

farmacología Cardiovascular 58

Publicación independiente de Farmacología y Fisiopatología cardiovascular aplicada | AÑO 19 | N° 58 | SEGUNDA ETAPA | SEPTIEMBRE DE 2023

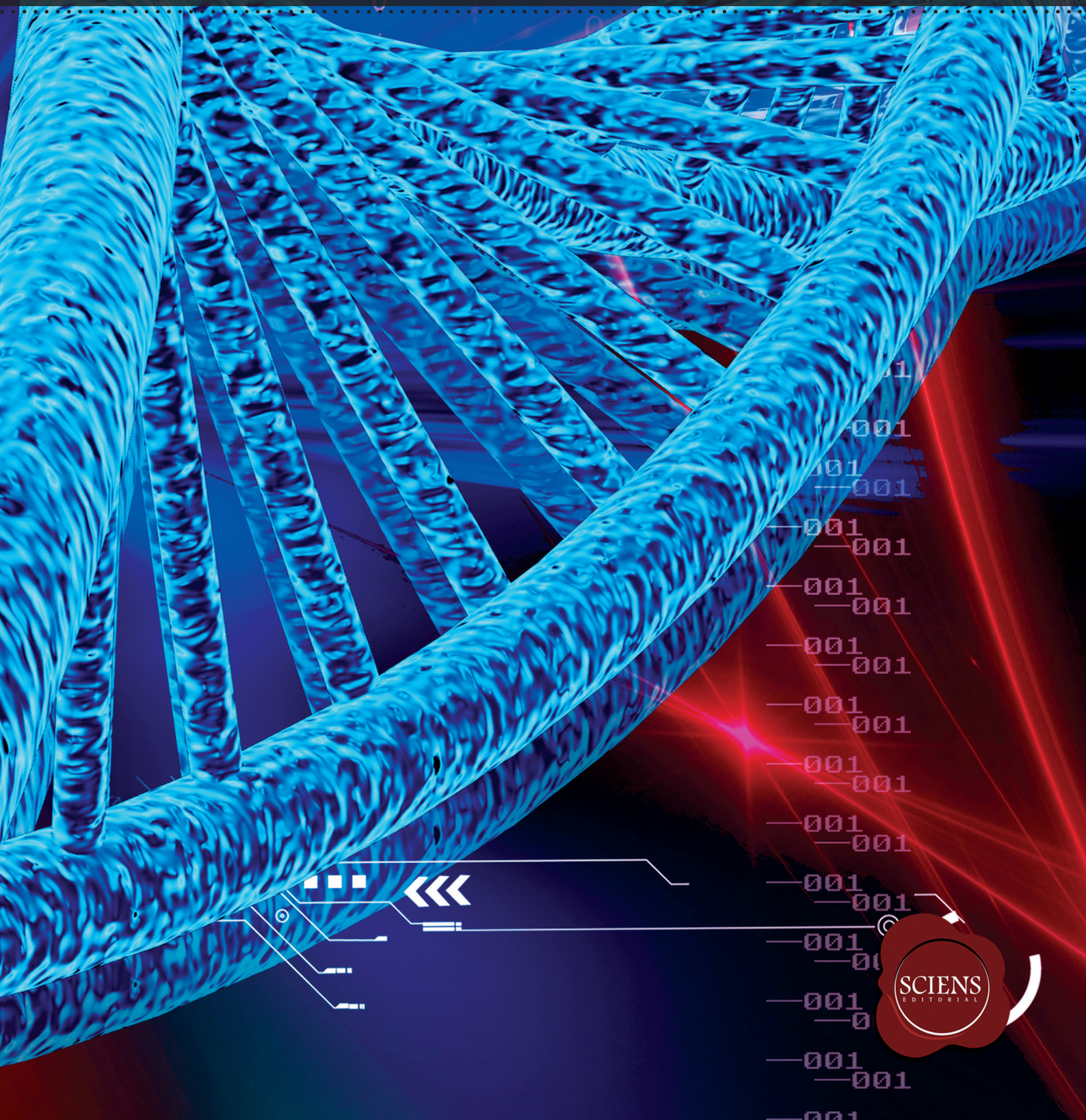
ISSN 2344-9799

Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular Parte 1: farmacología básica

Juan J. Sterba, Sol Song, Agustina Piccinato, Ornella Robino,
María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel

Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular. Parte 2: Usos actuales y futuros en enfermedades cardiometabólicas

Sol Song, Juan J. Sterba, Agustina Piccinato, Ornella Robino,
María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel



SCIENS
EDITORIAL

Farmacología Cardiovascular

Publicación independiente de Farmacología
y Fisiopatología cardiovascular aplicada.

Editorial Sciens

Av. García del Río 2585 - Piso 12 - Dto. A - CABA (C1429DEB)
Tel/Fax. (54 11) 2092 1646
www.sciens.com.ar - info@sciens.com.ar

Director

Luis María Zieher (†)

Director Asociado

Pablo Terrens

Editores

Pedro Forcada
Héctor Alejandro Serra
Ernesto Miguel Ylarri
Ezequiel José Zaidel

Sumario

Artículos y revisiones

4 | Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular. Parte 1: farmacología básica

Juan J. Sterba, Sol Song, Agustina Piccinato, Ornella Robino, María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel

A medida que han avanzado el conocimiento del código genético humano, se han intentado desarrollar fármacos que lo modulen. En esta serie de dos artículos, se revisan la farmacología básica y aplicada a las enfermedades cardiovasculares de los fármacos recientemente descubiertos que tienen como sitio diana al ARN.

10 | Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular. Parte 2: Usos actuales y futuros en enfermedades cardiometabólicas

Sol Song, Juan J. Sterba, Agustina Piccinato, Ornella Robino, María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel

En este artículo se revisa la farmacología aplicada de las terapias dirigidas al ARN útiles para el tratamiento de diversas enfermedades cardiometabólicas, entre ellas las dislipidemias, la hipertensión y la amiloidosis. Se describe la farmacología básica y el resultado de los ensayos clínicos.

Esta publicación es realizada por docentes, investigadores y médicos asistenciales especializados en Farmacología, Fisiopatología y Clínica Cardiovascular, quienes publican sus trabajos de revisión o investigación en carácter individual e independiente.

El material publicado (trabajos, cartas al lector, comentarios) en la revista **Farmacología Cardiovascular**, representan la opinión de sus autores; y no reflejan necesariamente la opinión de la Dirección o de la Editorial de la revista.

La mención de determinadas entidades comerciales, productos o servicios en esta publicación no implica que el Director o la Editorial de la revista los aprueben o los recomienden, deslindando cualquier responsabilidad al respecto y sobre los contenidos de los anuncios de productos y servicios.

Registro de propiedad intelectual N° 5236446. Impreso en Artes Gráficas del Sur, Av. Australia 2924 - CABA - Argentina.

Diseño de tapa e interior DCV Leandro Otero. La revista **Farmacología Cardiovascular** es propiedad de Sciens SRL. ISSN 2344-9799.

Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular

Parte 1: farmacología básica

Juan J. Sterba, Sol Song, Agustina Piccinato, Ornella Robino, María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel

Grupo de investigación en farmacología cardiovascular, Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Resumen

A medida que han avanzado el conocimiento del código genético humano, se han intentado desarrollar fármacos que lo modulen. En esta serie de dos artículos, se revisan la farmacología básica y aplicada a las enfermedades cardiovasculares de los fármacos recientemente descubiertos que tienen como sitio diana al ARN.

Palabras clave

Enfermedad cardiovascular – Ácido ribonucleico – Oligonucleótidos antisentido – ARN pequeño de interferencia – Terapia génica – N-acetilgalactosamina.

Introducción

Las drogas cuyo blanco es el ARN (RNA *targeted drugs*, RTDs por sus siglas en inglés) son un tipo de terapia génica que permite el diseño de fármacos que pueden alterar la expresión de proteínas celulares, útiles para el tratamiento de una gran cantidad de enfermedades. Si bien los primeros desarrollos datan desde hace más de 20 años, es en los últimos tiempos en donde han tenido un resurgimiento en su relevancia, con fármacos como el Mipomersen y el Nusinersen. En el ámbito de la farmacología cardiovascular, se encuentran disponibles o en desarrollo más de una decena de RTDs, para el tratamiento de diversas patologías desde la Hipercolesterolemia hasta la amiloidosis cardíaca.

