tecnología prometedora para editar, corregir y alterar el genoma y el epigenoma celular con fines de investigación y terapia de enfermedades. A finales de 2023, se aprobó la primera terapia humana basada en CRISPR.

Las malformaciones craneofaciales en la especie humana tienen una gran importancia clínica, ya que la cara, al ser lo primero que observan los progenitores y la sociedad, encierra una profunda trascendencia emocional y social. Asimismo, el aspecto y la expresión facial son indicadores del estado emocional, intelectual y de la personalidad del individuo. [8-14] Su presencia impacta en el desarrollo social, ya que en muchas ocasiones generan rechazo debido a dificultades fonéticas y a la deformidad facial, originando alteraciones en la comunicación. [6-9-11]

Las hendiduras faciales se presentan en muchos planos de la cara como resultado de fallas o defectos en el desarrollo y maduración de los procesos embriológicos. Aunque existen varios tipos, la más frecuente e importante que afecta las estructuras bucofaciales es la hendidura labio y/o palatina, la cual altera actividades funcionales como la fonación, la alimentación y la deglución, además del desarrollo psicosocial del niño.[12-16]

En 1954, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la HLP como un problema prioritario de salud pública: ocupa el noveno puesto entre las diez malformaciones congénitas más frecuentes y el primero entre las que afectan la cabeza y el cuello. Es la única malformación que puede verse, oírse y palparse, interfiriendo con la respiración y la oclusión. La HLP no sindrómica proviene de una alteración embriológica caracterizada por el fracaso en la fusión de los procesos nasales y/o palatinos.Su incidencia oscila entre 1 por cada 700 nacidos vivos en poblaciones de origen asiático, 1 por cada 1.000 en caucásicos y 1 por cada 2 500 en población afrodescendiente. Esto evidencia una fuerte carga o susceptibilidad genética en su etiología.17 Venezuela se encuentra entre los países con una tasa estimada de 7,92 por cada 10.000 nacidos vivos, con centros de investigación en estados clave como Zulia, Mérida y Distrito Capital. Al ser un país con un alto grado de mestizaje, el comportamiento epidemiológico presenta particularidades respecto a los patrones internacionales. [12-14] La nucleasa Cas9 permite la inserción, eliminación o mutación precisa de secuencias cortas de ADN en loci genómicos de interés. Avances recientes han demostrado la viabilidad de utilizar el sistema CRISPR/Cas9 para inducir cortes dirigidos, abriendo el camino para diseñar intervenciones terapéuticas orientadas a la HLP no sindrómica. [6,7]

Planteamiento del problema. Las anomalías congénitas faciales son defectos observables desde el nacimiento que influyen de manera drástica en la adaptación fisiológica, psicológica y social del individuo. Dentro de ellas, las craneofaciales son las más frecuentes, destacando la HLP como un defecto caracterizado por la falta de unión de las dos partes del labio o de las crestas palatinas en la línea media. [2-15-27] Quienes nacen con HLP enfrentan problemas funcionales y estéticos a corto y largo plazo: dificultades en la alimentación al nacer, alteraciones en la deglución con riesgo de broncoaspiración, secuelas por cicatrices, hipoacusia, alteraciones dentarias y trastornos de la voz y el habla. Si bien no es exclusiva de estratos socioeconómicos bajos, se registra una mayor vuln erabilidad en familias con menos recursos para un abordaje clínico integral. [8,9]

Myo *et al.* (2025) reafirmaron que la etiología de la fisura palatina es compleja e involucra factores genéticos y ambientales. Entre los numerosos genes implicados, Msx1 desempeña un papel fundamental como factor de transcripción que regula la proliferación de células mesenquimales y las interacciones epitelio-mesenquimales necesarias para la correcta elevación y fusión de las crestas palatinas. [13-18,19] Asimismo, IRF6 es un factor de transcripción clave en el desarrollo de tejidos orofaciales. MSX1 y MSX2 (familias homeobox) intervienen en la diferenciación mesenquimatosa y la morfogénesis facial. TGFB3 participa en la señalización que regula la remodelación tisular. FOXE1 regula genes downstream como MSX1 y TGFB3. Los receptores

y ligandos de la vía FGF (FGFR1, FGFR2, FGF8, entre otros) son centrales en la proliferación y migración celular. Genes de la familia TBX (TBX10, TBX22, TBX3, TBX1) interactúan con las vías FGF/Wnt, mientras que GLI2 pertenece a la vía Hedgehog. Por su parte, LHX8, SKI, SPRY2, BMP2 y BMP4 modulan redes de señalización fundamentales para el correcto desarrollo craneofacial. [14-18,19,20,21-26] Relevancia clínica: los hallazgos en murinos pueden orientar la búsqueda de genes candidatos en síndromes humanos relacionados con malformaciones cráneofaciales, [15] las asociaciones entre estos genes y fenotipos en cara y cabeza ósea, han sido reportadas en distintos contextos y organismos; la interpretación debe considerar la especificidad de cada modelo y la etapa de desarrollo estudiada. [13-14]

