

Colaboración en el desarrollo de oligonucleótidos terapéuticos: la red COST “DARTER”

Andrea López Martínez¹, Virginia Arechavala-Gomez^{1,2}.

¹ Neuromuscular Disorders, Biocruces Bizkaia Health Research Institute, Barakaldo, España.

² Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao, España.

LA LLEGADA DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS TERAPÉUTICOS

Cuando se habla del “diseño” de nuevos fármacos, pocos medicamentos se ajustan más a este concepto que los oligonucleótidos terapéuticos (ONs). Aunque muy pocos de este nuevo tipo de medicamentos hayan llegado a ser aprobados hasta el momento, la mayoría lo han hecho en los últimos años y el número en desarrollo aumenta cada año (*Tabla 1*). Otro factor importante es que, aunque hasta ahora se consideraban fundamentalmente opciones de tratamiento de enfermedades poco frecuentes, comienzan a considerarse para tratar desórdenes habituales, con lo que pronto dejarán de ser el objeto del trabajo de algunas

pequeñas empresas biotecnológicas para ser parte del porfolio de grandes empresas farmacéuticas.

Los ONs son pequeños fragmentos de ácido nucleico (DNA o RNA), capaces de unirse específicamente al RNA y modular su función. Esta capacidad abre la posibilidad de utilizarlos como medicamentos por medio de diversos mecanismos de acción. Estos mecanismos se pueden resumir en los descritos en la *Figura 1*: (1) *gapmers*, que degradan el mRNA por un mecanismo mediado por RNasa H, (2) aptámeros, que interactúan con proteínas valiéndose de la conformación 3D del oligonucleótido, (3) los oligonucleótidos antisentido (ASOs) que pueden actuar por