De una forma similar a los anticuerpos monoclonales, las RTDs comparten un mecanismo de acción general, con diferencias en los efectos farmacológicos según la diana a la cual estén dirigidos. Estas drogas interactúan con el ADN o el ARNm celular y modifican la síntesis de proteínas. Dentro de esta familia de fármacos, encontramos dos subgrupos importantes: los Oligonucleótidos Antisentido (ASO, *antisense oligonucleotides*) y los ARN pequeños de interferencia (siRNA *small interfering RNA*).

A continuación se describirán los aspectos farmacológicos generales.

Estructura y Mecanismo de Acción de los ASOs/siRNA

En líneas generales, las RTDs se valen de la interacción entre cadenas sintéticas de oligonucleótidos y cadenas de ARN celulares, para generar sus acciones. Estas drogas pueden ser divididas en dos grupos según su estructura, por un lado, los oligonucleótidos antisentido (ASOs, Antisense Oligonucleotides), que son cadenas de una sola hebra de oligonucleótidos que se unen a hebras de ARN complementarias a su secuencia, y por otro lado los ARN de interferencia pequeños (siRNA, small interfering RNA), cadena de dos hebras conformada por oligonucleótidos que utilizan la enzima AGO2.

Ambos grupos tienen como fin alterar el fenotipo de la enfermedad mediante la degradación selectiva de un ARN diana, llevando a la disminución de la síntesis de proteínas implicadas en ciertas patologías.

Partiendo de una proteína que participe en una determinada enfermedad, se busca la secuencia de ARNm que la codifica, luego se sintetiza en el laboratorio una secuencia complementaria (antisentido) a la misma, la cual es administrada e ingresa a las células, donde se une a su ARNm. Este ARN no puede ser traducido hacia una proteína y así se logra interferir en el curso de la enfermedad.

Sentido y antisentido hacen referencia a la polaridad de una cadena de nucleótidos. La cadena sentido (codificante o positiva) es aquella que tiene la secuencia de nucleótidos que, al ser leída por los ribosomas, codifica para una proteína. Por otro lado, la cadena antisentido presenta una secuencia de nucleótidos contraria (no codificante o negativa) a la cadena codificante. Por apareamiento de bases, ambas cadenas pueden unirse formando una doble hebra. Tanto los ASOs como los siRNA están formados por cadenas antisentido que de una forma u otra interactúan con las hebras codificantes del material genético de la célula. Otro concepto importante es el de oligonucleótido, el cual hace referencia a una cadena de nucleótidos menor a las 50 bases nitrogenadas de largo. Tanto los oligonucleótidos antisentido como los ARN de interferencia pequeños son, en esencia, oligonucleótidos. En la tabla 1 se describen las características de estas moléculas.

Los ASOs se encuentran constituidos por cadenas de nucleótidos simples (de una sola hebra) unidos mediante enlaces fosodiéster que forman una columna o *backbone*. La longitud aproximada de estas cadenas es de entre 15 y 20 nucleótidos. Por otro lado, los siRNA están formados por dos cadenas de nucleótidos: una cadena antisentido “guía” y una hebra “pasajera” que actúa como un transportador de la anterior. Tienen una longitud de entre 19 y 22 pares de bases y un peso mayor a los ASOs.

La estructura de estos fármacos tiene implicancias impor-

tantes no sólo para su mecanismo de acción, sino también para su farmacocinética y efectos adversos. Por ejemplo, las cadenas más largas corren el riesgo de ser detectadas por el sistema inmunológico y disparar respuestas celulares como si de un virus se tratase. La modificación de los grupos fosfato (PO), los azúcares y la conjugación con monosacáridos (ver más adelante) son estrategias muy utilizadas para modificar la farmacodinamia y farmacocinética de estas drogas.

Según su estructura, los diferentes fármacos antisentido se clasifican en generaciones. La primera generación se caracteriza por la modificación en los grupos fosfato de la columna. La segunda generación abarca los fármacos que tienen grupos alquilo en sus nucleótidos. La tercera generación se compone de los oligonucleótidos más estables y más efectivos (*in vitro*), se caracterizan por presentar otras modificaciones químicas que mejoran sus propiedades farmacodinámicas principalmente.

Hablando específicamente de los mecanismos de acción que pueden ser utilizados por los RTDs, encontramos dos caminos principales: Degradación mediada por ocupación y mecanismos sólo de ocupación. En la degradación mediada por ocupación, luego de la unión de los RTDs al ARN diana se produce una degradación enzimática del ARN. Este mecanismo es utilizado tanto por los ASOs como por los siRNA. Las principales enzimas implicadas son la Ribonucleasa H1 (principalmente para los ASOs, y Argonaute 2 (principalmente para los siRNA). La enzima RNasa H1 es una endonucleasa (corta los enlaces interiores de la cadena de ácidos nucleicos) que pertenece a la familia de las ribonucleasas H, su función en las células es regular la expresión de distintos ARNm tomando como molde secuencias de ADN. En el caso de los ASOs, el mecanismo de acción implica al siguiente proceso: El ASO ingresa a la célula y se encuentra con la RNasa H1, la enzima reconoce una secuencia de nucleótidos en el ASO y forman un complejo enzima-RTD, que localiza el ARN al cual está dirigida la terapia, la enzima reconoce la secuencia complementaria en el ARN mensajero, el cual es clivado en diferentes sectores por la RNasa H1 y se degrada, y finalmente la proteína codificada por el ARN mensajero no es sintetizada.

Argonaute 2 es una endonucleasa que reconoce duplas de ARN-ARN, y que se encuentra implicada en la respuesta celular contra los virus. Es una enzima que permite pocos cambios químicos en las cadenas del siRNA, lo que significa que su estructura tiene menos posibilidades de ser modificada. En el caso de los siRNA, el mecanismo de acción implica el siguiente proceso: El siRNA ingresa al citoplasma y es reconocido por Ago2, que procede a separar las hebras y permitir la degradación de la cadena “pasajera”. Luego, Ago2 forma un complejo llamado RISC con la cadena “guía”, que detecta el ARNm complementario a la cadena “guía” del siRNA. Ago2 procede a hidrolizar la cadena blanco de ARN, y el complejo RISC permanecerá activo por un tiempo prolongado, degradando más cadenas diana.

En los mecanismos solo de ocupación, la unión del RTD al ARN diana impide su traducción sin utilizar enzimas, gracias a lo que se conoce como bloqueo estérico en donde el RTD impide físicamente la acción de los ribosomas. Solamente los ASOs utilizan este mecanismo. El principal resultado del bloqueo estérico consiste en la detención de la traducción o la alteración de estructuras importantes dentro del ARNm que impiden el inicio de la traducción. De esta forma, al no ser traducido el ARNm diana, disminuye la expresión de la proteína que codifican.

Un dato importante es que también se pueden diseñar ASOs capaces de aumentar la síntesis de una proteína. Estos ASOs están dirigidos contra los microARN (mi-ARN), pequeñas secuencias de nucleótidos que la célula utiliza para degradar al ARNm y evitar su transcripción. Si se diseña un ASO capaz de bloquear a los mi-ARN, se logrará evitar su efecto represor, aumentando así la cantidad de proteínas que se traducen (*up-regulation*). Estaríamos “inhibiendo” a un “inhibidor”.

Farmacocinética

En líneas generales, tanto los siRNA como los ASOs presentan una muy baja biodisponibilidad oral, no penetran la barrera hematoencefálica (BHE), tienen unión a proteínas plasmáticas, utilizan mecanismos de ingreso a las células, se internalizan en endosomas y carecen de metabolismo por citocromos. La administración de estas drogas local se ve determinada por la patología para la cual fue diseñado el fármaco, siendo relevantes para las patologías sistémicas la utilización de las vías endovenosa (EV) y subcutánea (SC). Ambas presentan una buena biodisponibilidad (BD) pero la presencia de nucleasas en la piel puede disminuir levemente el porcentaje de fármaco absorbido en la vía subcutánea.

