

EL ARN en terapéutica

Punto Farmacológico



SUMARIO

I. Justificación

II. Introducción. Conceptos clave

III. Bases del uso terapéutico del ARN

IV. El ARN como diana

- Oligonucleótidos antisentido (OAS)
- ARN pequeño de interferencia (ARNsi)
- Las aplicaciones terapéuticas del micro ARN (ARNmi)
- Aptámeros
- La tecnología CRISPR-Cas aplicada a la manipulación del ARN

V. El ARN como fármaco

- Las vacunas de ARNm en la prevención de la COVID-19
- Vacunas de ARNm: más allá de la COVID-19
- Otras estrategias terapéuticas basadas en el ARN

VI. El papel del farmacéutico en la investigación de nuevos fármacos

VII. Bibliografía

JUSTIFICACIÓN

Las terapias basadas en el ARN han experimentado un importante auge en los últimos dos años como consecuencia del éxito cosechado por las vacunas de ARN mensajero frente a la COVID-19. No obstante, la investigación clínica respecto al ARN se lleva desarrollando décadas y ha obtenido ya importantes logros, que se suman a la fundamental contribución de las mencionadas vacunas a la recuperación de la normalidad tras la pandemia sufrida desde el año 2020. Con el objetivo de reconocer la importancia de las funciones que esta molécula ejerce en todos los organismos y sus aplicaciones terapéuticas, desde el año 2018 se celebra cada 1 de agosto el **Día Mundial del ARN**.

La elección de esta fecha esconde un interesante juego de palabras, pues su abreviatura en inglés *-Aug 1st-* hace referencia a las iniciales de la secuencia de tres nucleótidos –adenina, uracilo y guanina– que indica a la maquinaria celular el inicio de la síntesis de proteínas a partir del ARN mensajero. Este proceso de síntesis proteica, conocido como traducción, viene precedido necesariamente de los procesos de replicación del ADN y de transcripción de este ADN a ARN para formar, tras un complejo mecanismo molecular, el ARN mensajero.

Aunque probablemente sea este tipo de ARN, abreviado comúnmente como ARNm, el más conocido a nivel social, existen otros muchos tipos de ARN que cumplen distintas funciones fisiológicas y que resultan de interés por su potencial uso clínico, tanto como dianas de fármacos diseñados para interactuar con ellas, como en forma de moléculas obtenidas por distintos procedimientos con el objetivo de administrarlas a un paciente para ejercer

un efecto concreto. Ejemplos notables de aplicaciones exitosas de terapias basadas en el ARN son oligonucleótidos antisentido como nusinersén en el tratamiento de la atrofia muscular espinal, o el ARN pequeño de interferencia givosirán para tratar la porfiria hepática aguda, que han supuesto un cambio radical en el paradigma de tratamiento de enfermedades para las que no se disponía de fármacos efectivos.

Además de los importantes hitos ya alcanzados, se puede considerar que la investigación clínica en el ámbito del ARN tiene todavía un amplio potencial por delante. Actualmente se están llevando a cabo numerosos estudios clínicos con distintos tipos de ARN, aparte de los ya mencionados. Los micro ARN terapéuticos podrían ser útiles en el silenciamiento de la expresión de genes y sus aplicaciones están siendo estudiadas en diferentes áreas, como la oncología, la cardiología o el tratamiento de infecciones; los aptámeros –pequeñas secuencias de ácidos nucleicos– podrían suponer una alternativa de síntesis química y menor coste a los anticuerpos monoclonales; y las vacunas terapéuticas de ARNm están ofreciendo buenos resultados en el tratamiento de algunos tipos de cáncer de mal pronóstico, como el pancreático.

El Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos se une a la celebración de este Día Mundial con la publicación de este informe, que recoge los principales avances que se han producido tanto en la investigación clínica como en la aplicación práctica de terapias basadas en el ARN, y reconoce asimismo la importante labor que ejercen los farmacéuticos en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos y estrategias terapéuticas.

INTRODUCCIÓN. CONCEPTOS CLAVE

Aunque la existencia del ácido ribonucleico (ARN) se conoce desde finales del siglo XIX, no fue hasta mediados del siglo XX cuando se descubrió su estructura. En la década de 1940 se consiguió descomponer tanto el ARN como el ácido desoxirribonucleico (ADN) en sus distintas partes, que son fundamentalmente bases nitrogenadas, ácido fosfórico y un azúcar, la ribosa en el caso del ARN y la desoxirribosa en el caso del ADN. Las bases nitrogenadas que componen el ADN –adenina, citosina, guanina y timina– son las mismas que están presentes en el ARN, a excepción de la timina, que es sustituida por uracilo (Figura 1). La unión de las bases nitrogenadas con ribosa o con desoxirribosa conforma los denominados **nucleósidos**, mientras que la unión del nucleósido a un grupo fosfato forma los **nucleótidos**.

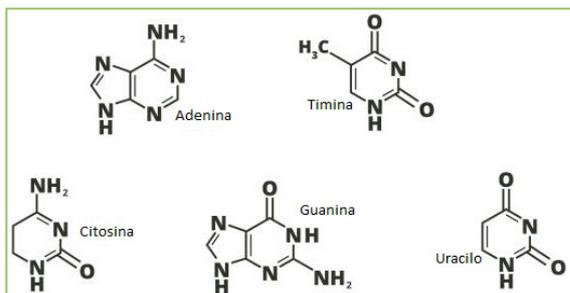


Figura 1. Bases nitrogenadas del ADN y del ARN.

De cara a comprender el papel fisiológico que ejercen los distintos tipos de ARN y, en consecuencia, el potencial terapéutico que puede derivar de ellos, es preciso introducir previamente algunos conceptos básicos sobre los procesos moleculares a los que se somete el material genético.

La **replicación** es un proceso que se da sobre cada una de las cadenas desapareadas del ADN, que sirven de molde para la síntesis de una nueva hebra. La replicación comienza en un punto denominado *origen de replicación*, a partir del cual determinadas proteínas separan las cadenas de ADN generando una burbuja de replicación desde la cual la ADN polimerasa va añadiendo los nucleótidos complementarios a los presentes en la cadena molde en sentido 5' → 3'. La ADN polimerasa es una enzima muy eficaz, y en células eucariotas como las humanas va añadiendo alre-

dedor de 90 000 pares de bases por segundo, con una probabilidad de error extremadamente baja¹.

La **transcripción** es el proceso que permite crear una cadena de ARN a partir de una cadena de ADN. Aunque el ADN está compuesto por una doble cadena, solo una de ellas será utilizada para la transcripción –cadena molde–. La transcripción comienza sobre las cadenas de ADN que han sido separadas, formando una pequeña burbuja que va avanzando por la hebra de ADN a partir de la acción de la ARN polimerasa. En este proceso se pueden distinguir tres etapas:

- **Iniciación:** la polimerasa de ARN reconoce las bases de la secuencia de inicio –denominada *secuencia promotora*– y comienza el proceso al abrirse la burbuja de transcripción, que avanza en sentido 5' → 3'.

- **Elongación:** la ARN polimerasa avanza a través del ADN a la misma vez que éste se va separando en sus dos cadenas y cerrándose por la parte anterior.

- **Terminación:** la ARN polimerasa detecta una secuencia de terminación en el extremo 3' y finaliza el proceso.

Dado que la transcripción se da sobre una única cadena molde de las dos que componen el ADN, el resultado es un ARN monocatenario que posteriormente podrá someterse al proceso de traducción. Sin embargo, este ARN transcrito, conocido como transcrito primario, tiene que pasar por una serie de modificaciones destinadas a convertirlo en un ARN funcional.

Por un lado, en el extremo 5' del transcrito primario se produce la adición de una *caperuza (capping)* de guanina mediante una serie de enzimas que se engloban en el *complejo enzimático de capping*. Por otro lado, se produce la poliadenilación del extremo 3', con la

¹ Se estima que la ADN polimerasa comete un error por cada 10 millones de pares de bases añadidas. No obstante, existen mecanismos para corregir estos errores de forma rápida.

adición de alrededor de 200 nucleótidos de adenina cuya función es proteger al transcrito de la degradación enzimática. Además, se debe tener en cuenta que en las células eucariotas los genes poseen unos fragmentos realmente codificadores denominados *exones* y otros fragmentos espaciadores que no son útiles para la codificación a proteína, denominados *intrones*. Por ello, la maduración del transcrito primario requiere del corte preciso que elimine los intrones y deje unidos los exones en un proceso denominado *splicing*, que está dirigido por los espliceosomas y que produce el **ARN mensajero (ARNm)**.

Una vez que se ha producido el ARNm, esta cadena de nucleótidos está lista para pasar por el proceso de **traducción**, que permite generar una cadena de aminoácidos –y, por tanto, proteínas–. Este proceso implica una lectura de los nucleótidos en tripletes (codones), de modo que cada secuencia de tres bases codifica para un aminoácido concreto. Aunque existen 64 codones, solo hay 20 aminoácidos constituyentes de las proteínas, lo que significa que un mismo aminoácido puede estar codificado por distintos codones. Entre los más relevantes se encuentra el codón AUG (adenina-uracilo-guanina) que codifica para el aminoácido metionina y es el denominado *codón de inicio*, de modo que su reconocimiento por parte de la maquinaria de traducción permite comenzar a sintetizar la cadena peptídica. También hay tres codones –UAA, UAG y UGA– que no codifican para un aminoácido sino que señalan el final de la traducción.

El proceso de traducción está a cargo de los ribosomas, unos macrocomplejos de proteínas y **ARN ribosomal (ARNr)**, y de los **ARN de transferencia (ARNt)**, que son los verdaderos adaptadores del lenguaje del ARN a los aminoácidos. Los ribosomas están compuestos por más de 50 proteínas diferentes y están divididos en dos subunidades –pequeña y

grande–. Además, en los ribosomas se presenta un hueco A (aminoacil) y un hueco P (peptidil), siendo el primero el encargado de producir el enlace peptídico entre los aminoácidos, mientras que al segundo pasa la cadena peptídica que se está sintetizando. Como en el caso de la transcripción, la traducción puede dividirse en tres etapas.

- **Iniciación**: en esta etapa la subunidad menor del ribosoma se une a la cadena de ARNm por la zona en la que está presente el codón de iniciación AUG. Tras esto, se une el ARNt, que está cargado con el aminoácido metionina.