Históricamente, las referencias a las hendiduras se remontan al antiguo Egipto, y los tratamientos quirúrgicos iniciaron en 1776 con Le Monnier quien describe la primera cirigia efectuada en un paciente hendido, para cerrar el paladar y asi facilitar la ingesta de liquidos. 16. El riesgo de recurrencia en padres sanos que ya tienen un hijo con hendidura labial es del 4 %; si son dos los hijos afectados, asciende al 10 %. Del total de hendiduras faciales, las labiales representan un 20-30 %, las palatinas aisladas un 30-45 % y las labiopalatinas un 35-50 %. [17].

En vista de que la HLP no síndromica surge de variantes en loci como 1q32 (IRF6), 9q21 (FOXE1) y MSX1 que están implicados en él; desarrollo orofacial y que se han estudiado con Crispr para modelar defectos y replicar mutaciones humanas en modelos animales,26 revelando fallos en migración de crestas neurales y expresión génica. [18,19,20,21-23,24,25] se propone un diseño inicial de tijera biológica con CRISPR-Cas9 para abordar la HLP, enfocándose en sus causas genéticas multifactoriales en niños nacidos con esta alteración no síndromica. La edición genética mediada por CRISPR-Cas9 representa un recurso innovador para el tratamiento de alteraciones de origen prenatal, superando las limitaciones de las terapias génicas convencionales gracias a su sistema de guía por ARN. Por lo anteriormente expuesto, la investigación tiene como objetivo fundamental, diseñar la aplicación del sistema CRISPR-Cas9 para la corrección y edición de los genes que intervienen en la aparición de la hendidura labio y/o palatina (HLP).

En la literatura actual no se han encontrado antecedentes metodológicos que aborden el diseño integral de una "tijera biológica" basada en CRISPR-Cas9 orientada específicamente a la HLP. Esta investigación se justifica por la necesidad de establecer un marco teórico y preclínico riguroso sobre la viabilidad de la edición genómica en malformaciones congénitas complejas. Al estructurar la selección de genes diana y el diseño de sgRNAs respaldados por literatura en modelos como Danio rerio, este trabajo sienta bases metodológicas sólidas para futuras estrategias preventivas y terapéuticas. En Venezuela, existen otros factores sociales con el nivel de educación que también pueden influir, ya que un mayor nivel educativo se asocia a un mayor acceso de información sobre prevención y cuidados durante el embarazo. El niño (a) que nace con HLP genera un riesgo potencial de una serie de secuelas biológicas que van a necesitar diferentes tipos de tratamientos o intervenciones quirúrgicas desde su nacimiento, de allí su gran relevancia dar los primeros pasos para realizar ediciones de los genes que producen esta anomalía, ya que pueden afectar seriamente su vida, como son: malformaciones cráneofaciales, alteraciones estéticas, secuelas por cicatrices, riesgos de disminución de la audición, alteraciones dentarias y alteraciones de la voz y el habla. [8-10]

Es fundamental dar los primeros pasos en la edición de genes que producen e intervienen en la aparición de la HLP utilizando un sistema CRISPR/Cas9, todas estas nucleasas de edición genómica basan su mecanismo de acción en la capacidad de reconocer secuencias concretas de ADN (dominio de unión al ADN) y escindir el enlace fosfodiéster (dominio nucleasa). [25-29] También puede ayudar a identificar patrones y tendencias en la presentación y evolución de la malformación, lo que puede ser útil para desarrollar nuevas estrategias para abordar esta patología. En resumen, la presente investigación sobre la HLP y la aplicación de sistema CRISPR/Cas9, es crucial para comprender mejor la complejidad de este problema y para desarrollar estrategias efectivas y una posible cura o reparación de esta malformación congénita. [8]

Pasos Iniciales para Diseño: Perspectivas Futuras y Aplicaciones Clínicas: A continuación, se explican los pasos generales que se seguirían para desarrollar un diseño de este tipo, una vez cubiertos los aspectos éticos requeridos mediante informe de aval por parte de Comisión de Bioética correspondiente, es importante tener en cuenta que esta es una simplificación del proceso y cada etapa requiere años de investigación y validación rigurosa. El diseño propuesto se enfoca inicialmente en modelos preclínicos (Pez Cebra).