Un inconveniente fundamental en lo que respecta a las RTDs es garantizar las concentraciones necesarias en las células que expresan el ARN diana. Para mejorar este aspecto y permitir la llegada hacia órganos específicos, se utiliza la conjugación con distintas moléculas. Una de las más impor-

tantes es la N-acetilgalactosamina cuyo receptor se expresa de forma exclusiva en los hepatocitos. Abreviado como GalNac, este monosacárido se conjuga con los RTDs y permite su interacción con los receptores ASGPR-3 que se encuentran expresados en la superficie de estas células lo que determina su rápida endocitosis. Así, se logra mejorar de gran manera el perfil farmacocinético de estos fármacos. Según estudios, la conjugación con GalNac sería la responsable de una marcada disminución de la cantidad y gravedad de efectos adversos en comparación con RTDs no conjugados por su exposición sistémica. Se ha demostrado que, en drogas que tengan acción a nivel hepático, la conjugación con GalNac aumentaba hasta 30 veces la magnitud de la respuesta observada en los participantes a mismas dosis. Estos hallazgos permitieron elaborar esquemas de tratamiento con dosis considerablemente más bajas, lo que finalmente disminuye la exposición sistémica y por ende los efectos adversos, sin disminuir la efectividad.

Los ASOs presentan en su estructura regiones hidrofílicas correspondientes a los grupos PS (fosforotioato) e hidrofóbicas, correspondientes a las bases nitrogenadas. Es por ello que se comportan como moléculas anfipáticas. En lo que respecta a su administración, su estructura permite generar drogas que se administren por casi todas las vías: subcutánea, endovenosa, oral e inhalatoria. De todas formas, la administración oral cuenta con una baja biodisponibilidad y no parece ser una alternativa útil.

En ASOs que presenten grupos PS y una longitud mayor a 12 nucleótidos la distribución sigue un patrón similar: presentan unión a proteínas plasmáticas con una distribución amplia, acumulación en tejidos ricos en lípidos (hígado, riñón, tejido adiposo, médula ósea y bazo) y una vida media plasmática de 1-2 horas. La vida tisular ronda las 3-4 semanas y la administración en dosis altas permite saturar los depósitos, alcanzando semividas de hasta 6 meses en los tejidos. La conjugación con GalNac permite el envío preferencial al hepatocito, lugar casi exclusivo de expresión de su receptor, ASGPR-3. Al interactuar con su ligando, el receptor de GalNac permite la endocitosis del ASO. Esta modificación incrementa hasta 30 veces el efecto de la droga en comparación a las mismas

Tabla 1

Diferencias entre los dos grandes grupos de RTDs

Característica	Oligonucleótidos antisentido	ARN de interferencia pequeños
Estructura de cadena	Cadena simple: antisentido	Cadena doble: sentido y antisentido
Longitud y peso	15-20 pb, $\pm$ 7 KDa	19-22 pb, $\pm$ 14 KDa
Monómeros utilizados	Ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos	Ribonucleótidos
Mecanismo de acción	Degradación mediada por ocupación bloqueo estérico	Degradación mediada por ocupación

dosis sin conjugar. Siguiendo los pasos de la conjugación con GalNac, se están estudiando otras alternativas para el envío dirigido de estos fármacos.

El ingreso en las células está mediado por varios mecanismos de endocitosis como aquellos mediados por clatrina, caveolina y micropinocitosis. Una vez ingresan a la célula, se localizan en endosomas tempranos. Luego de la maduración hacia endosomas tardíos, los ASOs son liberados hacia el citoplasma o el núcleo para ejercer su efecto. El ingreso de estos fármacos al sistema nervioso central (SNC) es nulo, ya que su estructura no permite cruzar la barrera hematoencefálica (BHE).

La vida media tisular de los ASOs suele determinar la duración de acción de estos, eso explica la relevancia de los mecanismos que degradan a estas drogas. La hidrólisis mediante endonucleasas consiste en el metabolismo de estas sustancias como primer paso. Los fragmentos resultantes, carentes de función y más hidrosolubles, pueden ser degradados por exonucleasas o en algunos casos eliminados de la célula y excretados en orina. También en la orina pueden detectarse ASOs intactos. No parece ser necesario el ajuste de dosis en pacientes con disminución de la función renal. Al no presentar metabolismo mediante el citocromo P450, limita en gran medida las interacciones farmacológicas con otras drogas.

Los siRNA, a diferencia de los ASOs, poseen una estructura de doble cadena que permite la interacción entre sus regiones hidrofóbicas, exponiendo solamente las porciones hidrofílicas. A priori esto limita su administración a la vía endovenosa, previa formulación con lípidos catiónicos (como los presentes en vacunas de ARNm contra COVID-19). Sin embargo, la conjugación con GalNac permite su administración por vía subcutánea y reduce los efectos adversos relacionados con la inflamación generada por los lípidos catiónicos. El ingreso a las células sigue pasos similares a los ASOs. Estos fármacos tampoco ingresan a SNC. Los siRNA no conjugados ni formulados con lípidos tienden a ser rápidamente filtrados en el riñón y excretados por orina de forma inalterada. No parece ser necesario ajustar la dosis en pacientes con disminución de la función renal.

El metabolismo de los siRNA es compartido con el de los ASOs y su vida media tisular es de aproximadamente 3 semanas, pudiendo utilizar el mismo principio de saturación para alargarla. La duración de acción también es similar a la vida media tisular, aunque también puede variar según el tiempo que permanezca Ago2 cargada con el siRNA. Más allá de lo expuesto, algunos trabajos destacan que la duración de acción de un ASO y un siRNA dirigidos a la misma diana de ARN, es igual.

Efectos adversos e interacciones

El conocimiento respecto a sus efectos adversos (EAs) e interacciones se encuentra en continuo crecimiento. La mayor parte de los EA descritos parecen tener un componente inmunomediado y no depender del mecanismo de acción de las drogas, sino de su estructura química. No debemos olvidar las reacciones adversas locales en el sitio de inyección de formulaciones subcutáneas. Los ASOs que más se asocian a los efectos adversos locales son los que contienen grupos PS. Ellos también pueden presentar un incremento en la activación y agregación plaquetaria por interactuar con la glicoproteína IV. Además, la unión con otras proteínas puede llevar a la inhibición de la vía intrínseca de la coagulación. Por otro lado, los grupos PS pueden activar la vía alterna del complemento, con la consecuente cascada inflamatoria asociada.

Esta cascada inflamatoria es responsable de la aparición de glomerulonefritis y vasculitis, estudiados en modelos animales. En el caso de seres humanos, se ha demostrado que la presencia de enfermedad renal predispone para el desarrollo de glomerulonefritis posterior a la administración de ASOs. Sin embargo, en personas sanas, la aparición de glomerulonefritis es muy poco frecuente. Se ha propuesto que las concentraciones plasmáticas tienen un umbral para el desarrollo de este efecto adverso por lo que diseñar un protocolo de administración que no supere este umbral debería reducir el riesgo. La posibilidad de conjugar con GalNac a las RTDs destinadas al hígado parece ser una buena alternativa, ya que permite limitar la concentración máxima plasmática (Cmax) y

Tabla 2

Diferencias entre los dos grandes mecanismos de acción de los RTDs

Característica	Degradación mediada por ocupación	Mecanismos sólo de ocupación
Fundamento	Degradación enzimática (RNasa-H1, Ago2)	Bloqueo estérico, no requiere enzimas
Efecto farmacológico	Disminución de la expresión de una proteína	Disminución o aumento de la expresión de una proteína
Grupos farmacológicos	Oligonucleótidos Antisentido, ARN de interferencia pequeños	Oligonucleótidos Antisentido

aumentar la concentración de droga en los hepatocitos.

Las modificaciones químicas que abarcan a la ribosa (segunda generación) pueden mejorar o empeorar los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos evitando los efectos pro-inflamatorios característicos de las RTDs que poseen grupos PS. Sin embargo, en varios trabajos que utilizaron una modificación llamada 2'-MOE se ha evidenciado la aparición de trombocitopenia en dos variantes que podrían tener una fisiopatología distinta.

La primera forma de trombocitopenia se ha descrito como leve, reversible y dosis dependiente. Parece ser más frecuente en las RTDs de primera generación que poseían tanto PS como 2'-MOE. Esta forma no parece tener repercusión clínica en lo que respecta a sangrados. La segunda forma de trombocitopenia se cataloga como severa (en monos la gravedad de las hemorragias requirió suspensión del fármaco) y es menos frecuente que la primera. Se observa en caso de administración repetida, y si bien el recuento plaquetario se eleva cuando se suspende el fármaco, su re-administración produce una recaída. Resta definir si es una reacción adversa de tipo dosis independiente como sugieren algunos estudios con bajo número de animales involucrados. En un estudio, se encontraron anticuerpos anti-plaquetarios en un bajo número de pacientes.