- **Elongación**: siguiendo la cadena de ARNm y dependiendo del aminoácido codificado por cada codón, el ARNt va añadiendo los aminoácidos correspondientes en el hueco A. El proceso de elongación se produce en sentido amino → carboxilo.

- **Terminación**: cuando el complejo ribosomal llega a un codón de terminación se produce la separación de las subunidades del ribosoma, dejando la cadena peptídica libre.

Aunque se puede intuir que esta secuencia de procesos, que lleva desde la replicación del material genético hasta la producción de proteínas, está fuertemente regulada y se ve afectada por multitud de factores, su descripción exhaustiva escaparía al propósito de esta revisión.

Sin embargo, distintos tipos de ARN juegan un papel clave en la estimulación o inhibición de la expresión génica y su actividad fisiológica ha servido de base para el descubrimiento de novedosas terapias con diferentes mecanismos de acción y con diferentes indicaciones, por lo que su introducción merece un cierto desarrollo.

BASES DEL USO TERAPÉUTICO DEL ARN

Como se ha comentado, el resultado del proceso de transcripción es un ARN monocatenario cuyo destino es el procesamiento y la traducción a una secuencia de aminoácidos. Sin embargo, el descubrimiento de la capacidad de hibridación del ARN para formar **ARN de doble cadena** o bicatenario (ARNbc) supuso un primer paso que llevó al posterior descubrimiento de los **ARN de interferencia** (ARNi), entre los que se pueden distinguir el ARN pequeño de interferencia (ARNsi) o los micro-ARN (ARNmi), en los que la formación de ARNbc es un paso fundamental en la regulación de la expresión génica (Kim, 2022).

Desde finales del siglo XX se han llevado a cabo numerosas investigaciones que han examinado la influencia de estas moléculas sobre la expresión génica. El efecto más significativo que los ARNi ejercen a este respecto, descubierto inicialmente en organismos vegetales pero aplicable también a los humanos, es el **silenciamiento génico postranscripcional** (SGPT).

Se debe tener en cuenta que el ARNbc no es un producto normal de la célula eucariota, sino que se produce en respuesta a infecciones virales y tiene como consecuencia la inhibición de la replicación del virus al degradar el ARNm. El descubrimiento de esta función natural abrió la puerta a la investigación con propósitos terapéuticos, teniendo en cuenta el amplio abanico de posibilidades que la represión de un gen concreto puede ofrecer para el tratamiento de numerosas enfermedades relacionadas con una actividad aberrante a este nivel.

El ARNi es uno de los tipos de ARN más utilizados dentro de la tecnología antisentido, debido a que se trata de moléculas de ARN de doble cadena muy estables por no ser sustratos de las ARNasas celulares.

Las moléculas antisentido comparten el hecho de tener una secuencia y orientación que les permite unirse a moléculas de ARN con una orientación 5' → 3'. Cuando se transcribe el ADN a ARN se generan moléculas de ARN con la misma secuencia y orientación del ADN, con la única diferencia de que la timina del ADN se sustituye por uracilo en el ARN. Así, una molécula antisentido es aquella que tiene la capacidad de hibridarse a la secuencia 5' → 3' del ARN. Esta molécula tendrá una secuencia complementaria de acuerdo a las normas de apareamiento de bases (AT y GC), y su sentido será tal que la zona 3' del ARN sentido será hibridada por la parte 5' de la molécula antisentido.

En condiciones normales, el ARN de cadena sencilla es leído por el ribosoma para dar lugar a la proteína correspondiente. Por el contrario, si la molécula antisentido está unida a la cadena sentido del ARN ésta no podrá traducirse en el ribosoma, dando lugar a un bloqueo de la síntesis de la proteína en cuestión; no obstante, esta unión no solo produce el bloqueo de la síntesis proteica, sino que también favorece la degradación del ARN. Esta fue la premisa de utilización de las moléculas antisentido para el ARN (**Figura 2**).

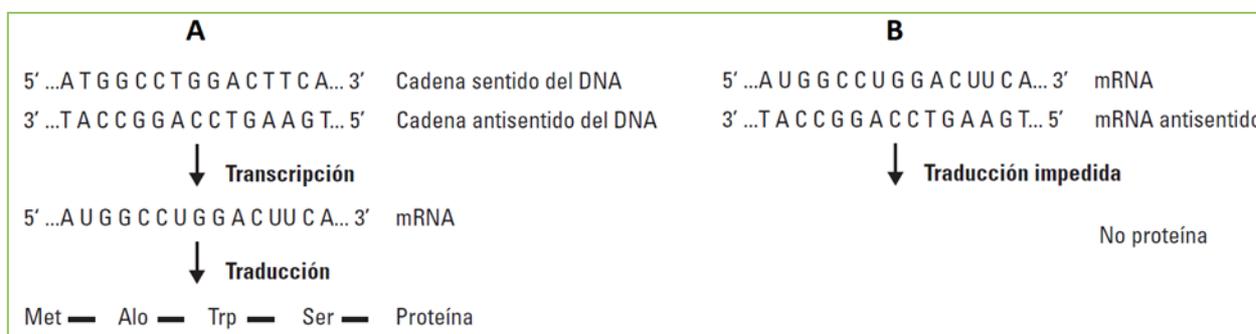


Figura 2. A: proceso normal de transcripción del ADN a ARN y traducción a proteína. B: la hibridación del ARNm con una molécula antisentido impide la traducción. Adaptada de (Ciudad et al., 2009).

Las moléculas antisentido dirigidas contra el ARN son el ARN antisentido, los oligodesoxinucleótidos antisentido (OAS), el ARN peque-

ño de interferencia (ARNsi) y los micro-ARN (ARNmi).

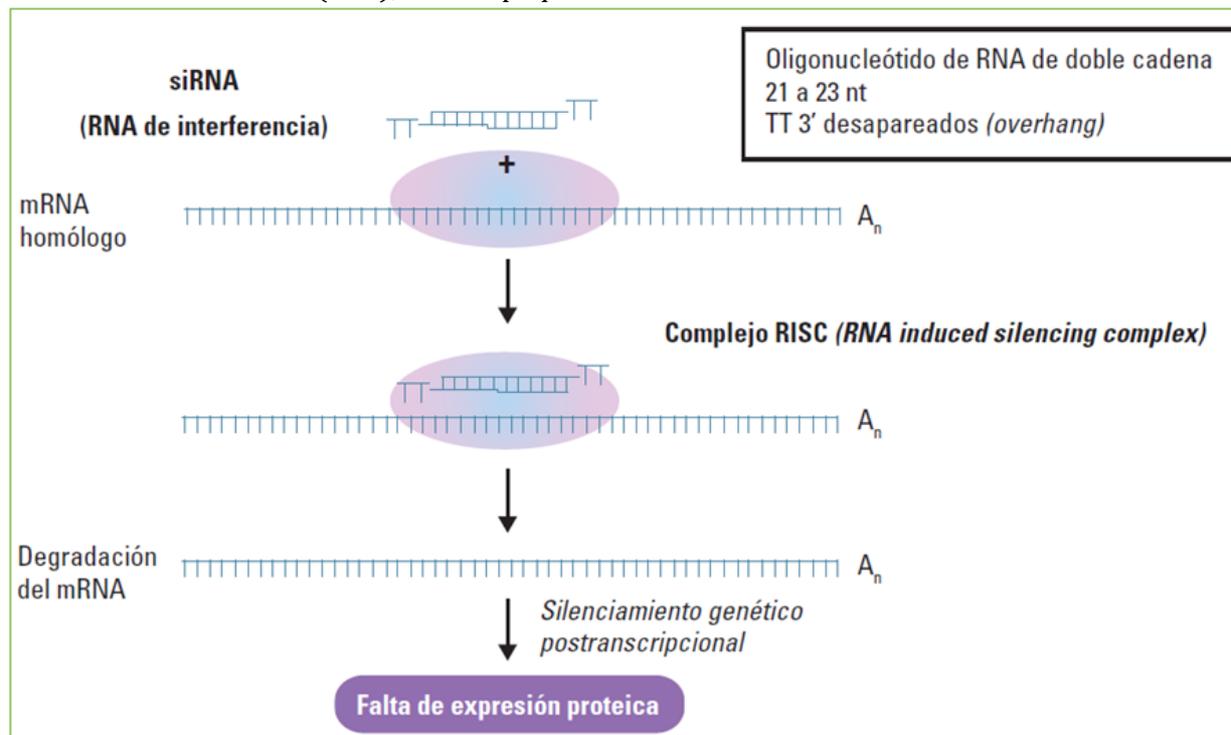


Figura 3. Mecanismo de acción del ARNsi. Tomada de (Ciudad et al., 2009).

- Un **ARN antisentido** es una molécula de ARN cuya secuencia es complementaria a otra molécula de ARN, obtenida por transcripción del gen normal.

- Un **OAS** es un oligonucleótido de ADN de cadena simple que se hibrida al ARN diana, inhibe la traducción a proteína y activa la degradación del ARN diana a través de la ribonucleasa H (RNasa H)². La investigación respecto a los potenciales usos terapéuticos de los OAS es un campo que ha conocido un amplio desarrollo en las últimas dos décadas, con grandes avances especialmente en el ámbito de las enfermedades neuromusculares. De hecho, más de la mitad de los OAS actualmente comercializados están indicados en el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne o de la atrofia muscular espinal (AME) (Arechavala *et al.*, 2022). El diseño de un OAS es relativamente simple: se sintetiza un OAS con la secuencia complementaria y en

sentido inverso a la secuencia del ARN diana. La situación del fragmento de ARN diana puede variar, pero la zona más sensible al ataque antisentido es la del inicio de la traducción. La longitud del OAS también puede variar, aunque usualmente es de alrededor de 21 bases. Dado que los OAS son susceptibles de degradación por nucleasas celulares, se han diseñado diferentes estrategias para hacerlos más resistentes, como la sustitución de un oxígeno del enlace fosfodiéster por un átomo de azufre (fosfotioato).

- Un **ARNsi** es una molécula de ARN de doble cadena en la cual una de sus hebras es complementaria e inversa a la del ARN del gen que se quiere reprimir. Se diferencian de los OAS en que los ARNsi están formados por una doble cadena de ARN, en vez de una cadena simple de ADN. La acción de los ARNsi depende de un complejo denominado **RISC (RNA induced silencing complex)** que abre las cadenas, encuentra la zona diana del ARN y lo degrada, inhibiendo la formación de la proteína correspondiente (Figura 3).