El Modelo Experimental: Fase I: Modelado in vivo en Danio rerio (Pez Cebra) para validar el ARN guía (gRNA).

Fase II: Pruebas in vitro en fibroblastos humanos derivados de los 10 pacientes seleccionados

Fase III: Análisis de viabilidad y seguridad (sin intervención directa aún en los pacientes).

1. Identificación de los Genes y Mutaciones Responsables que puede estar relacionada con múltiples genes (como IRF6, MSX1, MSX2 o T-Box), por lo que este proceso es crucial para saber dónde dirigir la "tijera" de CRISPR.
2. Protocolo CRISPR-Cas9 en Pez Cebra: El pez cebra (Danio rerio) ha sido elegido como modelo vertebrado pionero para la edición genómica mediante CRISPR-Cas9, dada su relevancia en investigaciones previas. Este protocolo detalla la inactivación del gen MSX1, clave en el desarrollo cráneofacial. Se solicitaría aval de Comité de Bioética para poder realizar la experimentación.
3. Diseño del ARN guía (gRNA) Una vez que se conoce la mutación, se debe diseñar el ARN guía (gRNA). Esta pequeña molécula de ARN es el "GPS" del diseño, ya que guía a la enzima Cas9 al lugar lugar exacto del ADN a donde debe ir, para cortar. El gRNA tiene que ser lo más específico posible para evitar que la Cas9 corte en otros lugares del genoma, lo que podría causar efectos secundarios no deseados. En base a estudios previos, se utilizará una secuencia descrita en 2003, con uso de un software en línea para el diseño de sgRNA que es una molécula de ARN sintética y clave en el sistema de edición genética CRISPR-Cas9. Funciona esencialmente como el "Sistema de GPS" de la herramienta, se programa el sgRNA cambiando esos 20 nucleótidos iniciales para que reconozcan un lugar específico del ADN (por ejemplo, un gen relacionado con la formación del paladar o del labio).
   Una vez que el sgRNA encuentra y se aparea con la secuencia exacta en el genoma, le indica a la proteína Cas9 que ese es el sitio preciso donde debe realizar el corte de doble cadena. Los vehículos para llevar el gRNA, la enzima Cas9 y la plantilla de reparación hasta las células que necesitan ser corregidas, ya han sido probados, los métodos más comunes para esto incluyen: virus modificados, adenoasociados (AAV), que son seguros y muy eficientes para entregar material genético a las células; nanopartículas lipídicas, que son pequeñas esferas de grasa que encapsulan el sistema CRISPR y lo protegen hasta que llega a las células diana.
4. Desarrollo de la Plantilla de Reparación: el CRISPR-Cas9 corta el ADN, pero para reparar la mutación, se necesita crear una pieza de ADN con la secuencia correcta que se utilizará como modelo para que las células reparen el corte; esta plantilla de reparación se introduce junto con el complejo CRISPR-Cas9, para corregir el gen defectuoso.
5. Pruebas Preclínicas. Se llevan a cabo pruebas preclínicas extensivas, esto incluye: estudios in vitro, en modelos animales como el pez tigre, con mutaciones similares a las humanas para evaluar la eficacia, la dosis adecuada y la seguridad del tratamiento. Se busca confirmar que la terapia corrige la hendidura labial sin causar efectos adversos.

Diseño de la Tijera Molecular: El Proceso de Terapia Genética CRISPR-Cas9 para Hendidura Labial y/o Palatina

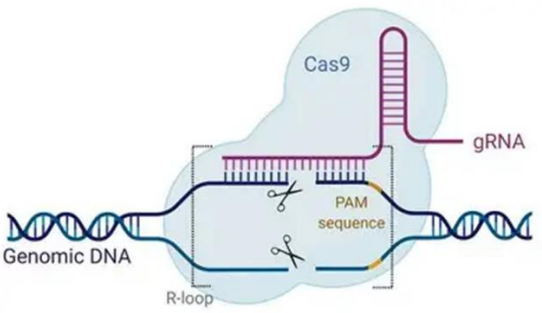


FIGURA 1. Esquema de CRISPR-Cas9. Muestra Cas9, gRNA, la secuencia PAM y el R-loop, elementos característicos de la edición genética con CRISPR