A la fecha, no se ha podido establecer con certeza la habilidad de predecir el desarrollo de trombocitopenia mediante los estudios de farmacología pre-clínica. Se ha documentado en un estudio el fallecimiento de un participante por hemorragia intracraneal producto de una trombocitopenia grave, y en otro estudio con pacientes pediátricos que presentaban tumores cerebrales, la muerte de dos participantes por sangrado del tumor luego de trombocitopenia. Otras modificaciones estructurales parecen estar asociadas al desarrollo de efectos adversos a nivel renal y hepático.

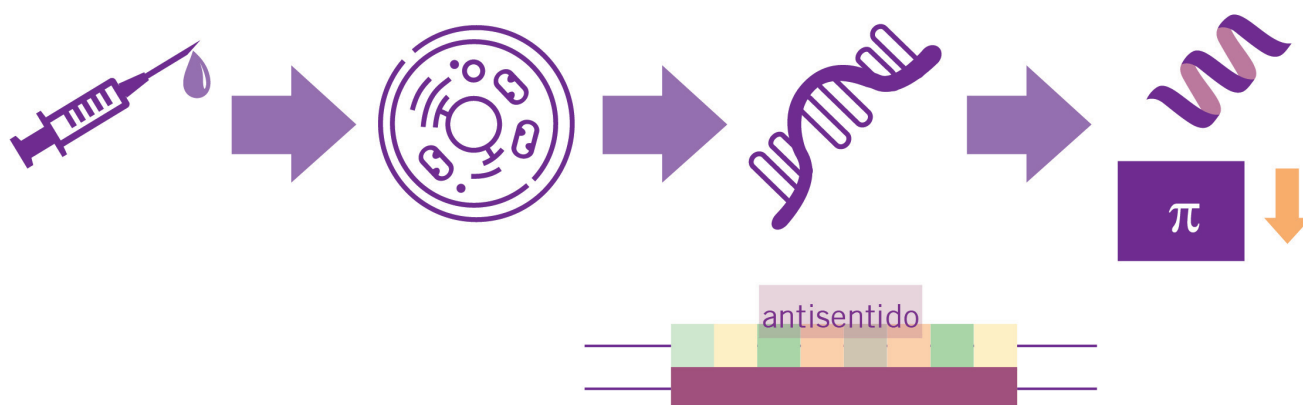
La trombocitopenia severa parece responder a varios mecanismos sin uno que claramente predomine sobre el resto. Dentro de las hipótesis que se tienen en cuenta para explicar el desarrollo de trombocitopenia, los datos disponibles sugieren que la secuencia codificada en el ASO podría tener relevancia. También podría estar implicada la unión a las plaquetas circulantes, dada la carga negativa de estas drogas, de forma similar a la trombocitopenia inducida por heparina. Otras opciones que se tienen en cuenta es la presencia de comorbilidades que incrementan el riesgo y el hipersplenismo producto de la activación del sistema inmune. A la fecha no se ha documentado la aparición de trombocitopenia severa causada por la administración de siRNAs, aunque esto puede deberse a la reciente inclusión en estudios de farmacología clínica. De todas formas, los componentes lipídicos en los cuales se formulan los siRNA pueden causar trombocitopenias inmunomediada. La trombocitopenia se ha documentado con varios ASOs.

En lo que respecta a los siRNA, reportes de estudios de Fase II-III con Revusiran (para el tratamiento de la amiloidosis por transtiretina) han evidenciado, además de un aumento en la mortalidad del grupo con principio activo, aparición de neuropatía periférica. Se desconoce actualmente si hay relación entre ambos hechos y cuál es la fisiopatología de este tipo de efecto adverso (recordar como posible confundidor que en la amiloidosis por transtiretina es común el desarrollo de neuropatía). Una vez más, el sistema de envío por conjugación con GalNac podría dar lugar a una reducción en estos efectos adversos ya que permite llegar a niveles plasmáticos 30 veces menores con la misma eficacia.

Los efectos por dianas fuera de rango (*off target effects*) son aquellos producidos por la unión a dianas distintas a las que se buscan para el fármaco. A la fecha, no se han reportado reac-

Figura 1

Resumen del mecanismo de acción de las RTD: Se administran por vía parenteral, ingresan a las células diana e interactúan con el ARNm, modificando la expresión de una proteína diana



ciones adversas en donde con certeza se haya documentado la participación de este mecanismo, pero creemos importante no dejar de mencionarlo por sus posibles implicancias en un futuro.

La RNasa H1, utilizada por los ASOs, es una enzima muy específica para reconocer pares de ARN/ADN y clivar el ARN. Es muy poco frecuente que esta enzima logre unirse y clivar secuencias de ARN distintas a las complementarias a la secuencia de ADN.

En lo que respecta a Ago2, encontramos que esta enzima presenta una especificidad levemente menor en cuanto a sus sustratos ya que solamente utiliza una secuencia de 7 nucleótidos (la cual en teoría puede encontrarse en secuencias de ARNm de proteínas distintas). Otra posible fuente de efectos adversos se relaciona con las funciones de Ago2, ya que ésta se encuentra usualmente en actividad regulando la expresión de distintos ARN, por lo que su utilización por los siRNA podría alterar esta regulación. En ambas familias de RTDs se ha descrito la citotoxicidad mediada por formación de complejos proteicos tóxicos entre las drogas y blancos intracelulares, res-

ta definir su relevancia en la clínica.

Dadas sus propiedades farmacológicas, las interacciones con otros fármacos son prácticamente nulas.

Conclusiones

Las nuevas terapias dirigidas al ARN se encuentran en pleno auge, y las ventajas que ofrecen son numerosas: Son fármacos con excelentes resultados particularmente en pacientes cuyas patologías no tenían anteriormente un tratamiento efectivo, con nulas interacciones, y con una larga duración de acción. Resta profundizar el conocimiento de los efectos adversos de estos fármacos, como de cualquier fármaco que se encuentra recientemente aprobado. La administración parenteral y los elevados costos iniciales son algunas de las barreras comunes a ellos que deberán considerarse. A pesar de ello, podemos afirmar que los RTDs son una familia de fármacos que ha llegado para quedarse, y sus resultados son prometedores, particularmente en el ámbito de la patología cardiometabólica.