² Ribonucleasa H es el nombre de una familia de enzimas con actividad endonucleasa presentes en prácticamente todos los organismos y cuya función es degradar de manera específica los híbridos ADN-ARN.

- Los **ARNmi** son pequeños ARNi que se generan a partir de precursores específicos codificados en el genoma y que una vez transcritos se pliegan en horquillas intramoleculares que contienen segmentos de complementariedad imperfecta. La hebra antisentido del ARNmi se incorpora a un complejo similar a RISC y, dependiendo del grado de complementariedad del ARNmi con el ARNm, los ARNmi pueden o bien inhibir o bien inducir la degradación del ARNm, de modo que participan en la

regulación postranscripcional de la expresión génica, por lo que pueden ser utilizados tanto con propósitos terapéuticos como de diagnóstico (Cannataro *et al.*, 2023). Los ARNmi pueden ser objeto de ataque por moléculas antisentido denominadas anti-miR o antagomir, con utilidad terapéutica en múltiples ámbitos, como el tratamiento del cáncer. No obstante, por ahora no se dispone de ningún fármaco anti-miR autorizado en la UE.

EL ARN COMO DIANA

Oligonucleótidos antisentido (OAS)

Nusinersén es probablemente uno de los ejemplos más representativos del potencial de éxito del uso terapéutico de los OAS. Nusinersén cuenta con indicación en atrofia muscular espinal (AME) y su mecanismo de acción consiste en la restauración de la expresión de la proteína SMN en las motoneuronas. El fármaco aumenta la proporción de inclusión del exón 7 en los transcritos del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) del gen de supervivencia de la neurona motora 2 (SMN2), al unirse a un sitio ISS-N1 (*silenciador del proceso de corte y empalme intrónico*) localizado en el intrón 7 del precursor del ácido ribonucleico mensajero (pre-ARNm) del gen *SMN2*. Con esa unión, nusinersén desplaza los factores de corte y empalme, produciendo la retención del exón 7 en el ARNm del *SMN2* y, por consiguiente, cuando se produce el ARNm de este gen se puede traducir en la proteína SMN funcional de longitud completa (Cuéllar, 2018). Los datos actualizados tras un seguimiento de al menos 2 años confirman los resultados positivos obtenidos en estudios clínicos, con mejoras significativas de las funciones motoras incluso en pacientes en los que no se había obtenido una mejora significativa tras 1 año de seguimiento (Pane *et al.*, 2022).

Como nusinersén, **eteplirsén** está indicado también en el tratamiento de una enfermedad neuromuscular, en este caso en la distrofia muscular de Duchenne (DMD). La patología

de esta enfermedad está relacionada con una mutación en el gen que codifica para la distrofina³ que provoca que el proceso de traducción dé como resultado una proteína mucho más pequeña de lo habitual, dando lugar a una sintomatología grave en la que destaca la debilidad muscular desde la infancia, con una esperanza de vida notablemente reducida⁴. Eteplirsén, no disponible en España, actúa fomentando la escisión del exón 51 del gen, lo cual permite restaurar el marco de lectura –al eliminar un codón de terminación– y que se genere una proteína semifuncional, aunque no completamente normal al carecer de este exón. No obstante, eteplirsén únicamente sería útil para una pequeña proporción de pacientes –13-14%– con mutaciones concretas, por lo que se han diseñado oligonucleótidos diferentes –tales como golodirsén, viltolarsén y casimersén– indicados en otros casos de DMD en los que están presentes distintos tipos de mutación (Zhu *et al.*, 2022). Aunque estos fármacos han sido aprobados por la FDA en Estados Unidos, ninguno de ellos se encuentra autorizado en la Unión Europea.

En este sentido, un aspecto interesante de la tecnología basada en los OAS es la **gran capa-**

³ Esta mutación produce un codón de terminación temprano, lo que da como resultado una proteína truncada. Como curiosidad cabe apuntar que este gen, localizado en el cromosoma X, es el más grande conocido.

⁴ La muerte de los pacientes con DMD se produce comúnmente entre los 20 y los 30 años.

idad de adaptación, hasta el punto de que se han llegado a desarrollar fármacos personalizados empleados en estudios clínicos con una muestra de un único paciente. Es el caso, por ejemplo, de milasén, utilizado en el tratamiento de una paciente con la enfermedad de Batten⁵. Tras secuenciar su genoma se pudo comprobar que un gen *-MFSD8-* era afuncional, por lo que se diseñó un OAS formado por 22 nucleótidos que reconoce de manera específica la copia de ARN afectada por la inserción de un elemento genético móvil capaz de alterar el procesamiento del ARNm. El tratamiento, producido en tiempo récord, contó con un aceptable perfil de seguridad y consiguió reducir la sintomatología de la enfermedad, aunque no frenó su progresión. Actualmente continúan en investigación otros fármacos que inicialmente se diseñaron para tratar a un único paciente (Anthony, 2022). Atipeksén se diseñó para tratar una mutación específica asociada a la ataxia-telangiectasia y que genera un curso más grave de la enfermedad, aunque por ahora no se dispone de resultados publicados. Otro ejemplo es el de jacifusén en esclerosis lateral amiotrófica (ELA) causada por la mutación P525L en el gen *FUS*, que actualmente se encuentra en fase de ensayos clínicos con 77 participantes.

Las enfermedades oculares han sido otro ámbito de desarrollo de los OAS. No en vano, el primer OAS autorizado *-fomivirsén-* estaba indicado en el tratamiento de la retinitis provocada por citomegalovirus en pacientes inmunodeprimidos debido a la infección por el VIH. Sin embargo, el fármaco fue retirado del mercado a petición del laboratorio titular alegando razones comerciales, debido a que los avances en el tratamiento del VIH han hecho que la frecuencia de este tipo de retinitis se reduzca drásticamente (Croke *et al.*, 2018). Actualmente el OAS candidato a nuevo fármaco más avanzado en estudios clínicos en el tratamiento de enfermedades oculares es seprofarsén, encaminado a tratar la amaurosis

congénita de Leber, principal causa genética de ceguera infantil. Los resultados disponibles de los estudios de fase 1 y 2 apuntan a que una única inyección intravítrea proporciona una mejora en la visión respecto a la línea de base, con un pico de mejora a los 3-6 meses tras la administración y un retorno aproximado a la visión basal a los 3-4 años (Cideciyan *et al.*, 2023), lo que requeriría de readministración del fármaco cada dos años, aproximadamente.

Actualmente en España, además de nusinersén, se encuentran comercializados otros dos OAS. Por un lado, *inotersén* está indicado en el tratamiento de la polineuropatía en estadio 1 o 2 en pacientes adultos con amiloidosis familiar por transtiretina. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la transtiretina humana (TTR) a través de una unión selectiva a la región 3' no traducida del ARNm de la TTR, provocando su degradación. De este modo, ejerce una inhibición concentración-dependiente de la síntesis hepática de la proteína y su secreción a sangre, que se traduce en una reducción sustancial de los niveles circulantes de TTR, tanto de tipo mutado como salvaje, y con ello, en una mayor estabilización o aclaramiento de los depósitos de TTR amiloidótica y de las manifestaciones de la polineuropatía y cardiomiopatía (Fernández, 2020). Los resultados más actualizados disponibles (Brannagan *et al.*, 2022), procedentes de un estudio abierto de extensión (OLE) y tras una exposición mediana al fármaco de tres años, apuntan a que el tratamiento se asocia a un considerable retraso en la progresión de la enfermedad⁶, con un 50% de pacientes respondedores⁷ tras 156 semanas de tratamiento entre aquellos que fueron tratados con inotersén tanto en el estudio pivotal como en el OLE, y un 63% durante este mismo periodo entre los que fueron tra-

⁵ La lipofuscinosis cerioide neuronal o enfermedad de Batten es un trastorno genético raro de inicio en edad infantil que provoca una acumulación de lipopigmentos en distintos tejidos del organismo y alteran su funcionalidad. Los síntomas más habituales son problemas visuales asociados a retinopatía, convulsiones y cambios de comportamiento que tienden a empeorar, provocando la muerte en muchos casos antes de los 10 años.

⁶ Sin tratamiento, la esperanza de vida de estos pacientes es de 5-10 años desde el inicio de los síntomas.

⁷ Considerando como respuesta una reducción respecto a la línea de base en el estudio pivotal de al menos 12,2 puntos en la escala mNIS + 7, que es una medida compuesta de la polineuropatía motora, sensorial y autónoma que incluye valoraciones cuantitativas de la fuerza motora y los reflejos, pruebas sensoriales, estudios de conducción nerviosa y presión arterial postural, con puntuaciones situadas entre un mínimo de 0 y un máximo de 304 puntos, en las que una mayor puntuación indica una mayor afectación.

tados con placebo en el estudio pivotal y cambiaron a inotersén en el OLE. En este estudio de extensión no se encontraron nuevos eventos de seguridad destacables respecto a los ya identificados en el desarrollo del estudio pivotal, entre los que destacaron reacciones relacionadas con la administración –eritema, dolor y prurito–, náuseas, anemia, trombocitopenia y glomerulonefritis, siendo la mayor parte de intensidad leve o moderada.

Por otra parte, **volanesorsén**, indicado en el tratamiento de la quilomicronemia familiar en pacientes con alto riesgo de pancreatitis en los que la respuesta a la dieta y al tratamiento de reducción de triglicéridos resulta insuficiente, se diseñó para inhibir de forma específica la formación de apolipoproteína C-III (apoC-III), encargada de regular el metabolismo de los triglicéridos y el aclaramiento hepático de los quilomicrones, fundamentalmente. El fármaco se une a la región no traducida 3' del ARNm de la apoC-III provocando su degradación e impidiendo la síntesis proteica, lo que tiene como consecuencia una activación del metabolismo de los triglicéridos por una vía independiente de la lipoproteína lipasa (Fernández, 2022). En una revisión sistemática y metaanálisis de estudios clínicos aleatorizados que han evaluado la eficacia y seguridad del fármaco (Calcaterra *et al.*, 2022) se observó una reducción media del 74% de los niveles de triglicéridos en los pacientes que recibieron volanesorsén en comparación con los que recibieron placebo, incluyendo a pacientes refractarios a tratamientos habituales para la reducción de los triglicéridos, junto con un incremento medio del 46% en los niveles de colesterol HDL. Estos resultados sugieren un potencial efecto beneficioso sobre el riesgo cardiovascular, aunque este efecto no se ha evaluado de manera directa en los estudios clínicos, por lo que se requiere de datos a más largo plazo que permitan correlacionar los parámetros. El primer ARNsi autorizado como fármaco en Europa –en el año 2018– fue **patisirán**, indicado en el tratamiento de la amiloidosis hereditaria por transtiretina en pacientes adultos con polineuropatía en estadio 1 o 2 –por lo que comparte indicación con inotersén–. Patisirán fue diseñado para unirse específicamente a una secuencia conservada genéti-

bioquímicos con resultados concretos en la salud de los pacientes.