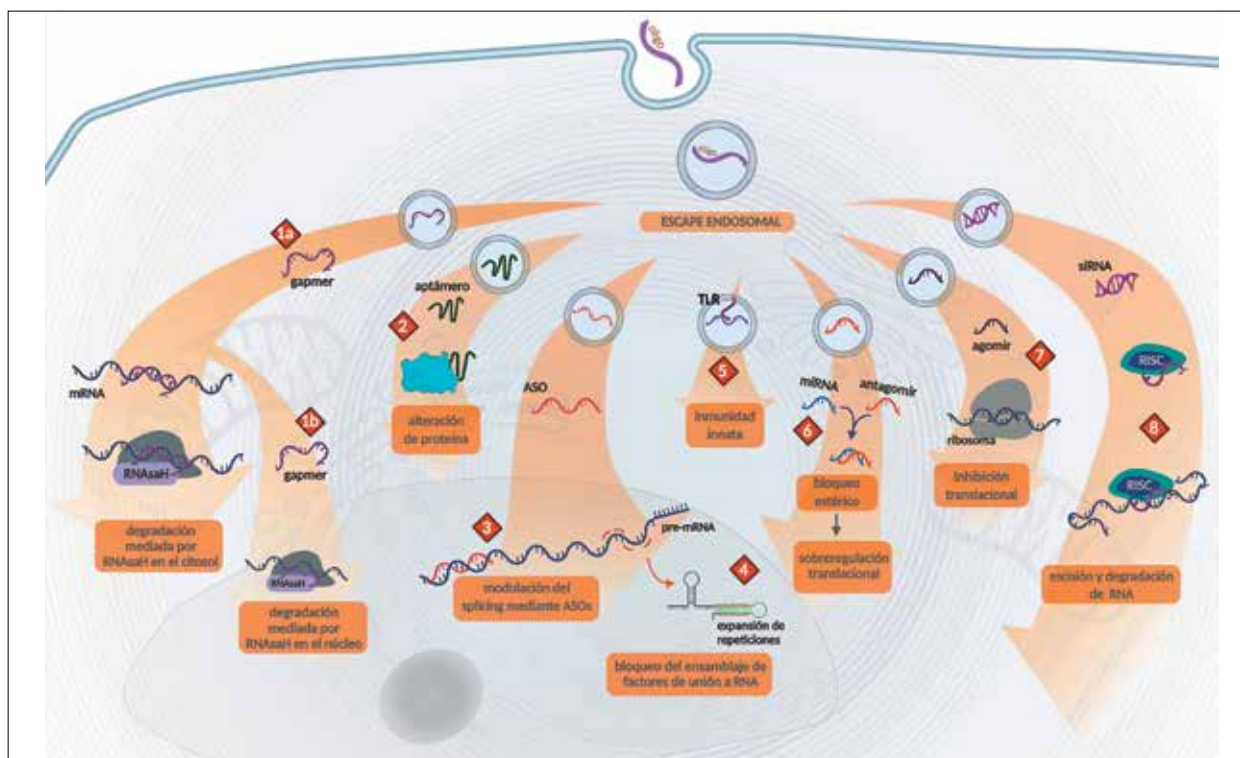


Figura 1

Mecanismos de acción y tipos de oligonucleótidos terapéuticos (ONs). Figura creada con *Biorender*.

AÑO	AGENCIA	MEDICAMENTO	PATOLOGÍA	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
1988	FDA	Fomivirsen (Vitravene®)	Retinitis por citomegalovirus	Intravítrea
2004	FDA	Pegabtanib (Macugen®)	Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)	Intravítrea
2013	FDA	Mipomersen (Kynamro®)	Hipercolesterolemia familiar homocigótica	Subcutánea
2016	FDA	Eteplirsen (Exondys 51®)	Distrofia muscular de Duchenne (DMD)	Infusión intravenosa
2018	FDA / EMA	Nurinersen (Spinraza®)	Atrofia muscular espinal (AME) o enfermedad de la neurona motora	Intratecal
	FDA / EMA	Inotersen (Tegsedi®)	Amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina (AhTTR)	Subcutánea
	FDA	Patisiran (Onpattro®)	Amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina (AhTTR)	Intravenosa
2019	FDA	Golodirsen (Vyondys 53™)	Distrofia muscular de Duchenne (DMD)	Infusión intravenosa
	EMA / FDA	Givosiran (Givlaari®)	Porfiria hepática aguda	Subcutánea
	FDA	Milasen	Batten's disease	Intratecal
	EMA	Volanesorsen (Waylivra®)	Hiperlipoproteinemia tipo I	Subcutánea
2020	FDA / PMDA	Viltolarsen (Viltepso®)	Distrofia muscular de Duchenne (DMD)	Infusión intravenosa
	EMA / FDA	Lumasiran (Oxlumo®)	Hiperooxaluria primaria	Subcutánea
	EMA	Inclisiran (Leqvio®)	Hipercolesterolemia primaria/Dislipemia mixta	Subcutánea
2021	FDA	Casimersen (Amondys 45™)	Distrofia muscular de Duchenne (DMD)	Infusión intravenosa

Tabla 1

Listado de oligonucleótidos aprobados por la FDA y la EMA (Noviembre 2021).

el bloqueo estérico para modular el splicing nuclear o (4) bloquear el ensamblaje que factores de unión al RNA (5) oligonucleótidos con grupos CpG no metilados que activan la inmunidad innata activada por TLR, (6) microRNA y antagomirs, que pueden actuar por bloqueo estérico y sobreexpresión translocacional (7) agomirs que inhiben la traslación, y (8) por último los siRNA, RNAs de interferencia que actúan por medio de la degradación por el RISC.

LA DISTRIBUCIÓN AL TEJIDO DIANA: EL GRAN OBSTÁCULO DE LOS ONS

Aunque los ONS tienen un tamaño mucho menor que los compuestos de terapia o edición génica, son mucho más grandes que las llamadas “small molecules”.