Bibliografía sugerida

1. Tokgözoğlu, L., Libby, P. The dawn of a new era of targeted lipid-lowering therapies. *Eur. Heart J.* 2022; 43:3198–3208. doi: 10.1093/eurheartj/ehab841.
2. Bennet, F. Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age. *Annu Rev Med.* 2019; 70:307–321. doi: 10.1146/annurev-med-041217-010829.
3. Pratt, A., MacRae, I. The RNA-induced Silencing Complex: A Versatile Gene-silencing Machine. *J Biol Chem.* 2009; 284(27): 17897–17901. doi: 10.1074/jbc.R900012200.
4. Chen, R., Lin, S., Chen, X. The promising novel therapies for familial hypercholesterolemia. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36(7):e24552. doi: 10.1002/jcla.24552.
5. Dong, Y., Siegwart, D., Anderson, D. Strategies, design, and chemistry in siRNA delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;144:133–147. doi:10.1016/j.addr.2019.05.004.
6. Alshaer, W., Zureigat, H., Al Karaki, A., Al-Kadash, A., Gharaibeh, L., Hatmal, M. siRNA: Mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches. *Eur J Pharmacol.* 2021 Aug 15;905:174178. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174178.
7. Chi, X., Gatti, P., Papoian, T. Safety of antisense oligonucleotide and siRNA-based therapeutics. *Drug Discov Today.* 2017 May;22(5):823–833. doi:10.1016/j.drudis.2017.01.013.
8. Bajan, S., Hutvagner, G. RNA-Based Therapeutics: From Antisense Oligonucleotides to miRNAs. *Cells.* 2020 Jan 7;9(1):137. doi: 10.3390/cells9010137.
9. Crooke, S., Witztum, J., Bennett, C., Baker, B. RNA-Targeted Therapeutics. *Cell Metab.* 2018 Apr 3;27(4):714–739. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.004.
10. Fu, Q., Hu, L., Shen, T., Yang, R., Jiang, J. Recent Advances in Gene Therapy for Familial Hypercholesterolemia: An Update Review. *J Clin Med.* 2022 Nov 16;11(22):6773. doi: 10.3390/jcm11226773.
11. Geary, R., Norris, D., Yu, R., Bennett, C. Pharmacokinetics, biodistribution and cell uptake of antisense oligonucleotides. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 Jun 29;87:46–51. doi: 10.1016/j.addr.2015.01.008.
12. Herkt, M., Thum, T. Pharmacokinetics and Proceedings in Clinical Application of Nucleic Acid Therapeutics. *Mol Ther.* 2021 Feb 3;29(2):521–539. doi: 10.1016/j.jymthe.2020.11.008.
13. Park, J., Park, J., Pei, Y., Xu, J., Yeo, Y. Pharmacokinetics and biodistribution of recently-developed siRNA nanomedicines. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016 Sep 1;104:93–109. doi: 10.1016/j.addr.2015.12.004.
14. Huang, Y., Cheng, Q., Ji, J., Zheng, S., Du, L., Meng, L. Pharmacokinetic Behaviors of Intravenously Administered siRNA in Glandular Tissues. *Theranostics.* 2016 Jun 18;6(10):1528–41. doi: 10.7150/thno.15246.
15. Nikam, R., Gore, K. Journey of siRNA: Clinical Developments and Targeted Delivery. *Nucleic Acid Ther.* 2018 Aug;28(4):209–224. doi: 10.1089/nat.2017.0715.
16. Humphreys, S., Davis, J., Iqbal, S., Kamel, A., Kulmatycki, K., Lao, Y. Considerations and recommendations for assessment of plasma protein binding and drug-drug interactions for siRNA therapeutics. *Nucleic Acids Res.* 2022 Jun 24;50(11):6020–6037. doi: 10.1093/nar/gkac456.
17. Jo, S., Chae, S., Lee, C., Bae, S. Clinical Pharmacokinetics of Approved RNA Therapeutics. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 1;24(1):746. doi: 10.3390/ijms24010746.
18. Crooke, S., Baker, B., Crooke, R., Liang, X. Antisense technology: an overview and prospectus. *Nat Rev Drug Discov.* 2021 Jun;20(6):427–453. doi:10.1038/s41573-021-00162-z.
19. Crooke, S., Liang, X., Crooke, R., Baker, B., Geary, R. Antisense drug discovery and development technology considered in a pharmacological context. *Biochem Pharmacol.* 2021 Jul;189:114196. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114196.
20. Migliorati, J., Liu, S., Liu, A., Gogate, A., Nair, S., Bahal, R. Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion of US Food and Drug Administration-Approved Antisense Oligonucleotide Drugs. *Drug Metab Dispos.* 2022 Jun;50(6):888–897. doi: 10.1124/dmd.121.000417.
21. Mansoor, M., Melendez, A. Advances in Antisense Oligonucleotide Development for Target Identification, Validation, and as Novel Therapeutics. *Gene Regul Syst Bio.* 2008; 2: 275–295. doi: 10.4137/grsb.s418.
22. Takakusa, H., Iwazaki, N., Nishikawa, M., Yoshida, T., Obika, S., Inoue, T. Drug Metabolism and Pharmacokinetics of Antisense Oligonucleotide Therapeutics: Typical Profiles, Evaluation Approaches, and Points to Consider Compared with Small Molecule Drugs. *Nucleic Acid Ther.* 2023; 33(2). DOI: 10.1089/nat.2022.0054.

Modulación del ARN en la farmacología cardiovascular

Parte 2: Usos actuales y futuros en enfermedades cardiometabólicas

Sol Song, Juan J. Sterba, Agustina Piccinato, Ornella Robino, María Candelaria Ramos, Camila Muslera, Ezequiel J. Zaidel

Grupo de investigación en farmacología cardiovascular, Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Resumen

En este artículo se revisa la farmacología aplicada de las terapias dirigidas al ARN útiles para el tratamiento de diversas enfermedades cardiometabólicas, entre ellas las dislipidemias, la hipertensión y la amiloidosis. Se describe la farmacología básica y el resultado de los ensayos clínicos.

Palabras clave

Enfermedad cardiovascular – Ácido ribonucleico – Oligonucleótidos antisentido – ARN pequeño de interferencia – Terapia génica – N-acetilgalactosamina – Amiloidosis – Dislipidemia – Hipertensión arterial.

Introducción

En la primera parte de esta serie de artículos de fármacos dirigidos al ARN se describió en extenso el mecanismo de acción general, eventos adversos y cuestiones farmacocinéticas comunes a todas las terapias dirigidas al ARN, tanto los oligonucleótidos antisentido (ASO) y los ARN pequeños interferentes (siRNA).

Es difícil establecer una lista completa y actualizada de los oligonucleótidos aprobados, en desarrollo y en vías de aprobación para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares ya que día a día aparecen nuevas propuestas, estudios y resultados. En la Tabla 1 se describen los fármacos que se evaluarán en este artículo. Se trata de fármacos útiles para las dislipidemias frecuentes, así como las raras, para la amiloidosis con compromiso neurológico y cardíaco tipo aTTR-variante

(hereditaria) y recientemente una terapia dirigida al angiotensinógeno con potencial uso a futuro en el tratamiento de la hipertensión arterial esencial así como en otras patologías cardiometabólicas.

Tratamiento de la hipercolesterolemia familiar homocigota: Mipomersen

El mecanismo más frecuente que determina la elevación de las LDL en pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigota (enfermedad poco frecuente, 1:250.000) consiste en mutaciones en el gen que codifica para el receptor de las LDL (gen *LDLR*).

Mipomersen fue una de las primeras terapias dirigidas al ARN en ser aprobada por la FDA, en enero de 2013. Es un ASO de segunda generación, desarrollado para el tratamiento de la hipercolesterolemia familiar homocigota y su diana terapéutica es el ARNm que codifica para la ApoB-100. Actualmente se encuentra aprobado por la FDA pero la EMA ha rechazado su aprobación. Es un oligonucleótido antisentido de 20 nucleótidos de longitud, cuya secuencia es complementaria al ARNm que codifica para la ApoB-100. Induce la degradación de este ARNm por la RNasa-H1 disminuyendo así la producción de ApoB y finalmente el ensamblaje de las LDL y VLDL. Sus efectos son tiempo y concentración dependiente, y luego de una monodosis se observó disminución de LDL plasmáticas por más de 30 días.

Se administran 200 mg de forma subcutánea semanal. Las concentraciones plasmáticas máximas se obtienen a las 4 hs, la droga circula unida un 90% a proteínas plasmáticas y su concentración alcanza un estado estacionario luego de 6 meses de dosificación semanal. Tiende a concentrarse en el hígado en una relación con el plasma de 1:6000. El metabolismo no involucra al CYP450 ni modifica su actividad, y es degradado por nucleasas. La excreción es predominantemente urinaria, tanto de la droga intacta como de metabolitos inactivos. Su vida media se ubica entre 1 y 2 meses luego de la

administración subcutánea.

No se han descrito interacciones de relevancia, particularmente con simvastatina, ezetimibe ni warfarina. Sí se ha observado una sinergia con ellas en lo que respecta a la disminución de la LDL en plasma. Dado que no utilizan el metabolismo CYP, las RTDs presentan menos oportunidades para generar interacciones a nivel metabólico.

Los efectos adversos más frecuentemente notificados fueron inflamación en el sitio de inyección (la mayoría de los participantes presentaron inflamación, dolor y prurito) y síntomas pseudogripales (la mitad de los participantes presentaron un cuadro pseudogripal autolimitado y de rápida resolución)

Dentro de los EA poco frecuentes pero graves encontramos: elevación de las transaminasas hepáticas, esteatosis hepática y fenómenos trombóticos, con una baja incidencia reportada en los estudios disponibles. Aunque poco frecuentes, estos efectos adversos limitan el tratamiento con esta droga, y se debe continuar con su estudio para establecer el riesgo a largo plazo.

Para concluir, si bien esta droga ha demostrado disminuir los niveles de ApoB y de LDL circulantes, su lugar en el tratamiento de la HoHF todavía no está claro. Los efectos adversos, el precio del tratamiento (aproximadamente 150.000 dólares al año), la inconveniencia de la formulación subcutánea semanal y las variaciones interpersonales en la respuesta a Mipomersen representan barreras para su utilización.