Por otro lado, las **ribozimas**, también denominadas ARN catalítico, son moléculas naturales de ARN con actividad enzimática y funciones muy diversas, entre las que destacan la capacidad de eliminar los enlaces fosfodiéster en una cadena de nucleótidos o de eliminar intrones en un transcrito primario. El descubrimiento de este tipo de moléculas, que en cierto modo pueden considerarse como OAS con actividad catalítica natural (Dwivedi *et al.*, 2018), ha conducido a la investigación sobre sus potenciales usos terapéuticos, entre los que se puede destacar la angiozima, una ribozima sintética que inhibe la angiogénesis al dirigirse al ARNm que codifica para el receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR1). Este candidato a fármaco, desarrollado hace más de dos décadas, no ha mostrado hasta la fecha resultados de eficacia suficientes que hayan podido motivar su autorización como medicamento. Otra ribozima candidata a nuevo fármaco es OZ1, en este caso encaminada a tratar la infección por VIH y cuyo mecanismo se basa en impedir la replicación del VIH-1. Se trata en realidad de una terapia génica que, tras ser administrada, permite producir *in vivo* la ribozima de interés. Aunque los datos de eficacia y seguridad disponibles son muy limitados, el tratamiento parece reducir la carga viral de forma significativa en comparación con placebo, con un 47% de pacientes con una carga inferior a 4 log₁₀ copias/ml frente a un 15% de los pacientes que recibieron placebo en un estudio de fase 2 y un perfil de seguridad con eventos adversos manejables, de intensidad leve o moderada (Mitsuyasu *et al.*, 2009).

ARN pequeño de interferencia (ARNsi)

amente en la región 3' no traducida del ARNm de la proteína TTR, tanto en su forma mutante como salvaje. Se formula en nanopartículas con 4 excipientes lipídicos que protegen al fármaco de la acción de endo- y exonucleasas en la circulación sistémica y facilitan su liberación en el hígado: el fármaco, una vez en los hepatocitos, actúa a través

del proceso natural denominado *interferencia de ARN* y produce la degradación catalítica

del ARNm de la TTR humana (Figura 4), reduciendo sus niveles séricos.

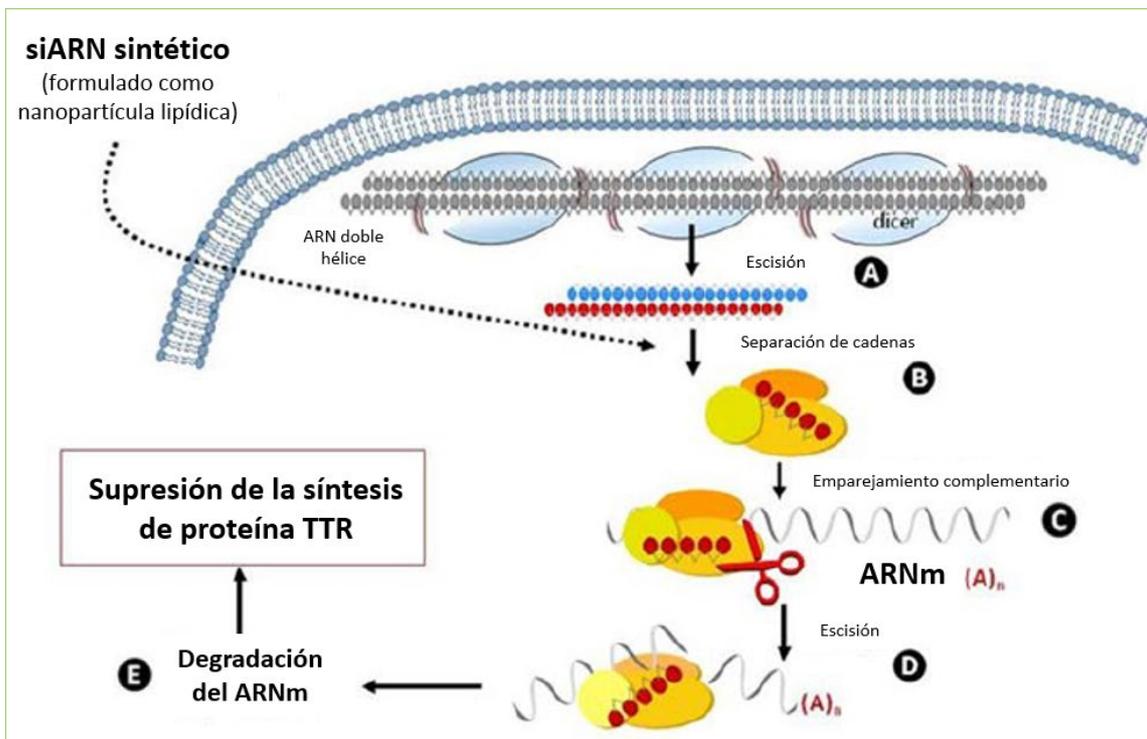


Figura 4. Mecanismo de acción de patisirán, basado en la interferencia con el ARN. Adaptado del EPAR de Onpattro® (EMA, 2018). Una vez en el interior celular, el ARN de doble hélice que conforma el patisirán se desenrolla y la cadena antisentido se une específicamente a una secuencia conservada genéticamente en la región 3' no traducida del ARNm de TTR; puede unirse tanto al ARNm *wild-type* o salvaje como al ARNm mutante, con independencia de la mutación patológica específica. La endonucleasa argonata-2, dentro del complejo enzimático del siARN con RISC (complejo de silenciamiento inducido por el ARN de interferencia), degrada catalíticamente el ARNm de TTR, dando como resultado una reducción de la síntesis de proteína.

El medicamento se encuentra comercializado en España desde el año 2020 y los resultados publicados de seguridad y eficacia a largo plazo en un estudio abierto de extensión y controlado (Adams *et al.*, 2021) en el que se evaluó a pacientes que previamente habían participado en el ensayo pivotal (N= 211) indican que, tras un seguimiento de 12 meses, los pacientes tratados con patisirán obtienen un beneficio sostenido en la puntuación de mNIS+7, con una reducción mediana de 4 puntos respecto al estudio pivotal. Los eventos adversos se reportaron con mayor frecuencia en el grupo de placebo, mientras que los principales eventos adversos relacionados con el tratamiento fueron aquellos relacionados con la infusión, de intensidad leve o moderada. Todavía se requiere de un seguimiento a más largo plazo que permita evaluar de manera más completa la eficacia y la seguridad del fármaco, pero los datos de este estudio indican un beneficio sostenido que se

traduce en una mayor calidad de vida para los pacientes afectados por la enfermedad.

Patisirán abrió un camino al que rápidamente se han sumado otros fármacos y numerosos candidatos actualmente en fase de ensayos clínicos. En España están también disponibles los ARNsi givosirán y lumasirán.

Givosirán es un ARNsi indicado en el tratamiento de la porfiria hepática aguda. El fármaco se diseñó para ser captado selectivamente por el hígado a través del receptor de asialoglicoproteína. Una vez dentro de los hepatocitos se une específicamente al ARNm precursor de la enzima ácido aminolevulínico sintasa tipo 1 (ALAS1) y causa su degradación catalítica por el proceso de interferencia del ARN. Ello resulta en una reducción de los niveles de ARNm hepático para ALAS1, que finalmente se traduce en una menor síntesis proteica y disminución de los niveles plasmáticos y urinarios de ácido aminolevulínico

(ALA) y porfobilinógeno (PBG), intermediarios neurotóxicos de la síntesis del hemo cuya acumulación en distintos tejidos constituye la base patológica de las porfirias. De acuerdo a la actualización de los datos del estudio pivotal de fase 3 tras 24 meses de seguimiento (Ventura *et al.*, 2022), el 80% de los 94 pacientes no sufrió ninguna crisis aguda en este periodo y el tratamiento también se asoció a una disminución del uso de hemina, de modo que el 68% de los pacientes no requirió ninguna infusión. La introducción de givosirán supuso un cambio disruptivo en el tratamiento de esta enfermedad, reduciendo de manera significativa la carga de la enfermedad y con un perfil de seguridad aceptable, aunque puede provocar eventos renales y, sobre todo, hepáticos que contraindicarían su uso en algunos pacientes.

Por su parte, **lumasirán** es un ARNsi indicado en el tratamiento de la hiperoxaluria primaria de tipo 1 (HP-1) en todos los grupos de edad. Como patisirán y givosirán, lumasirán también se dirige a los hepatocitos, donde se une al ARNm del gen HAO1 codificante para la enzima hidroxilato oxidasa 1 o glicolato oxidasa y promueve su degradación mediante el proceso de interferencia del ARN. Reduce así los niveles de síntesis de esa proteína y provoca una disminución de la cantidad de glioxilato disponible, que es un sustrato de la producción de oxalato, de modo que también reduce los niveles de oxalato en orina y en plasma. Su eficacia se ha evaluado tanto en los estudios pivotaes como en estudios posteriores a través de variables bioquímicas intermedias –como la reducción de oxalato plasmático y urinario– y por ahora no se dispone de datos referentes a variables de mayor relevancia clínica, como la calidad de vida

o la mortalidad. No obstante, la reducción de los niveles de oxalato es considerable tanto en los estudios clínicos –40% en población mayor a 6 años, 32% en población menor de esa edad– como en estudios posteriores –33-42%– (Michael *et al.*, 2023), lo cual, a la espera de datos a más largo plazo, permite hipotetizar un importante beneficio clínico.