Además, sus características químicas definen sus posibilidades para atravesar las diferentes barreras celulares y ser capaces de abandonar los endosomas para acceder a los compartimentos celulares en los que han de ejercitar su acción (*Figura 1*). Tras algunas grandes decepciones (ONS para salto del exón en distrofias musculares) y otras grandes alegrías en el desarrollo de este tipo de terapias (tratamiento de atrofia muscular espinal o de la amiloidosis mediada por transtiretina), es cada vez más evidente que en la mayoría de los casos resolver el problema de la distribución es vital para el éxito de estos compuestos: sólo en algunos casos es posible su uso de manera nativa, cuando es posible una administración “local” (en la retina o en el SNC, mediante inyección intratecal o intraven- >>>

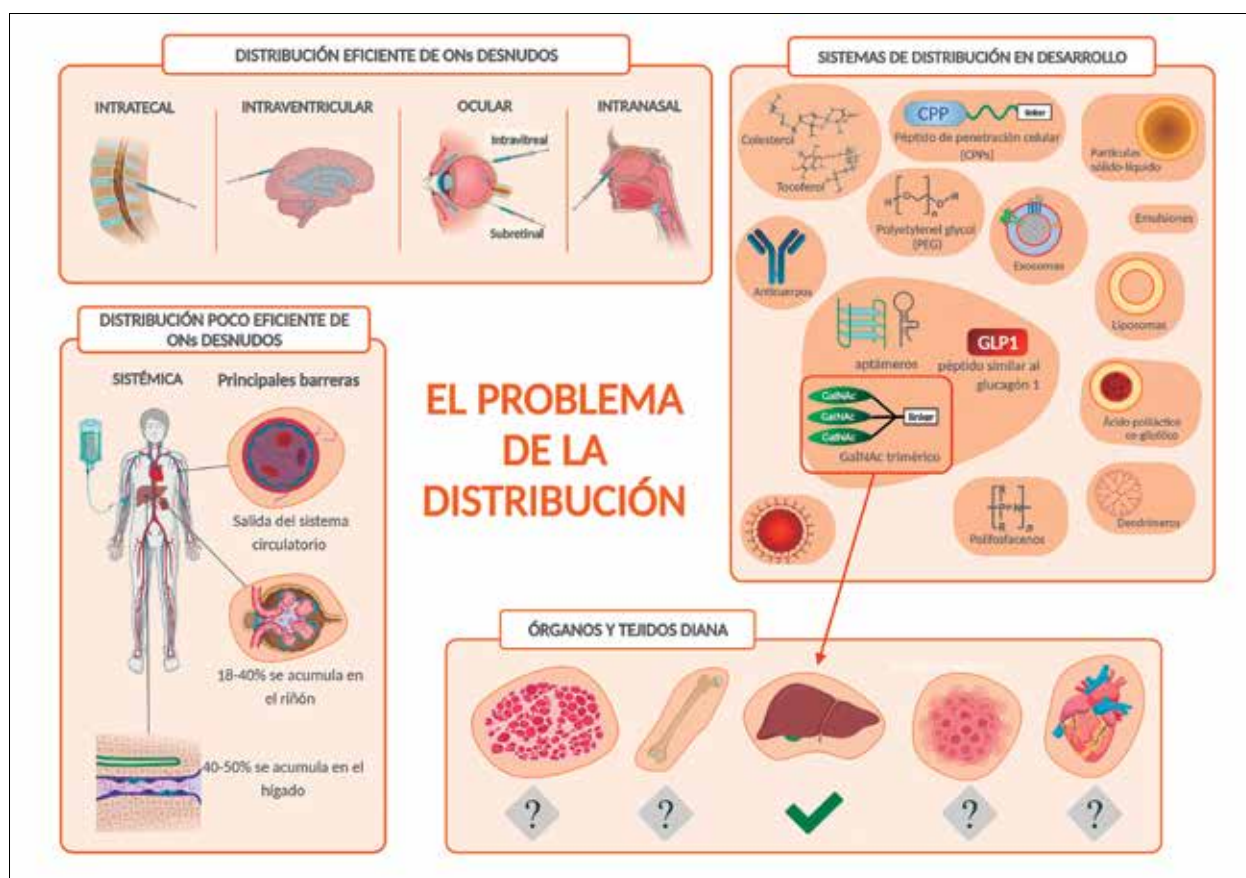


Figura 2
Resumen de las estrategias y problemas en los sistemas de distribución de ONs. Figura creada con *Biorender*.