MÉTODOS

La investigación se enmarca en un estudio de carácter teórico-metodológico y de diseño preclínico. enfocado en la estructuración conceptual y procedimental de un sistema de edición genómica basado en CRISPR-Cas9 para el abordaje de la hendidura labio y/o palatina (HLP). Al tratarse de una propuesta teórica y de modelado experimental apoyada en la literatura sobre organismos modelo como Danio rerio (pez cebra), el trabajo establece las bases moleculares, bioéticas y de seguridad necesarias, analizando los desafíos técnicos, la especificidad del ARN guía (sgRNA) y las limitaciones de entrega antes de cualquier aplicación traslacional.

Protocolo. Edición del genoma del pez cebra por el sistema CRISPR-Cas9 En este protocolo se describe el uso del sistema CRISPR-Cas9 en el pez cebra. Se realizó una búsqueda exhaustiva en la literatura y otros modelos experimentales, el pez cebra fue el primer modelo vertebrado en donde el sistema CRISPR Cas9 fue usado para editar el genoma de un organismo. [19] En este protocolo se usará la inactivación del gen MSX1.

La guía de RNA (gRNA) que se usará fue descrita en el 2003. 20 Existen softwares en línea que permiten diseñar los gRNA. A partir de ellos se debe obtener las secuencias guía, de 20 nucleótidos de tamaño y que corresponden a las regiones de interés en el genoma a editar. Los protocolos para encontrar una secuencia guía, clonar los oligonucleótidos de la secuencia blanco en el plásmido de gRNA (pT7-tyr-gRNA), transcribir la guía de RNA y el RNAm de Cas9 son los mismos que para otros modelos. [21,22]

Procedimiento

- Cultivos celulares. (Fibroblastos).
- PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR).
- Análisis estadísticos y bases de datos.
- Aplicación del sistema CRISPR-Cas9 para editar los genes que producen la HLP.

CONCLUSIONES

Las aplicaciones futuras de CRISPR-Cas9 en el ámbito clínico son sumamente prometedoras para el abordaje de enfermedades genéticas complejas como la hendidura labio y/o palatina. La revisión bibliográfica confirma el enorme potencial de la edición genómica precisa, al tiempo que recalca la necesidad de superar retos técnicos como la especificidad y la minimización de efectos off-target. El éxito de estas tecnologías exige una estricta supervisión bioética y una colaboración interdisciplinaria entre científicos, clínicos y expertos en deontología médica. Estos desafíos van más allá de la ciencia y requieren una consideración exhaustiva.

REFERENCIAS

1. De Barros LP, Machado RA, das Neves LT, Martelli DRB, Rangel A, Volpato LER, et al. Family History of Nonsyndromic Orofacial Clefts: A Brazilian Multicenter Study. Oral Dis. 2025 Jul;31(7):2243-2250. doi: 10.1111/odi.15273.
2. Maranhão SC, Sá C. Hendiduras orales no sindrómicas y factores de riesgo asociados en el estado de Bahía, Brasil. Eur Arch Paediatr Dent. 2021;22:121–127. https://doi.org/10.1007/s40368-020-00522-0
3. Gonzales B, Lopez M, Garduno F. Oral Clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the State of Mexico. J Oral Sci. 2008;50(2):123-129.
4. Trigos MJ, Guzmán ME, Figueroa L. Análisis de la incidencia, prevalencia y atención del labio y paladar hendido en México. Cir Plast. 2003;13:35-39.