Aunque por ahora no se dispone de otros ARN pequeños de interferencia comercializados en España, probablemente a corto o medio plazo se dispondrá de nuevos fármacos basados en esta tecnología con nuevas indicaciones (Tabla 1). Quizá el más avanzado, por encontrarse ya autorizado por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), es **inclisirán**, con indicación en el tratamiento de la hipercolesterolemia primaria y en la dislipemia mixta, en combinación con una dieta adecuada en pacientes que no responden a las dosis más altas de estatinas solas o en combinación con otros hipolipemiantes o en los que el tratamiento con estatinas está contraindicado. Inclisirán, un ARNsi consistente en 23 oligonucleótidos antisentido y en 21 oligonucleótidos sentido, se ha desarrollado para dirigirse específicamente a la región 3' no traducida del ARNm de PCSK9, una proteína cuya actividad aberrante ocasionada por una mutación de ganancia de función en el gen que la codifica resulta en un menor reciclaje del colesterol LDL, produciendo hipercolesterolemia. Los estudios pivotaes de fase 3 llevados a cabo (ORION 9, ORION 10 y ORION 11) han mostrado que el tratamiento semestral con inclisirán permite obtener reducciones en el colesterol LDL de aproximadamente el 50%, siendo la reducción de este tipo de colesterol el principal objetivo de las terapias hipocolesterolemiantes (EMA, 2021).

Tabla 1. Ejemplos de ARNsi en fase de estudios clínicos.

Fármaco	Diana	Enfermedad
Cosdosirán	Caspasa-2	Neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica
Fitusirán	Antitrombina	Hemofilia A y B
Nedosirán	LDH hepática	Hiperoxaluria primaria
Teprasisirán	p53	Lesión renal aguda
Tivanisirán	TRPV1	Enfermedad de ojo seco
Vutrisirán	Transtiretina	Amiloidosis familiar por transtiretina

LDH: lactato deshidrogenasa; TRPV1: receptor de potencial transitorio V1 (*transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*).

Las aplicaciones terapéuticas del micro ARN (ARNmi)

Del mismo modo que los ARNsi, los ARNmi son pequeños ARN bicatenarios que presentan la capacidad fisiológica de ejercer un efecto de silenciamiento génico post-transcripcional. A nivel terapéutico difieren, no obstante, en su mecanismo de acción, pues mientras que los ARNsi actúan fundamentalmente por ruptura del ARNm mediada por endonucleasas, el ARNmi actúa inhibiendo la traducción, favoreciendo la degradación del ARNm y solo excepcionalmente actúa quebrando el ARNm a través de endonucleasas – cuando existe una alta complementariedad entre el ARNm y el ARNmi– (Lam *et al.*, 2015).

Las potenciales aplicaciones terapéuticas del ARNmi pueden dividirse en dos categorías: **inhibición del ARNmi** o **reemplazo del ARNmi** (Zhang *et al.*, 2023). La inhibición del ARNmi se realiza utilizando análogos de ARN monocatenario sintéticos complementarios a la cadena activa del ARNmi diana (anti-miR o antagonistas) (Traber *et al.*, 2023). Por su parte, el reemplazo puede llevarse a cabo a partir de ARNmi sintéticos que ejercen la misma función que el ARNmi diana, promoviendo así la inhibición de la acción del ARNm. En cualquier caso, no hay por ahora ningún fármaco autorizado que utilice ninguna de estas dos estrategias, aunque sí podemos distinguir algunos candidatos en fase clínica.

Miravirsén y RG-101 son dos anti-miR dirigidos específicamente al ARNmi-122 –también denominado miR-122–, un ARNmi que, además de cumplir numerosas funciones fisiológicas, es necesario para la replicación del virus de la hepatitis C. En estudios clínicos de fase I y II se ha podido comprobar la seguridad de estos tratamientos (Drury *et al.*, 2017), pero no se dispone de datos consolidados de eficacia por el momento. Por otro lado, lademirsén es un anti-miR cuyo mecanismo de acción consiste en bloquear la actividad de miR-21 en pacientes con síndrome de Alport⁸. Aunque no se dispone por ahora

de resultados clínicos, la investigación preclínica en modelo murino ha mostrado un retraso en la progresión de la enfermedad cuando lademirsén se añade a un tratamiento de base con un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), incrementando la supervivencia en un 116% respecto a placebo (Rubel *et al.*, 2022). Cobomarsén es otro anti-miR, concretamente anti-miR-155, investigado en el tratamiento del linfoma cutáneo de células T asociado a micosis fungoide. Como ejemplo de ARNmi de reemplazo puede citarse el caso de remlarsén, que imita la función de miR-29 y está en estudio para el tratamiento de los queloides –crecimientos exacerbados de tejido cicatricial producidos tras una lesión–. Se ha completado un estudio de fase 2 con 14 pacientes cuyos resultados de eficacia no han sido divulgados, mientras que los datos de seguridad apuntan a un perfil manejable, siendo los eventos más comunes la elevación de la lactato deshidrogenasa (LDH) en sangre y nasofaringitis⁹.

Aptámeros

Los aptámeros son secuencias cortas de ácidos nucleicos monocatenarios con capacidad para unirse con gran afinidad y especificidad a una diana concreta, pudiendo ejercer efectos agonistas o antagonistas, y también pueden servir como vehículos para llevar a otros fármacos a su diana. Partiendo de este concepto queda patente su **similitud con los anticuerpos monoclonales**; sin embargo su desarrollo se encuentra todavía en ciernes, a pesar de que presentan potenciales ventajas sobre aquéllos, por ejemplo: la estabilidad y vida media de los aptámeros es por lo general superior a la de los anticuerpos monoclonales y además pueden ser producidos por métodos químicos, lo que reduce la complejidad y el coste del proceso de producción, así como la

⁸ El síndrome de Alport es una enfermedad rara ligada al cromosoma X en la que se produce una nefropatía glomerular con

hematuria progresiva que lleva a enfermedad renal terminal debido a mutaciones en el gen que codifica para el colágeno de tipo IV. Con frecuencia se asocia también a trastornos auditivos y oculares. Por ahora únicamente se dispone de tratamiento sintomático para las manifestaciones sensoriales, mientras que el tratamiento del fallo renal pasa por el trasplante del órgano.

⁹ Datos disponibles en:

<https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03601052>.

variabilidad entre lotes, a la vez que incrementa las opciones de introducir modificaciones sobre posiciones concretas (Thiviyanathan *et al.*, 2012).

En la Unión Europea llegó a estar autorizado desde el año 2006 un fármaco basado en un aptámero, pegaptanib, que en 2018 fue retirado del mercado a solicitud del laboratorio titular debido a motivos comerciales, teniendo en cuenta, no obstante, la opinión negativa mostrada por el Comité de Medicamentos de Uso Humano de la EMA en relación a la relación beneficio-riesgo ofrecida por pegaptanib a largo plazo. El fármaco estaba indicado en el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad y su mecanismo de acción consistía en la inhibición del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

En investigación se encuentran otros aptámeros como olaptased pegol, que se dirige a la quimiona CXCL12 con el objetivo de tratar el glioblastoma; o ApTOLL, un aptámero que bloquea específicamente TLR4¹⁰ con el objetivo de modular la respuesta inmunitaria que se inicia cuando se produce un accidente cerebrovascular. Los datos disponibles de un estudio de fase 1/2 doble ciego y aleatorizado para ApTOLL apuntan a una disminución de la zona infartada, a un menor grado de discapacidad y mejores resultados neurológicos en comparación con placebo (Hernández-Jiménez *et al.*, 2023).

La tecnología CRISPR-Cas aplicada a la manipulación del ARN

El descubrimiento de las secuencias CRISPR por el microbiólogo español Francisco Mojica ha supuesto la apertura de un nuevo campo cuya traslación a la práctica clínica está viviendo sus primeros pasos. De forma natural, el sistema CRISPR-Cas9 es un componente del sistema inmunitario adaptativo de las células procariontas, compuesto por dos moléculas de ARN y la endonucleasa Cas9 y con capacidad

para “cortar” o eliminar secuencias muy concretas de ADN extrañas –procedentes de patógenos como virus bacteriófagos, por ejemplo–, sirviendo como **mecanismo de defensa**.

Aunque por el momento no se ha autorizado ningún medicamento basado en esta estrategia, se están llevando a cabo estudios clínicos en distintos campos. Por ejemplo, EDIT-101 es un candidato a fármaco de edición genética cuya seguridad está siendo actualmente examinada en un estudio clínico de fase 1/2 con pacientes con amaurosis congénita de Leber. El mecanismo de acción del fármaco consiste en eliminar una secuencia muy concreta en el intrón 26 del gen *CEP290*, que provoca que la proteína traducida no sea funcional (Maeder *et al.*, 2019).

Por otro lado, para el tratamiento de la enfermedad de Huntington no se dispone actualmente de cura. La enfermedad está causada por una expansión en el gen de la huntingtina que provoca la expansión del triplete CAG, que codifica para glutamina. Utilizando la tecnología CRISPR-Cas13d se ha desarrollado una estrategia dirigida de forma específica al ARNm que codifica para el gen mutado de la huntingtina en un ensayo en modelo murino, con una mejora duradera –de al menos ocho meses– en el desempeño motor y en la coordinación, sin efectos adversos observados (Morelli *et al.*, 2023).

Otros candidatos actualmente en estudio se dirigen al tratamiento de enfermedades como la anemia de células falciformes, la beta-talasemia o el mieloma múltiple. No obstante, se debe tener en cuenta que esta estrategia está todavía sujeta a **limitaciones** que pueden comprometer la eficacia de los tratamientos y que deben ser optimizadas. Entre éstas, puede citarse la distribución y liberación selectiva del fármaco en las células y tejidos diana y los posibles efectos sistémicos derivados de una falta de selectividad (Feng *et al.*, 2021).

¹⁰ TLR4 es un receptor transmembrana de la familia *toll-like receptor* (TLR) que participa en la respuesta inmune innata y desencadena una cascada de señalización que lleva a la producción de citocinas con efectos inflamatorios.

EL ARN COMO FÁRMACO

Aunque, como se ha podido comprobar, la investigación respecto a las aplicaciones terapéuticas del ARN cuenta ya con un largo historial y con importantes resultados en forma de novedosos fármacos, el desarrollo de las vacunas de ARNm para prevenir la infección por la COVID-19 ha sido sin duda el hito que ha supuesto tanto la popularización a nivel social del ARN en terapéutica como el acicate necesario para aumentar la inversión en investigación en este amplio y diverso campo de estudio.