>>> tricular), como indica en la *Figura 2*. Sin embargo, para la mayoría de los tejidos esta no es una opción factible y por ello se han de desarrollar distintos vehículos y formulaciones que permitan atravesar estas barreras. Un caso de éxito es la combinación de los ONs con GalNAC: esta conjugación aumenta su paso a los hepatocitos de tal manera que ha permitido un giro de 180 grados en el desarrollo de nuevas terapias dirigidas a los hepatocitos. Mientras tanto, investigadores interesados en alcanzar otros tejidos “poco accesibles” como el tejido cardíaco, el músculo esquelético, el hueso o tumores trabajan para encontrar soluciones similares para estas otras dianas (*Figura 2*).

LAS REDES DE COLABORACIÓN EN EL DESARROLLO DE TERAPIAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS

La colaboración ha sido una constante en el desarrollo de estas terapias de oligonucleótidos. De entre las muchas redes existentes, destacamos las acciones COST (*European Cooperation in Science and Technology*). La unión europea financia a través de las redes COST (conocidas como “Acciones COST”) actividades como la organización de congresos, las estancias

en otros laboratorios y cursos de formación a investigadores. COST hace públicas nuevas redes dos veces al año para invitar a la participación de cualquier investigador interesado, sin ser necesario ser parte del grupo que haya propuesto la red, e incentiva particularmente la participación de miembros de algunos países europeos, mujeres e investigadores jóvenes (<https://www.cost.eu/>).

Dos redes COST se han dedicado al desarrollo de ONs terapéuticos (www.exonskipping.eu 2013–2017 y www.antisenserna.eu 2018–2022). Esta última, conocida como “DARTER” engloba tanto a investigadores con conocimientos en enfermedades específicas, como en química de los ONs o métodos de distribución de fármacos y provenientes de grupos académicos, clínicos, de industria farmacéutica e incluso pacientes (*Figura 3*). Su objetivo es avanzar en la mejora de la distribución de los ONs por medio del consenso, la publicación de protocolos comunes, la formación de investigadores en las técnicas y metodologías más adecuadas y compartiendo los resultados obtenidos, incluyendo los resultados “negativos” para evitar duplicar esfuerzos en vano.

GRUPOS DE TRABAJO DE LA RED DARTER

La red “DARTER” se organiza en cuatro grupos de trabajo (Figura 3) definidos según su objetivo específico dentro de la red. El primer grupo de trabajo se centra en las estrategias de distribución al tejido diana, tanto por medio de diversas formulaciones (como pueden ser las nanopartículas lipídicas) como conjugando los ONs con distintas moléculas que mejoren las características ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) de los ONs. Su objetivo es crear consenso e identificar las áreas de conocimiento que requieren de mayor investigación y alinear los esfuerzos para optimizar la llegada de estos compuestos al tejido diana. Gracias a varias reuniones de trabajo y de la puesta en común de la experiencia de los miembros de la red, se ha publicado recientemente una revisión que refleja el estado del arte actual.

El segundo grupo de trabajo se encarga de examinar los modelos celulares o animales utilizados para la evaluación de la eficiencia de los ONs y de sus versiones formuladas o conjugadas. Su objetivo es evaluar la adecuación de cada modelo para realizar estudios de distribución y toxicidad de los ONs y sus vehículos, así como proponer protocolos consensuados para estas evaluaciones. Fruto de su trabajo, pronto se publicará un libro de métodos para facilitar el trabajo de investigación de nuevos grupos en esta área y se preparan publicaciones describiendo la metodología más utilizada para este estudio, tanto en modelos celulares como animales.