Tratamiento de la hipercolesterolemia familiar heterocigota con incremento de los niveles de lipoproteína a Lp(a): Pelacarsen y Olpasiran

Pelacarsen es un ASO cuya diana es el ARN mensajero que codifica para la apolipoproteína (a) conocida también como Apo(a). Se están llevando a cabo estudios de fase 3. Olpasiran es un siRNA que también se encuentra dirigido hacia el ARNm de Apo(a), comenzando su fase 3. Apo(a) junto con

ApoB forman la lipoproteína Lp(a) que es altamente aterogénica y se encuentra elevada en pacientes que presentan enfermedad cardiovascular. Apo(a) se encuentra codificada por el gen LPA y se expresa fundamentalmente en el hígado y en el riñón. Los niveles de Apo(a) expresados se encuentran mayormente determinados de forma genética.

Si bien la vida media plasmática de pelacarsen es menor a las 4 horas, la tisular se encuentra cercana a las 3 semanas. La duración de acción ronda los 3 meses, en donde se puede ver descenso de Lp(a) y pasado este tiempo, una vuelta a sus concentraciones pretratamiento. Además, algunos estudios describen un cambio en el perfil de los monocitos luego de su administración, lo que podría disminuir la inflamación a nivel de las placas de ateroma.

Pelacarsen difiere de su antecesor, IONIS APO(a)Rx en que presenta algunos cambios en los nucleótidos y se encuentra conjugado con GalNac por lo que permite obtener excelentes respuestas utilizando dosis mucho menores de fármaco en comparación a formulaciones sin GalNac. Se evidenció la disminución de Lp(a), lípidos oxidados como OxPL-apoB y OxPL-apo(a); y sorpresivamente en LDL-C y apoB. En lo que respecta a efectos adversos sistémicos, no se han notificado casos de síndrome pseudogripal, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad ni alteraciones en el recuento plaquetario. Por otro lado, los efectos adversos locales consistieron en inflamación en el sitio de inyección.

Olpasiran es un siRNA conjugado con GalNac que se administra de forma subcutánea cada 3 a 6 meses. En un estudio de fase 1, logró disminuir un 90% la concentración de Lp(a) en adultos sanos, sin efectos adversos de relevancia.

Tratamiento de la hiperquilomicronemia familiar y la hipertrigliceridemia: Volanesorsen y Olezarsen

El Síndrome de Quilomicronemia Familiar (FCS, familiar chylomicronemia syndrome) es una enfermedad con una pre-

Tabla 1

Terapias antisentido para las dislipidemias aprobadas y en investigación.

Nombre	Categoría	Estado	Diana de ARNm	Indicación principal propuesta
Mipomersen	ASO	Aprobado FDA 2013*	ApoB-100	Hipercolesterolemia Familiar
Volanesorsen	ASO	Aprobado FDA/EMA 2019	ApoCIII	Sme. de Hiperquilomicronemia Familiar
Inclisiran	siRNA	Aprobado FDA/EMA 2021*	PCSK9	Hipercolesterolemia/Aterosclerosis
Pelacarsen	ASO	Estudios Fase III	Apo (a)	Disminución de Lp(a)
Olpasiran	siRNA	Estudios Fase III	Apo (a)	Disminución de Lp(a)
Vupanorsen	ASO	Estudios Fase II	ANGPTL3	Hipertrigliceridemia
Olezarsen	ASO	Estudios Fase III**	ApoCIII	Sme. de Hiperquilomicronemia Familiar
AROANG3	siRNA	Estudios Fase II	ANGPTL3	Hipercolesterolemia Familiar
Zilebesiran	siRNA	Estudio Fase II	Angiotensinógeno	Hipertensión arterial
Patisirán	siRNA	Aprobado FDA/EMA 2018	ARNm de TTR	Amiloidosis aTTR-v
Revusirán	siRNA	Suspendido en Fase III	ARNm TTR	Amiloidosis aTTR-v
Vutrisirán	siRNA	Aprobado FDA 2022	ARNm hATTR y aTTRwt	Amiloidosis aTTR-v
Inotersen	ASO	Aprobado EMA 2018	Transtiretina	Amiloidosis aTTR-v
Eplonersen	ASO	Estudios fase III	ARNm hepático de TTR	Amiloidosis aTTR-v

*aprobados también por ANMAT / ** actualmente en fast-track para aprobación por FDA.

valencia de 1:1.000.000 en su variante homocigota, y 1:500 para su variante heterocigota. Los pacientes que padecen de FCS poseen generalmente mutaciones de pérdida de función a nivel de la lipoproteinlipasa (LPL), principalmente encargada de la hidrólisis de los triacilglicéridos (TAG). Es por ello que cursan con quilomicronemia e hipertrigliceridemia severa, con el consiguiente aumento marcado del riesgo cardiovascular y el riesgo de desarrollar pancreatitis aguda por TAG. La apoCIII es una apolipoproteína que contribuye a aumentar los TAG ya que inhibe la actividad de la LPL, disminuye la captación hepática de lipoproteínas ricas en TAG y aumenta la secreción hepática de TAG.

Volanesorsen es un oligonucleótido antisentido de segunda generación cuya diana es el ARNm que codifica para la apoCIII. Luego de unirse al ARNm induce su degradación mediada por RNasa H1, lo que determina una disminución de la expresión de apoCIII, particularmente en los hepatocitos. Esta droga es administrada por vía subcutánea de forma semanal durante tres meses y luego cada dos semanas.

En el estudio de Fase 3 "APPROACH", Volanesorsen fue administrado a pacientes con FCS junto con el tratamiento convencional, logrando reducir en tres meses los TAG en ayuno en un 72%, el colesterol total (39%), la concentración de apoCIII y apo B48 (84% y 75%), y los TAG de los quilomicrones (77%). El tratamiento se debe interrumpir cuando en caso de no lograr disminución significativa de triglicéridos en los primeros tres meses.

Luego de la administración subcutánea esta droga presenta una Cmax entre las 2 y 4 hs, y luego se distribuye rápidamente a los tejidos. Circula en plasma con una alta unión a proteínas plasmáticas y su volumen de distribución es de aproximadamente 330 litros (lo que indica concentración a nivel tisular). Volanesorsen se acumula a nivel del tejido hepático, donde se encuentra su principal sitio de acción. El metabolismo se realiza mediante endonucleasas y exonucleasas, formando metabolitos inactivos excretados luego por orina. No utiliza el metabolismo CYP.

Los EAs locales son eritema, dolor, prurito e inflamación del sitio de inyección, pero en pocos pacientes llevaron a la suspensión de la administración. Los efectos adversos sistémicos frecuentes consistieron en rinofaringitis, mialgias, artralgias, cefalea, fatiga, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos, y en menor medida, trombocitopenia. Los EAs severos fueron trombocitopenia grado 4, enfermedad del suero, artritis idiopática juvenil y proteinuria.

En resumen, Volanesorsen es útil en el tratamiento de la hiperquilomicronemia familiar, reduce el riesgo de pancreatitis, y la principal alerta es la posible trombocitopenia (se recomienda monitoreo frecuente). Actualmente se encuentra aprobado por la EMA y la FDA.

Olezarsen es un oligonucleótido N-acetil-galactosamina-conjugado que se dirige al hígado a través de la APOC3 mRNA para inhibir la producción de la apolipoproteína C-III (apoC-III), lo que hace es disminuir los niveles de triglicéridos en pacientes con alto riesgo o con enfermedad cardiovascular establecida. Tardiff y cols. realizaron un ensayo clínico en fase 2, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, en donde se seleccionaron 114 pacientes con niveles de triglicéridos de 200-500 mg/dL (2.26-5.65 mmol/L). Los pacientes reci-

bieron olezarsen: 10 o 50 mg cada 4 semanas, 15 mg cada 2 semanas o 10 mg por semana, o placebo. El tratamiento con olezarsen resultó en una reducción del 23% con 10 mg cada 4 semanas, 56% con 15 mg cada 2 semanas, 60% con 10 mg por semana, 60% con 50 mg cada 4 semanas. También se produjo un descenso en apoC-III, colesterol LDL, y HDL y apolipoproteína B. El efecto adverso más común fue eritema en el sitio de inyección. Como primer resultado, este fármaco disminuyó de forma significativa la apoC-III, triglicéridos, y lipoproteínas aterogénicas en pacientes con moderada hipertrigliceridemia y alto riesgo o enfermedad cardiovascular establecida.

Tratamiento de las hipercolesterolemias en pacientes con enfermedad cardiovascular asociados o no a estatinas: Vupanorsen, Inclisirán.

Vupanorsen es un oligonucleótido antisentido conjugado con N-acetil galactosamina de segunda generación que se dirige al ARNm de ANGPTL3 en el hígado e inhibe su síntesis.