Las vacunas de ARNm en la prevención de la COVID-19

Las vacunas de ARNm incorporan una **tecnología novedosa**, ya que a diferencia de las estrategias “clásicas” para inducir la respuesta inmunitaria empleadas por las vacunas hasta ahora disponibles –por ejemplo, la inclusión de subunidades proteicas, de virus vivos atenuados/virus inactivados o de vectores virales–, fundamentalmente basadas en usar antígenos de los virus (o de bacterias), éstas contienen material genético del virus, es decir, su ARNm, sin introducir partes del virus en sí. Concretamente, las vacunas autorizadas para la prevención de la COVID-19 son vacunas específicamente diseñadas para proporcionar a las células humanas la secuencia codificante para la proteína S del SARS-CoV-2 (Fernández, 2021).

Desde un punto de vista estructural, la vacuna BNT162b2, tozinamerán o Comirnaty®, es un ARN mensajero de única cadena, con el extremo 5' *tapado* (con la llamada “capucha”), codificante para la glicoproteína S de cadena completa del virus SARS-CoV-2. La secuencia genética optimizada, seleccionada a partir de las primeras muestras virales secuenciadas en Wuhan, codifica para una variante de la

proteína S en la que se han introducido dos mutaciones consecutivas de sustitución a prolina (“variante 2P”), para bloquear la conformación prefusión de la proteína y, en particular, de su dominio RBD (dominio de unión al receptor). El ARNm se genera mediante la transcripción *in vitro* usando una plantilla de ADN (producida a través de plásmidos de ADN procedentes de células de *Escherichia coli* modificadas) y ha sido formulado en nanopartículas lipídicas (NPL) que lo protegen de la degradación por ARNasas y permiten una mejor transfección de las células hospedadoras tras la administración intramuscular. En esas NPL destaca la presencia de dos novedosos excipientes, como el lípido catiónico ALC-0315 [4-hidroxi-butil)azanodiil)bis(hexan-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato)] y el lípido pegilado ALC-0159 [2-(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida), no pudiéndose excluir que la composición de las nanopartículas pueda contribuir a la inmunogenicidad global de la vacuna.

Por su parte, la vacuna mRNA-1273, elasomerán o Spikevax® es un ARNm de cadena única, con una “capucha” en 5' (Figura 5) y con una secuencia de nucleósidos modificada codificante para una proteína S del SARS-CoV-2 de cadena completa con dos sustituciones de aminoácidos por prolina (K986P y V987P) en el dominio de repetición en héptada (“variante 2P”), que la estabilizan en la conformación prefusión. También contiene un residuo de N1-metil-pseudouridina en sustitución de uridina. De nuevo, el ARNm se formula en NPL que actúan de protectores y portadores del ARNm, entre los que destacan dos nuevos compuestos: el lípido ionizable SM-102 [heptadecan-9-il 8-((2-hidroxi-etil)(6-oxo-6-(undeciloxi)hexil)amino)octanoato] y el lípido pegilado PEG2000-DM (1,2-dimiristóil-rac-glicero-3-metoxipolietilenglicol-2000).



Figura 5. Estructura general de la molécula de ARNm. La secuencia de ARN incluye, además de la capucha en 5', una región no traducida en 5' (UTR, por sus siglas en inglés), una región de lectura abierta (ORF), una región no traducida en 3' y una cola de poliA en 3'; esta última consiste en múltiples adenosín monofosfatos (trozo de ARN formado solo de bases adenina) y es característico del ARNm maduro (importante para su estabilidad).

El **mecanismo de acción** común para estas vacunas podría resumirse de la siguiente manera: el ARN mensajero no replicativo con nucleósidos modificados, formulado o encapsulado en nanopartículas lipídicas que posibilitan su entrada a las células huésped, codifica para la traducción transitoria de la proteína S (de la espícula) del SARS-CoV-2 en el ribosoma citoplasmático de las células humanas; esa proteína S viral es de longitud completa, con dos mutaciones puntuales en la hélice central que la estabilizan en una conformación prefusión preferida desde el punto de vista antigénico. Una vez sintetizada, la proteína S se expresa de forma “anclada” a la membrana plasmática de la célula huésped y, cuando es reconocida como un antígeno extraño por las células del sistema inmunitario, desencadena una respuesta adaptativa contra el antígeno tanto de anticuerpos neutralizantes (mediada por linfocitos B) como de inmunidad celular (mediada por linfocitos T, particularmente a través de una respuesta regulada por Th₁), contribuyendo a la protección frente a la COVID-19 en una posible exposición futura al SARS-CoV-2. En principio, los anticuerpos neutralizantes específicos generados serán capaces de prevenir la infección mediante el bloqueo de la interacción entre la proteína S y su RBD con la célula del hospedador, pero también por aclaramiento viral mediante el proceso de opsonización.

En líneas generales, después de la inyección intramuscular, se produce una inflamación local transitoria que promueve el reclutamiento de neutrófilos y células presentadoras de antígenos¹¹ (CPAs): las células del lugar de

la inyección y los ganglios linfáticos drenantes toman la nanopartícula lipídica por endocitosis, liberándose posteriormente de forma eficaz el ARNm desde el endosoma al citosol, con lo que se permitirá su traducción a la proteína viral. Es importante subrayar que el ARNm introducido no penetra en el núcleo celular ni interacciona con el genoma, es de tipo no replicativo y se expresa de forma transitoria, principalmente por células dendríticas y macrófagos del seno subcapsular.

La eficacia de estas vacunas –junto con otras autorizadas de otros tipos también indicadas en la prevención de la COVID-19 grave– fue clave para reducir el impacto de la enfermedad, por lo que su contribución a la recuperación paulatina de la normalidad fue decisiva incluso a pesar de la aparición de nuevas mutaciones en el SARS-CoV-2, debido a la capacidad de adaptación asociada a esta tecnología. Los resultados de los estudios pivotaes indican una capacidad de prevención de la enfermedad grave superior al 90%, tanto para Comirnaty® (Ministerio de Sanidad, 2022a) como para Spikevax® (Ministerio de Sanidad, 2022b).

Vacunas de ARNm: más allá de la COVID-19

El éxito obtenido por las vacunas de ARNm frente a la COVID-19 ha impulsado la investigación sobre **nuevas aplicaciones** de este tipo de vacunas, tanto en la prevención de infecciones como en el tratamiento de otras enfermedades. Frente al virus del Zika, varios años antes de la pandemia ocasionada por la COVID-19 se desarrolló una vacuna con ARNm que codifica para la glicoproteína de la envoltura viral, incluido en una nanopartícula

¹¹ Se ha descrito que las CPAs son capaces de captar y expresar la proteína, pudiendo posteriormente migrar a los ganglios linfáticos locales, donde ocurre la activación de las células T para desencadenar la respuesta inmunitaria específica.

lipídica (Richner *et al.*, 2017). No obstante, por ahora no se dispone de ninguna vacuna de ARNm comercializada que prevenga la infección por este virus, pero actualmente se están llevando a cabo diversos estudios clínicos con resultados preliminares que parecen indicar una buena tolerabilidad e inmunogenicidad de los candidatos a nuevo fármaco (Essink *et al.*, 2019).

Cabe destacar de modo especial el auge que se está produciendo en las **vacunas terapéuticas de ARNm frente a distintos tipos de cáncer**, con esperanzadores resultados en algunos casos. Por mencionar solo algunos ejemplos, actualmente hay estudios clínicos en marcha con este tipo de vacunas frente a melanoma avanzado, cáncer de pulmón no microcítico, mieloma múltiple o cáncer de páncreas, aunque en otros casos se está estudiando la posible utilidad de una misma vacuna para tratar distintos tipos de tumores sólidos, habitualmente en combinación con otros fármacos, como los inhibidores de los puntos de control inmunitario (fundamentalmente, anticuerpos monoclonales dirigidos a PD1 o PD-L1).

Uno de los candidatos más prometedores, dada la escasez de alternativas terapéuticas eficaces, es una vacuna personalizada para tratar el adenocarcinoma ductal pancreático, el tipo más común de cáncer pancreático y uno de los de peor pronóstico, pues con las terapias disponibles la supervivencia a 5 años es tan solo de aproximadamente el 12%. En el estudio clínico, de fase 1a/1b, abierto, multicéntrico y de escalada de dosis, se ha evaluado la seguridad, tolerabilidad, la respuesta inmune y la farmacocinética de esta vacuna, denominada autogén cevumerán, tras la administración del anticuerpo monoclonal atezolizumab, que bloquea a PD-L1 y en combinación con mFOLFIRINOX¹². El fármaco consiste en ARNm encapsulado que codifica para hasta 10 neopéptidos identificados en cada paciente, con capacidad para estimular la respuesta específica de las células T (Guelman *et al.*, 2022). Tras un seguimiento mediano de 18 meses, los 8 pacientes que res-

pondieron a la vacuna (50%) no alcanzaron la mediana de supervivencia libre de progresión, frente a 13,4 meses en los no respondedores ($p = 0,003$), observándose una correlación entre la respuesta inmune inducida por la vacuna y el resultado clínico (Rojas *et al.*, 2023). No obstante, se requiere de datos más amplios con una mayor muestra que permita analizar de manera exhaustiva tanto la seguridad como la eficacia de este tipo de vacuna personalizada.

Otras estrategias terapéuticas basadas en el ARN

Una aproximación diferente al uso del ARNm es su posible empleo como **terapia de reemplazo** aplicada a distintas enfermedades o situaciones patológicas. Por ejemplo, en pacientes con fracción de eyección ventricular reducida (FEVR) –por lo general asociada a insuficiencia cardíaca– es fundamental la formación de nuevos vasos sanguíneos de cara a recuperar la función cardíaca, y en este proceso se ha demostrado la importancia de una isoforma del factor de crecimiento endotelial vascular A –concretamente, la isoforma VEGF-A₁₆₅–. En un ensayo clínico pionero de fase 2a aleatorizado y doble ciego se ha administrado ARNm desnudo codificante para esta isoforma del VEGF directamente en el corazón en pacientes sometidos a *bypass* coronario con FEVR (Anttila *et al.*, 2020), con resultados todavía pendientes de divulgación.