5. Miyata M, Yoshida J, Takagishi I, Horie K. Comparación de métodos de deleción genómica a escala megabase mediados por CRISPR-Cas9 en células madre embrionarias de ratón. Reserva de ADN. 2023;30(1):DSAC045.
6. Ensayos clínicos de CRISPR: una actualización de 2024. Innovative Genomics Institute (IGI).
7. Mani I. CRISPR-Cas9 for treating hereditary diseases. Prog Mol Biol Transl Sci. 2021;181:165-183. doi: 10.1016/bs.pmbts.2021.01.017.
8. Valcarcel J, Morales E, Fernández M del C, Pérez A. Genetic factors associated with cleft lip and palate in children at the "William Soler" Hospital, 2021 to 2022. Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias. 2025;4:1784. https://doi.org/10.56294/sctconf20251784
9. de Aquino SN, Hoshi R, Bagordakis E, Pucciarelli MGR, Messetti AC, Moreira H, et al. El polimorfismo MTHFR rs2274976 es un marcador de riesgo para labio leporino no sindrómico con o sin paladar hendido en la población brasileña. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2014;100:30-35. https://doi.org/10.1002/bdra.23199
10. López ML, Márquez JF, Cedeño LYE. Factores asociados al éxito del tratamiento del labio y paladar hendidos. Arch Inv Mat Inf. 2022;13(2):87-93. doi: 10.35366/108724.
11. Márquez F. La familia del niño con Hendidura Labio Palatina. Acta Odontológica Venezolana. 2013;51(1):45-46.
12. Caetano GM, da Fonseca BS, Piran CMG, Mori MM, Furtado MD, Sanguino GZ, et al. Repercusiones físicas, emocionales y sociales de la fisura orofacial durante la adolescencia. Cogitare Enferm. 2025;30:e100466es. https://doi.org/10.1590/ce.v30i0.100466es
13. Bucarano I, Gutiérrez A. Principales causas de las malformaciones congénitas. Rev CENIC Cienc Biol. 2023;54:30-36.
14. Oblitas M, Curo L. Prevalencia de fisura labio alveolo palatina en neonatos del Hospital Regional Docente Materno Infantil El Carmen, Huancayo-2023 [Tesis]. Universidad Continental; 2025. https://hdl.handle.net/20.500.12394/16752
15. Myo AC, Raju R, Piña JO, Chattaraj P, Furukawa M. Current insights on the genetics and mechanisms of MSX1-associated cleft palate. Front Dent Med. 2025;6:1610223. doi: 10.3389/fdmed.2025.1610223.
16. Alvarado M. CRISPR/Cas9 como herramienta de edición genética y sus aplicaciones en la salud humana. Revista Electrónica de PortalesMedicos.com. 2023;18(13):671.
17. Torchia MG, Persaud T (Eds.). Embriología Clínica. Elsevier Health Sciences; 2026.
18. Langman SJ. Embriología Médica. 10ª ed. México: Nueva Editorial Interamericana; 2010.
19. Infante C. Repositorio Institucional UN. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2009.
20. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. Nat Rev Genet. 2011;12(3):167-178.
21. Zhong Y, Chenhui F, Tianhua L, Han D, Haofuzi Z. Advances in genetic mechanisms and precision medicine research for cleft lip and palate. Gene. 2026;988:150045. https://doi.org/10.1016/j.gene.2026.150045.
22. Venza I, Visalli M, Parrillo L, De Felice M, Teti D, Venza M. MSX1 y TGF-β3 son genes objetivo novedosos regulados funcionalmente por FOXE1. Hum Mol Genet. 2011;20(5):1016–1025. https://doi.org/10.1093/hmg/ddq54.
23. Najmi N, Kuswandani F, Rafisa A, Balafif F. From genes to environment: TGF-mediated mechanisms in cleft formation. Int J Sci Eng Sci. 2025;9(7).
24. Hernández M. Prevalencia de las hendiduras labio y/o palatina en los pacientes que acuden al centro de investigación y atención a pacientes con malformaciones craneofaciales y prótesis maxilofacial (CIAPA) [Trabajo de ascenso]. Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela; 2013. https://saber.ucv.ve/jspui/handle/10872/6145
25. Kumari P, Friedman RZ, Curtis SW. Identificación de variantes funcionales no codificantes asociadas a la hendidura orofacial. Nat Commun. 2025;16:6545. https://doi.org/10.1038/s41467-025-61734-w.
26. Hwang WY, Fu Y, Reyon D, Maeder ML, Tsai SQ, Sander JD, et al. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. Nat Biotechnol. 2013;31(3):227-229. doi: 10.1038/nbt.2501.
27. Sorlien EL, Witucki MA, Ogas J. Efficient Production and Identification of CRISPR/Cas9-generated Gene Knockouts in the Model System Danio rerio. J Vis Exp. 2018;(132):56969. doi: 10.3791/56969.

28. Ablain J, Durand EM, Yang S, Zhou Y, Zon LI. A CRISPR/Cas9 Vector System for Tissue-Specific Gene Disruption in Zebrafish. Dev Cell. 2015;32(6):756-764. doi: 10.1016/j.devcel.2015.01.032.
29. Stock NM, Feragen KB. Adaptación psicológica al labio leporino y/o paladar hendido: una revisión narrativa de la literatura. Psychol Health. 2016;31(7):777-81