La proteína similar a la angiopoyetina 3 (ANGPTL3), secretada por el hígado, es un inhibidor de la lipoproteína lipasa (LPL) y la lipasa endotelial (LE), dos enzimas clave involucradas en el metabolismo de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de alta densidad (HDL), respectivamente. Las variantes de pérdida de función en el ANGPTL3 están asociadas con niveles reducidos de triglicéridos plasmáticos, LDL-C y colesterol HDL (HDL-C); riesgo reducido de enfermedad arterial coronaria (CAD), y otros efectos metabólicos beneficiosos, incluido el aumento de la sensibilidad a la insulina y la reducción de los niveles de ácidos grasos libres (FFA) circulantes. En el estudio en "TRANSLATETIMI 70" se analizaron pacientes tratados con estatinas con colesterol no-HDL con valores mayores a 100 mg/dL, y triglicéridos con valores entre 150-500 mg/dL, quienes fueron aleatorizados a recibir Vuparnosen vs placebo: A 24 semanas el Vuparnosen administrado en dosis equivalentes mensuales de 80 a 320 mg, redujo significativamente el colesterol no-HDL y otros parámetros lipídicos adicionales. Se observaron leves efectos locales y elevación de transaminasas.

Inclisirán es un ARN de interferencia pequeño (siRNA) aprobado en el 2020 por la EMA y en el 2021 por la FDA y EMA para el tratamiento de la hipercolesterolemia (familiar y no familiar) y la dislipidemia mixta. Es un siRNA conjugado con GalNac en su hebra sentido (la que actúa como carrier) que presenta como diana al ARNm que codifica para la PCSK9. Luego de administrado por vía subcutánea, se dirige hacia el hepatocito en donde ingresa gracias al receptor específico para GalNac (ASGPR-3). Luego de su llegada a la célula, forma junto con la enzima Ago2 el complejo RISC el cual es capaz de buscar la secuencia de ARNm de la PCSK9 y degradarlo. De esta forma, se logra disminuir la expresión de la PCSK9 y consecuentemente aumentar el reciclado de los receptores para LDL.

Su posología recomendada consiste en la administración de una dosis de 284 mg en el día 1, el día 90 y a continuación, cada 6 meses. Luego de administrado, esta droga se distribu-

ye unida a las proteínas y se acumula a nivel hepático, consiguiendo un volumen de distribución mayor al agua corporal total. Siguiendo las características de los RTDs, carece de interacciones/metabolismo a nivel del CYP450. Inclisiran es hidrolizado por nucleasas, y los fragmentos inactivos son eliminados por orina, con un leve aumento de su vida media en caso de enfermedad renal crónica sin impacto clínico.

Se describe en el sitio de inyección: induración, dolor, eritema, prurito y erupción cutánea. No se ha documentado a la fecha toxicidad a nivel hepático, muscular, renal ni plaquetario.

Inclisiran ha demostrado disminuir de forma significativa los valores de c-LDL en pacientes en los que no se logra alcanzar las metas esperadas con fármacos convencionales o que no toleran el tratamiento usual. Se ha evaluado el uso del Inclisiran en pacientes con dislipidemias secundarias, enfermedad cardiovascular aterosclerótica o con factores de riesgo de ECV, hipercolesterolemia familiar heterocigota y homocigota. Los estudios clínicos (ORION-10, ORION-9, ORION-2) han demostrado en las distintas patologías mencionadas significancia estadística para sus endpoints primario y secundario. El estudio ORION-3 demostró un aparente beneficio del siRNA por sobre el Evolocumab en cuanto al número de dosis a recibir anualmente. Si bien Inclisiran redujo los valores de c-LDL en pacientes con enfermedad cardiovascular aterosclerótica, y se ha visto en un análisis preespecificado una reducción de eventos cardiovasculares comparado con placebo, estos desenlaces clínicos se terminarán de valorar en el estudio ORION-4.

Tratamiento de la hipertensión arterial: Zilebesiran

El zilebesiran es un ARN de interferencia pequeño (siRNA) en fase de investigación que inhibe la síntesis hepática de angiotensinógeno y posee una duración de acción prolongada.

Existe una gran cantidad de pacientes hipertensos que continúan sin alcanzar los objetivos de presión arterial recomendados por las guías, (lo que les expone a mayor riesgo eventos cardiovasculares), y dado que una de las principales causas es la falta de adhesión al tratamiento, este fármaco constituye una propuesta novedosa por su acción a largo plazo.

Este siRNA, conjugado con N-acetilgalactosamina (GalNAc), se dirige específicamente a la síntesis del angiotensinógeno en los hepatocitos, inhibiendo la producción de angiotensina I y II. De esta forma, el aumento compensatorio de renina producido ante la inhibición prolongada de la enzima convertidora de angiotensina o al bloqueo de los receptores de angiotensina que permite que se restablezcan los niveles de angiotensina II (escape del sistema reninaangiotensina) sería impedido, lo que permitiría una inhibición más eficaz del sistema reninaangiotensina y un mayor control de los valores de presión arterial.

Se administra en forma subcutánea y, gracias a su unión con GalNAc, una vez unido al ARNm se encuentra protegido de la degradación por nucleasas. Esto, sumado a la estabilidad intrínseca de estos complejos en compartimentos intracelulares ácidos (como es el endosoma hepático), permite su acción prolongada. Dentro de los efectos adversos que se han podido observar tenemos la presencia de reacciones leves y

transitorias en el sitio de colocación de la inyección. No se han hallado casos de hipotensión, hiperpotasemia o disfunción renal que requieran tratamiento.

Uno de los principales trabajos, actualmente en fase I, ha sido publicado en la revista *New England Journal of Medicine* y ha comprobado la efectividad del zilebesiran para disminuir los valores del angiotensinógeno hasta un 90% a seis meses en forma dosisdependiente, lo cual conduce a la disminución de los valores de presión arterial más de 10 mmHg con ausencia de efectos adversos graves. A raíz de este trabajo es que se encuentran en curso ensayos clínicos en fase II que evalúan su eficacia y seguridad en monoterapia (KARDIA-1) o combinado con el tratamiento establecido para hipertensión arterial (KARDIA-2) en pacientes con hipertensión leve y moderada.

Tratamiento de la amiloidosis por transtiretina hereditaria

Existen diferentes tipos de amiloidosis. La amiloidosis por transtiretina hereditaria (variante, aTTR-v) puede provocar neuropatía y cardiopatía. Se han desarrollado diversos ASO y SiRNA.

Patisiran es un ARN de interferencia (ARNi) que se dirige al ARNm de TTR, lo que reduce la expresión de todas las formas de la proteína TTR. En varios estudios en fase II/III demostró una fuerte reducción de dicha proteína, de la polineuropatía y la calidad de vida después de 18 meses de tratamiento. Se logró una reducción sostenida de TTR en promedio de más de 80 % con dos dosis consecutivas de patisiran 0,3 mg/kg administradas cada 3-4 semanas. Se valoró la variación de la lesión nerviosa de los pacientes, observando una ligera mejoría del estado de los pacientes. Estudios recientes de Marianna Fontana y cols comprobaron en el seguimiento a largo plazo mejoría en péptidos natriuréticos, capacidad del ejercicio, y estudios de imagen cardíaca (Resonancia con medición del volumen extracelular).

Revusiran fue evaluado en un estudio en fase III, aleatorizado doble ciego, controlado con placebo en pacientes con miocardiopatía. Los pacientes con amiloidosis hATTR fueron aleatorizados 2:1 para recibir 500 mg diarios de revusiran por vía subcutánea (n = 140) o placebo (n = 66) durante 5 días durante una semana, seguido de dosis semanales. Los puntos de evaluación fueron la distancia de la prueba de marcha de 6 minutos y la reducción de la TTR sérica. Lamentablemente este estudio debió ser suspendido por aumento de mortalidad en el brazo de revusiran. Dieciocho (12,9%) pacientes con revusiran y 2 (3,0%) con placebo murieron durante el período de tratamiento. La mayoría de las muertes en ambos brazos de tratamiento se adjudicaron como cardiovasculares debido a insuficiencia cardíaca.