Esta misma estrategia se puede aplicar a enfermedades ocasionadas por la deficiencia de una determinada proteína, aprovechando la versatilidad que ofrece el diseño de ARNm específicos para codificar cualquier proteína deseada. La mayor parte de los estudios que se están realizando actualmente están orientados al tratamiento de enfermedades metabólicas relacionadas habitualmente con el déficit de una proteína concreta. Así, esta opción está siendo estudiada para el tratamiento, por ejemplo, de la fibrosis quística, de la acidemia metilmalónica o de la acidemia propiónica (Zhang *et al.*, 2023).

El ARNm también está comenzando a ser utilizado en investigación para mejorar los re-

¹² El régimen mFOLFIRINOX es una de las principales estrategias empleadas en este tipo de cáncer, siendo una combinación de ácido folínico, fluorouracilo, irinotecán y oxaliplatino.

sultados de la **terapia celular**. La estrategia consiste en extraer las células del paciente o de un banco celular y modificarlas *ex vivo* con un ARNm concreto que codifique para una proteína de interés, de modo que una vez producida la proteína las células se reinfunden en el paciente para tratar la enfermedad (Damase *et al.*, 2021). Un ejemplo es la inmunoterapia ECI-006, que combina ARNm que codifica para moléculas que activan células dendríticas (CD40L, CD70 y TLR4ca) y antígenos específicos de tumor asociados al melanoma (como tirosinasa y gp100). Esta estrategia, en combinación con ipilimumab, consiguió inducir una respuesta robusta de células T CD8+ en pacientes con melanoma en estadios III y IV, aunque se requiere de datos a largo plazo para valorar la duración de la respuesta (De Keersmaecker *et al.*, 2020).

Además del ARNm, existe interés por utilizar terapéuticamente otros tipos de ARN. Ejemplo de ello es el **ARN circular** (ARNcirc), un tipo de ARN monocatenario no codificante con forma de anillo presente en células eucariotas, aunque inicialmente descubiertos en viroides –agentes infecciosos consistentes en ARNcirc con capacidad infecciosa y patogénica–. La estructura circular dota a estas molé-

culas de una gran estabilidad, siendo resistentes a la degradación por numerosas exonucleasas (Zhang *et al.*, 2023). Su interés terapéutico radica fundamentalmente en su potencial para regular la expresión génica. En investigación preclínica se ha utilizado un ARNcirc en modelo murino con el objetivo de atenuar el daño neurológico sufrido tras un ictus isquémico (Bai *et al.*, 2018).

Cabe destacar también un candidato a fármaco basado en un **ARN pequeño activante** (ARNpa), un tipo de ARN bicatenario que, al contrario que muchos otros fármacos vistos hasta ahora, presenta un mecanismo basado en la **activación de la transcripción génica** en vez de en su silenciamiento. Actualmente se está llevando a cabo un estudio de fase 2 en pacientes con cáncer hepático avanzado en el que el fármaco en investigación, MTL-CEBPA, se administra en monoterapia o en combinación con sorafenib. Por ahora solo se dispone de los resultados del ensayo de fase 1 abierto y de incremento de dosis, que carece de potencia estadística para concluir sobre la eficacia del tratamiento. Las respuestas completas o parciales observadas –en 12 de 24 pacientes, 50%– podrían estar relacionadas con el perfil molecular presente en los tumores de tales pacientes (Sarker *et al.*, 2020).

EL PAPEL DEL FARMACÉUTICO EN LA INVESTIGACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS

Los farmacéuticos, como profesionales sanitarios expertos en el medicamento, pueden participar a cualquier nivel en la investigación clínica de nuevas opciones farmacoterapéuticas, con una particular perspectiva integradora. El perfil profesional del farmacéutico se ha ido especializando en distintos campos, si bien el conocimiento de los medicamentos es la esencia de la profesión en todos ellos.

A nivel de **investigación básica**, los farmacéuticos que se desempeñan en el ámbito de la docencia y la investigación están capacitados y familiarizados con la identificación y aislamiento de principios activos de distintas fuentes, la síntesis química, la química analítica, la biotecnología y los estudios farmacológicos a diferentes escalas. Desde el ámbito de la farmacia industrial y galénica, especialización propia de la profesión, los farmacéuticos contribuyen al desarrollo de novedosas formas de administración, mejorando e ideando formas farmacéuticas y optimizando procesos de obtención.

En el área de la investigación en **estudios clínicos**, los farmacéuticos especialistas participan con frecuencia en el desarrollo experimental desde la farmacia hospitalaria, ya que el investigador principal delega habitualmente las tareas relacionadas con la gestión de los medicamentos en investigación, siendo los farmacéuticos los encargados de la recepción, custodia y preparación de los mismos. Entre sus tareas se encuentran las de registrar todos los movimientos del producto en investigación, su entrada, dispensación, devolución o gestión de los residuos, incluyendo su posible destrucción; también es habitual que el farmacéutico lleve una contabilidad de la medicación.

Por otra parte, dentro de la **industria farmacéutica**, ejercen farmacéuticos en aquellos departamentos implicados en investigación clínica, a los que acceden por lo general tras formaciones específicas de posgrado. El departamento comúnmente llamado *de operaciones clínicas* es el encargado de iniciar y desarrollar un ensayo, y en él se pueden encontrar farmacéuticos en puestos de coordi-

nación y como monitores, fundamentalmente. También trabajan farmacéuticos dentro del *departamento de gestión de datos*, principalmente en tareas de coordinación, encargados de asegurar que los datos procedentes del ensayo son completos y exactos; participan también en el diseño del cuaderno de recogida de datos y de la base de datos, transmiten las consultas para su resolución y se encargan de unificar la terminología médico-científica para que todas las entradas a la base de datos sean iguales para el mismo concepto (por ejemplo, *cefalea* para dolor de cabeza, *jaqueca*, *cefalalgia*, etc.). Otro campo de actuación del farmacéutico dentro de la industria tiene lugar en los departamentos médicos, colaborando en el diseño de protocolos, la elaboración de informes, enmiendas y cualquier otro documento relacionado con un ensayo clínico de carácter técnico.

Finalmente, es preciso subrayar el papel del farmacéutico como informador sobre investigaciones clínicas. Aunque en España no es todavía muy habitual que una persona interesada en participar en un ensayo clínico se dirija a una farmacia comunitaria o servicio de farmacia hospitalaria para solicitar información y consejo, sí es habitual en otros países en los que la investigación clínica está más a pie de calle (por ejemplo, en EEUU). Los pacientes demandan cada vez más información sobre las fases de la investigación y los laboratorios están cada vez más implicados en transmitir a la población información fácilmente comprensible sobre la investigación de nuevos medicamentos.

Por ello, el farmacéutico debe tener unos conocimientos básicos sobre los ensayos clínicos –sobre sus fases y características (**Figura 6**), entre otros conceptos– para ser capaz de responder a cuestiones generales sobre el tema. Puede incluso orientar a un paciente en la búsqueda de un ensayo clínico que pudiese resultarle interesante, así como en la búsqueda de información útil para sopesar o no su participación (beneficios/riesgos, tratamientos disponibles, pruebas a realizar, estancias hospitalarias, etc.).

FASE I: PRIMEROS ESTUDIOS EN HUMANOS	FASE II: ESTUDIOS EN PACIENTES	FASE III: ESTUDIOS MULTICÉNTRICOS	FASE IV: ESTUDIOS POSCOMERCIALIZACIÓN
10-100 sujetos	50-500 sujetos	Centenares de sujetos	Miles de sujetos
· Voluntarios sanos · Pacientes con enfermedades raras o avanzadas	Sujetos-pacientes que reciben el fármaco experimental	Sujetos-pacientes que reciben el fármaco experimental	Pacientes en tratamiento con el medicamento autorizado
Abiertos	Aleatorizados y controlados (puede ser frente a placebo), pueden ser ciegos	Aleatorizados y controlados (puede ser frente a placebo) o no controlados, pueden ser ciegos	Abiertos
Seguridad y tolerabilidad	Eficacia y dosificación	Confirmar eficacia en una población mayor	Efectos adversos
< 1 año	1-2 años	3-5 años	No definida

Figura 6. Resumen de las características generales de las fases de la investigación clínica.

Por ello, el farmacéutico debe estar familiarizado con las fuentes de información oficiales que operan como bases de datos de ensayos clínicos.

ClinicalTrials.gov (<https://www.clinicaltrials.gov/>), desarrollada y actualizada por la Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU., es quizás la más conocida y completa a nivel internacional. En nuestro país, el Registro Español de Estudios Clínicos (<https://reec.aemps.es/reec/public/web.html>) incluye información sobre los ensayos clínicos y estudios observacionales autorizados en España y sobre otros estudios registrables