El tercer grupo está centrado en la evaluación de seguridad y toxicología de los ONs en sus versiones formuladas y conjugadas. Su objetivo es definir y poner en consenso las estrategias de formulación no sólo más eficaces sino también menos tóxicas. El grupo espera publicar una serie de criterios consensuados para tener en cuenta desde los estadios iniciales del desarrollo preclínico de los ONs, para poder identificar posibles efectos tóxicos lo antes posible en el desarrollo clínico de estos compuestos.

Por último, el cuarto grupo de trabajo se centra en la diseminación y comunicación entre los diferentes grupos de participantes para favorecer al máximo las oportunidades de trabajar en conjunto.

A lo largo del año se realizan diversas reuniones, congresos o cursos de formación para la presentar el trabajo realizado por parte de los distintos grupos de trabajo, así como para la formación de los participantes en distintos temas relevantes para la red. Debido a la situación excepcional surgida a debido a la pandemia de la Covid-19, las reuniones presenciales se han reducido a encuentros *online* y nuevas estrategias de comunicación entre participantes. A lo largo de los años 2020 y 2021 se han realizado reuniones y cursos *online* que han tenido muy buena acogida entre los participantes. Además, en marzo de 2021 se iniciaron una serie de seminarios mensuales de presentación de datos de investigación. Estos seminarios, coordinados por investigadores jóvenes de la red, fomentan la interacción entre participantes de distintos rangos y ramas dentro de la investigación de ONs. >>>

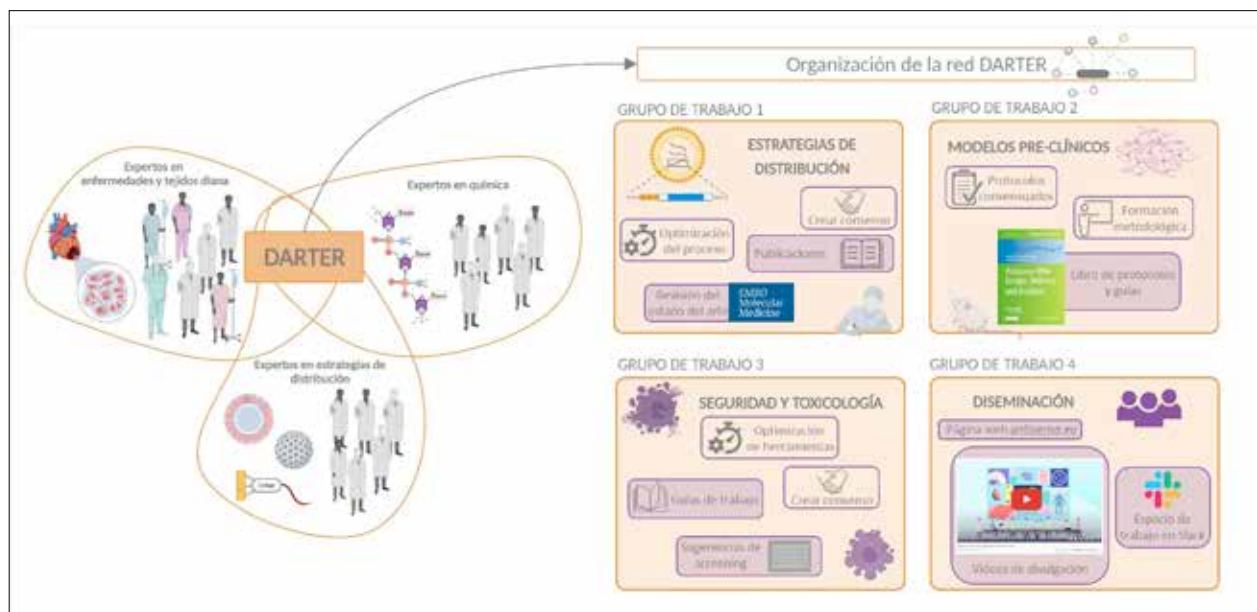


Figura 3

Organización de la red DARTER. Perfiles participantes y objetivos y tareas de los grupos de trabajo. Figura creada con *Biorender*.