Vutrisiran es un SiRNA que se encuentra unido de forma covalente a un ligando con tres residuos de N-acetilgalactosamina (GalNAc) que produce la degradación del ARNm de transtiretina mutante y de tipo salvaje a través de la interferencia del ARN, dando como resultado final una disminución de la proteína TTR sérica y depósitos de proteína TTR en los tejidos. En 2022, fue aprobada por un solo estudio de fase III abierto y multicéntrico para el tratamiento de la amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina y con polineuropatía. El

estudio HELIOS-A evaluó eficacia y seguridad de vutrisiran frente a patisirán y a un grupo placebo externo (estudio APOLLO, NCT01960348). Se aplicó 25 mg de vutrisiran de forma trimestral durante 18 meses y luego una fase de extensión abierta con infusiones más espaciadas. El comparador fue patisirán endovenoso. Se incluyeron 164 pacientes. Vutrisiran produjo una reducción estadísticamente significativa frente al grupo placebo externo para la escala mNIS+7 (deterioro neurológico modificada +7) [-17,00 (IC 95%: -21,78 a -12,22, $p < 0,001$)] a los 9 y a los 18 meses de seguimiento. También mejoró las pruebas de caminata. Se observó reducción de niveles de vitamina A, y se sugiere la suplementación durante el tratamiento.

Inotersen es un oligonucleótido antisentido (ASO) inhibidor de la transtiretina. Su formulación subcutánea (SC) fue aprobada en 2018 por la Unión Europea para el tratamiento de la polineuropatía en etapa 1 o 2 en pacientes adultos con hATTR, y se encuentra en proceso de revisión regulatoria en los Estados Unidos y Canadá. La dosis recomendada es de 284 mg SC una vez a la semana. La reducción promedio porcentual desde el valor inicial en los niveles séricos de TTR durante las semanas 13-65 del tratamiento fue del 68-74%. Como otros de la misma familia, la reducción de los niveles de TTR en plasma provoca reducción en los niveles sanguíneos de retinol.

La farmacocinética de inotersen por vía subcutánea (SC) es dependiente de la dosis. Se metaboliza en los tejidos por endonucleasas, formando oligonucleótidos inactivos más cortos que luego son metabolizados por exonucleasas. La vida media de eliminación de inotersen después de la administración SC es de aproximadamente 1 mes.

El tratamiento con inotersen SC una vez a la semana durante 15 meses mejoró significativamente los síntomas de neuropatía y la calidad de vida en comparación con el placebo en pacientes adultos con hATTR-PN y enfermedad en etapa 1 (ambulante) o etapa 2 (ambulante con asistencia) en el ensayo de fase III NEURO-TTR. En un estudio de fase II en pacientes con hATTR o ATTR tipo salvaje (ATTRwt) y miocardiopatía, el tratamiento con Inotersen una vez a la semana por 3 años estabilizó los parámetros funcionales (marcha de 6 minutos,

fracción de eyección del ventrículo izquierdo, presión arterial) en la mayoría de los pacientes. La masa ventricular izquierda, evaluada mediante la resonancia magnética cardíaca anual, no progresó durante el tratamiento (y había disminuido en ocho de diez pacientes después de 2 años).

Los eventos adversos más comunes fueron: reacciones en el sitio de inyección (51%), náuseas (31,3%), anemia (27,7%), dolor de cabeza (23,2%), fiebre (19,6%), edema periférico (18,8%), escalofríos (17,9%), vómitos (15,2%), trombocitopenia (13,4%) y disminución del recuento de plaquetas (10,7%).

Eplontersen es un oligonucleótido antisentido (ASO) investigacional conjugado con N-acetil galactosamina (GalNAc) que tiene como objetivo preferencial el ARNm hepático de TTR. En un estudio de fase 1 en voluntarios sanos, la administración de eplontersen 45 mg SC cada 4 semanas durante un total de 4 dosis ($n = 10$) logró una reducción media del 86% en los niveles séricos de TTR en comparación con el valor inicial; hubo una reducción media del 6% en los participantes del estudio que recibieron placebo ($n = 6$). Posteriormente, se inició un estudio de fase 3 llamado NEURO-TTRransform para evaluar la eficacia y seguridad de eplontersen en adultos con ATTRv-PN, todos ellos con una variante patogénica documentada en la secuencia de TTR. El estudio Cardio-TTRasform evaluará los desenlaces cardíacos.

Conclusión

Hemos revisado las diferentes terapias dirigidas al ARN disponibles actualmente, así como las potencialmente útiles a corto plazo. Tanto los ASO como los siRNA son fármacos con un buen perfil farmacocinético, prácticamente nulas interacciones, y cuyos principales efectos adversos están relacionados con la administración de estos. Comprobamos su utilidad y eficacia en diferentes tipos de dislipidemias, su potencial uso a futuro en hipertensión arterial, y con respecto a la amiloidosis ATTR-v son la piedra angular del tratamiento, interrumpiendo la progresión de dicha enfermedad devastadora.

Bibliografía sugerida

1. Crooke, S., Liang, X., Crooke, R., Baker, B., Geary, R. Antisense drug discovery and development technology considered in a pharmacological context. *Biomed. Pharmacol. J.* 2021; 189. doi:10.1016/j.bcp.2020.114196.
2. Crooke, S.T., Baker, B.F., Crooke, R.M. et al. Antisense technology: an overview and prospectus. *Nat Rev Drug Discov.* 2021; 20:427-453. doi:10.1038/s41573-021-00162-z.
3. Lamb, Y. N. Inclisiran: first approval. *Drugs.* 2021; 81: 389-395. doi:10.1007/s40265-021-01529-7.
4. Coelho T, Adams D, Conceição I, Waddington-Cruz M, Schmidt HH, Buades J. A phase II, open-label, extension study of long-term patisiran treatment in patients with hereditary transthyretin-mediated (hATTR) amyloidosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Jul 8;15(1):179. doi: 10.1186/s13023-020-01399-4.
5. Suhr, O.B., Coelho, T., Buades, J. et al. Efficacy and safety of patisiran for familial amyloidotic polyneuropathy: a phase II multi-dose study. *Orphanet J Rare Dis.* 2015; 10:109. doi:10.1186/s13023-015-0326-6.
6. Judge DP, Kristen AV, Grogan M, Maurer MS, Falk RH, Hanna M. Phase 3 Multicenter Study of Revusiran in Patients with Hereditary Transthyretin-Mediated (hATTR) Amyloidosis with Cardiomyopathy (ENDEAVOUR). *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020 Jun;34(3):357-370. doi:10.1007/s10557-019-06919-4.
7. Keam SJ. Inotersen: First Global Approval. *Drugs.* 2018 Sep;78(13):1371-1376. doi:10.1007/s40265-018-0968-5.
8. Desai AS, Webb DJ, Taubel J, Casey S, Cheng Y, Robbie GJ. Zilebesiran, an RNA Interference Therapeutic Agent for Hypertension. *N Engl J Med.* 2023 Jul 20;389(3):228-238. doi:10.1056/NEJMoa2208391.
9. Ranasinghe P, Addison ML, Webb DJ. Small Interfering RNA Therapeutics in Hypertension: A Viewpoint on Vasopressor and Vasopressor-Sparing Strategies for Counteracting Blood Pressure Lowering by Angiotensinogen-Targeting Small Interfering RNA. *J Am Heart Assoc.* 2022 Oct 18;11(20):e027694. doi: 10.1161/JAHA.122.027694.
10. Habtemariam, B., Karsten, V., Attarwala, H., Goel, V., Melch, M., Clausen, V. Single-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Transthyretin Targeting N-acetylgalactosamine-Small Interfering Ribonucleic Acid Conjugate, Vutrisiran, in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Feb;109(2):372-382. doi: 10.1002/cpt.1974.
11. Adams D, Coelho T, Obici L, et al. Rapid progression of familial amyloidotic polyneuropathy: A multinational natural history study. *Neurology.* 2015;85(8):675-682. doi:10.1212/WNL.0000000000001870.
12. Ioannou A, Fontana M, Gillmore JD. Patisiran for the Treatment of Transthyretin-mediated Amyloidosis with Cardiomyopathy. *Heart Int.* 2023;17(1):27-35. Published 2023 Jun 8. doi:10.17925/HI.2023.17.1.27.
13. Judge DP, Kristen AV, Grogan M, et al. Phase 3 Multicenter Study of Revusiran in Patients with Hereditary Transthyretin-Mediated (hATTR) Amyloidosis with Cardiomyopathy (ENDEAVOUR) [published correction appears in *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020 Jun 16;]. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020;34(3):357-370. doi:10.1007/s10557-019-06919-4.