con carácter voluntario que al menos tengan dictamen favorable de un Comité de Ética de la Investigación; entre sus objetivos se encuentran los de garantizar que se ponen a disposición de la sociedad datos y resultados tanto positivos como negativos de investigaciones, facilitar que los sujetos participantes en dichas investigaciones tengan información previa de calidad y evitar estudios repetitivos o no aceptables, especialmente en niños, ancianos y otras poblaciones vulnerables que encuentran dificultades para poder tomar una decisión por sí mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- **Adams D, Polydefkis M, González-Duarte A, Wixner J, Kristen AV, Schmidt HH et al.** Long-term safety and efficacy of patisiran for hereditary transthyretin-mediated amyloidosis with polyneuropathy: 12-month results of an open-label extension study. *Lancet Neurol.* 2021; 20(1): 49-59. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30368-9. Erratum in: *Lancet Neurol.* 2021; 20(2): e2.
- **Anthony K.** RNA-based therapeutics for neurological diseases. *RNA Biol.* 2022; 19(1): 176-90. DOI: 10.1080/15476286.2021.2021650.
- **Anttila V, Saraste A, Knuuti J, Jaakkola P, Hedman M, Svedlund S et al.** Synthetic mRNA Encoding VEGF-A in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting: Design of a Phase 2a Clinical Trial. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020; 18: 464-72. DOI: 10.1016/j.omtm.2020.05.030.
- **Arechavala-Gomez V, Garanto A.** Antisense RNA Therapeutics: A Brief Overview. 2022 Feb 25. En: *Antisense RNA Design, Delivery, and Analysis.* Nueva York: Humana; 2022. Capítulo 2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK584236/> DOI: 10.1007/978-1-0716-2010-6_2.
- **Bai Y, Zhang Y, Han B, Yang L, Chen X, Huang R et al.** Circular RNA DLGAP4 Ameliorates Ischemic Stroke Outcomes by Targeting miR-143 to Regulate Endothelial-Mesenchymal Transition Associated with Blood-Brain Barrier Integrity. *J Neurosci.* 2018; 38(1): 32-50. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1348-17.2017.
- **Brannagan TH, Coelho T, Wang AK, Polydefkis MJ, Dyck PJ, Berk JL et al.** Open-Label Extension Investigators. Long-term efficacy and safety of inotersen for hereditary transthyretin amyloidosis: NEURO-TTR open-label extension 3-year update. *J Neurol.* 2022 Dec;269(12):6416-6427. DOI: 10.1007/s00415-022-11276-8.
- **Calcaterra I, Lupoli R, Di Minno A, Di Minno MND.** Volanesorsen to treat severe hypertriglyceridaemia: A pooled analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Invest.* 2022; 52(11): e13841. DOI: 10.1111/eci.13841.
- **Cannataro R, Cione E.** miRNA as Drug: Antagomir and Beyond. *Curr Pharm Des.* 2023; 29(6): 462-5. DOI: 10.2174/1381612829666230220123150.
- **Cideciyan AV, Jacobson SG, Ho AC, Swider M, Sumaroka A, Roman AJ et al.** Durable vision improvement after a single intravitreal treatment with antisense oligonucleotide in CEP290-LCA: Replication in two eyes. *Am J Ophthalmol Case Rep.* 2023; 32: 101873. DOI: 10.1016/j.ajoc.2023.101873.
- **Ciudad CJ, Noé V.** RNA de interferencia. En: *Biotecnología y biofarmacos.* Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos; 2009. p. 91-116.
- **Crooke ST, Witztum JL, Bennett CF, Baker BF.** RNA-Targeted Therapeutics. *Cell Metab.* 2018; 27(4):714-39. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.03.004. Erratum in: *Cell Metab.* 2019; 29(2): 501.
- **Cuéllar Rodríguez S.** Nusinersen (Spinraza®) en atrofia muscular espinal 5q. *Panorama Actual Med* 2018; 42(412): 317-21.
- **Damase TR, Sukhovshin R, Boada C, Taraballi F, Pettigrew RI, Cooke JP.** The Limitless Future of RNA Therapeutics. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021; 9: 628137. DOI: 10.3389/fbioe.2021.628137.
- **De Keersmaecker B, Claerhout S, Carrasco J, Bar I, Corthals J, Wilgenhof S et al.** TriMix and tumor antigen mRNA electroporated dendritic cell vaccination plus ipilimumab: link between T-cell activation and clinical responses in advanced melanoma. *J Immunother Cancer.* 2020; 8(1): e000329. DOI: 10.1136/jitc-2019-000329.
- **Drury RE, O'Connor D, Pollard AJ.** The Clinical Application of MicroRNAs in Infectious Disease. *Front Immunol.* 2017; 8: 1182. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01182.
- **Dwivedi S, Purohit P, Mittal Y, Gupta G, Goel A, Verma RC et al.** Chapter 22 - Genetic Engineering: Towards Gene Therapy and Molecular Medicine. En: *Omic Technologies and Bio-Engineering.* Academic Press. 2018; pp. 507-532. DOI: 10.1016/B978-0-12-804659-3.00022-1.
- **Essink B, Chu L, Seger W, Barranco E, Le Cam N, Bennett H et al.** The safety and immunogenicity of two Zika virus mRNA vaccine candidates in healthy flavivirus baseline seropositive and seronegative adults: the results of two randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 1 clinical trials. *Lancet Infect Dis.* 2023; 23(5): 621-33. DOI: 10.1016/S1473-3099(22)00764-2.
- **European Medicines Agency (EMA).** Leqvio®. European Public Assessment Report (EPAR). 2021. EMA/696912/2020. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/leqvio-epar-public-assessment-report_en.pdf.
- **European Medicines Agency (EMA).** Onpattro®. European Public Assessment Report (EPAR). 2018. EMA/554262/2018. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/onpattro-epar-public-assessment-report.pdf>.
- **Feng R, Patil S, Zhao X, Miao Z, Qian A.** RNA Therapeutics - Research and Clinical Advancements. *Front Mol Biosci.* 2021; 8: 710738. DOI: 10.3389/fmolb.2021.710738.
- **Fernández Moriano C.** Inotersén (Tegsedí®) y patisiran (Onpattro®) en amiloidosis hereditaria por transtiretina. *Panorama Actual Med.* 2020; 44(434): 648-61.
- **Fernández Moriano C.** Vacunas de ARNm (Comirnaty® y COVID-19 Vaccine Moderna®) en prevención de COVID-19. *Panorama Actual Med.* 2021; 45(440): 38-48.
- **Fernández Moriano C.** Volanersorsén (Waylivra®) en síndrome de quilomicronemia familiar. *Panorama Actual Med.* 2022; 46(454): 783-90.
- **Guelman S, Zhou Y, Brady A, Peng K.** A Fit-for-Purpose Method to Measure Circulating Levels of the mRNA

- Component of a Liposomal-Formulated Individualized Neoantigen-Specific Therapy for Cancer. *AAPS J.* 2022; 24(3): 64. DOI: 10.1208/s12248-022-00709-x.
- **Hernández-Jiménez M, Abad-Santos F, Cotgreave I, Gallego J, Jilma B, Flores A et al.** Safety and Efficacy of ApTOLL in Patients With Ischemic Stroke Undergoing Endovascular Treatment: A Phase 1/2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 2023; e231660. DOI: 10.1001/jamaneurol.2023.1660.
 - **Kim YK.** RNA therapy: rich history, various applications and unlimited future prospects. *Exp Mol Med.* 2022; 54(4): 455-65. DOI: 10.1038/s12276-022-00757-5.
 - **Lam JK, Chow MY, Zhang Y, Leung SW.** siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2015; 4(9): e252. DOI: 10.1038/mtna.2015.23.
 - **Maeder ML, Stefanidakis M, Wilson CJ, Baral R, Barrera LA, Bounoutas GS et al.** Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10. *Nat Med.* 2019; 25(2): 229-33. DOI: 10.1038/s41591-018-0327-9.
 - **Michael M, Groothoff JW, Shasha-Lavsky H, Lieske JC, Frishberg Y, Simkova E et al.** Lumasiran for Advanced Primary Hyperoxaluria Type 1: Phase 3 ILLUMINATE-C Trial. *Am J Kidney Dis.* 2023; 81(2): 145-55.e1. DOI: 10.1053/j.ajkd.2022.05.012.
 - **Ministerio de Sanidad.** COMIRNATY 30 µg/dosis (Vacuna COVID-19 ARNm, Pfizer-BioNTech. Guía técnica. 2022a. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevenccion/vacunaciones/covid19/Guias_Tecnicas/docs/Guia_Tecnica_COMIRNATY.pdf.
 - **Ministerio de Sanidad.** SPIKEVAX (Vacuna COVID-19 ARNm, Moderna). Guía técnica. 2022b. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevenccion/vacunaciones/covid19/Guias_Tecnicas/docs/Guia_Tecnica_vacuna_Moderna.pdf.
 - **Mitsuyasu RT, Merigan TC, Carr A, Zack JA, Winters MA, Workman C et al.** Phase 2 gene therapy trial of an anti-HIV ribozyme in autologous CD34+ cells. *Nat Med.* 2009; 15(3): 285-92. DOI: 10.1038/nm.1932.
 - **Morelli KH, Wu Q, Gosztyla ML, Liu H, Yao M, Zhang C et al.** An RNA-targeting CRISPR-Cas13d system alleviates disease-related phenotypes in Huntington's disease models. *Nat Neurosci.* 2023; 26(1): 27-38. DOI: 10.1038/s41593-022-01207-1.
 - **Pane M, Coratti G, Pera MC, Sansone VA, Messina S, d'Amico A et al.** Nusinersen efficacy data for 24-month in type 2 and 3 spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2022; 9(3): 404-9. DOI: 10.1002/acn3.51514.
 - **Richner JM, Himansu S, Dowd KA, Butler SL, Salazar V, Fox JM et al.** Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell.* 2017; 168(6): 1114-25.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.017.
 - **Rojas LA, Sethna Z, Soares KC, Olcese C, Pang N, Patterson E et al.** Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer. *Nature.* 2023; 618(7963): 144-50. DOI: 10.1038/s41586-023-06063-y.
 - **Rubel D, Boulanger J, Craciun F, Xu EY, Zhang Y, Phillips L et al.** Anti-microRNA-21 Therapy on Top of ACE Inhibition Delays Renal Failure in Alport Syndrome Mouse Models. *Cells.* 2022; 11(4): 594. DOI: 10.3390/cells11040594.
 - **Thiviyanathan V, Gorenstein DG.** Aptamers and the next generation of diagnostic reagents. *Proteomics Clin Appl.* 2012; 6(11-12): 563-73. DOI: 10.1002/prca.201200042.
 - **Traber GM, Yu AM.** RNAi-Based Therapeutics and Novel RNA Bioengineering Technologies. *J Pharmacol Exp Ther.* 2023; 384(1): 133-54. DOI: 10.1124/jpet.122.001234.
 - **Ventura P, Bonkovsky HL, Gouya L, Aguilera-Peiró P, Montgomery Bissell D, Stein PE et al.** Efficacy and safety of givosiran for acute hepatic porphyria: 24-month interim analysis of the randomized phase 3 ENVISION study. *Liver Int.* 2022; 42(1): 161-72. DOI: 10.1111/liv.15090.
 - **Weaver RF,** Ed. *Molecular biology.* 2012. 5ª edición. Nueva York: McGraw-Hill.
 - **Zhang C, Zhang B.** RNA therapeutics: updates and future potential. *Sci China Life Sci.* 2023; 66(1): 12-30. DOI: 10.1007/s11427-022-2171-2.
 - **Zhu Y, Zhu L, Wang X, Jin H.** RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. *Cell Death Dis.* 2022; 13(7): 644. DOI: 10.1038/s41419-022-05075-2.