»» Tanto en los seminarios como en los congresos organizados por la red, se potencia la comunicación de los mal llamados “resultados negativos”: aquellos en que no es posible reproducir algo ya publicado o los resultados no corroboran la hipótesis planteada. La idea de que compartir estos resultados es necesario para el buen avance científico es parte integral de la red y es un punto que la define. Por ello, no sólo se anima a que los miembros compartan esos resultados dentro de la red, si no que se les aconseja sobre cómo publicar estos resultados en revistas científicas: miembros de la red han editado y participado recientemente en un número especial de la revista *Nucleic Acids Therapeutics* dedicado exclusivamente a resultados negativos, en el que se han publicado artículos con resultados inconcluyentes o que no han tenido éxito.

En DARTER también se fomentan las colaboraciones con otros grupos y/o campos de conocimiento tanto intra-nacionales como internacionales y para ello COST ofrece financiación para la movilidad de personal dentro de la red en forma de estancias cortas, conocidas como Short Term Scientific Missions (STSMs), que permiten ir a aprender nuevas técnicas o realizar experimentos específicos durante un tiempo mínimo de una semana y máximo de seis meses en laboratorios de otros países. Estas visitas han sido en muchos casos el germen de colaboraciones que van más allá de las propuestas inicialmente. Es destacable, además, que pese a no ser posible financiar estas estancias entre grupos del mismo país, las actividades que se organizan hacen posible que también se potencien las colaboraciones entre grupos de investigación de un mismo país.

El creciente interés en las terapias de oligonucleótidos ha hecho que la red DARTER, que inicialmente incluía fundamentalmente a investigadores en enfermedades raras, químicos especialistas en ácidos nucleicos

y algunos pocos expertos en su distribución, sea ahora una extensa red de más de 380 investigadores de 31 países distintos con un objetivo común. Pese a que su periodo oficial termina en octubre del año 2022, el trabajo generado por la red será de utilidad mucho más allá de esta fecha y las colaboraciones establecidas han de ser un motor en el desarrollo clínico de muchas de estas nuevas terapias, que se postulan ya mucho más allá de las enfermedades raras que inicialmente impulsaron su desarrollo. ■

PARA LEER MÁS

- Arechavala-Gomez V, Aartsma-Rus A (2021). “Sharing “Negative” Results in Neuromuscular Research: A Positive Experience”. *J Neuromuscul Dis* 8(5): 765-7.
- Desviat LR, Mallebrera CJ, Vallejo-Illarramendi A, Mayan MD, Nogales-Gadea G, Arechavala-Gomez V (2019). “COST Actions: fostering collaborative research for rare diseases”; *Lancet Neurol* 18(11): 989-91.
- Echevarria L, Malerba A, Arechavala-Gomez V (2020). “Researcher’s Perceptions on Publishing “Negative” Results and Open Access”. *Nucleic Acid Ther*.
- Eilers W, Denti MA (2021). “Delivery of Antisense RNA Therapeutics: Turning Negative Results Into a Positive Development”. *Nucleic Acid Ther* 31(3): 183-4.
- Godfrey C, Desviat LR, Smedsrod B, Pietri-Rouxel F, Denti MA, Disterer P, Lorain S, Nogales-Gadea G, Sardone V, Anwar R, El Andaloussi S, Lehto T, Khoo B, Brolin C, van Roon-Mom WM, Goyenvalle A, Aartsma-Rus A, Arechavala-Gomez V (2017). “Delivery is key: lessons learnt from developing splice-switching antisense therapies”. *EMBO Mol Med* 9(5): 545-57.
- Hammond SM, Aartsma-Rus A, Alves S, Borgos SE, Buijssen RAM, Collin RWJ, Covello G, Denti MA, Desviat LR, Echevarria L, Foged C, Gaina G, Garanto A, Goyenvalle AT, Guzowska M, Holodnuka I, Jones DR, Krause S, Lehto T, Montolio M, Van Roon-Mom W, Arechavala-Gomez V (2021). “Delivery of oligonucleotide-based therapeutics: challenges and opportunities”. *EMBO Mol Med* 13(4): e13243.