



# LA TECNOLOGÍA DE APTÁMEROS, PRESENTE Y SOBRE TODO FUTURO

Esta tecnología aún cuenta con muchos detractores, porque los anticuerpos son herramientas muy bien establecidas y funcionan correctamente en multitud de aplicaciones, diagnósticas y terapéuticas. Sin embargo, la tecnología de aptámeros se abre paso día a día, con ejemplos de aplicaciones terapéuticas y diagnósticas en desarrollo o incluso en el mercado.

Miguel Moreno, CSO en AptusBiotech

**EL AGOSTO PASADO SE HAN CUMPLIDO 30 AÑOS** desde que dos laboratorios independientes, y al mismo tiempo, describieron por primera vez unos oligonucleótidos seleccionados *in vitro* con capacidad de unión a determinados ligandos: los aptámeros.

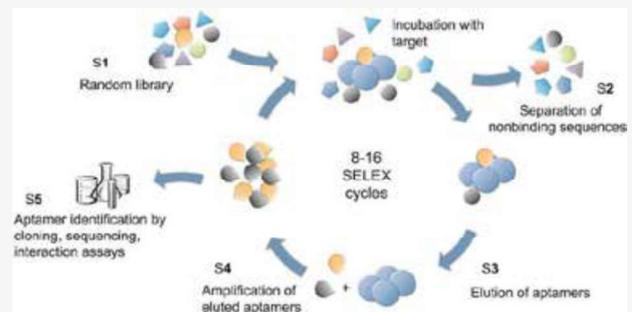
Por un lado, el grupo del Prof. Larry Gold en la Universidad de Colorado en Boulder, desarrolló un procedimiento de selección-amplificación de moléculas de ARN con capacidad de unión por la ADN polimerasa del fago T4. A este proceso iterativo lo denominó "SELEX" (*Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*).

Por otra parte, el grupo del premio Nobel Jack W. Szostak del Massachusetts General Hospital en Boston, seleccionó moléculas de ARN capaces de unirse específicamente a colorantes orgánicos, a las cuales denominaron *aptámeros*, del latín *aptus* que significa "unido" y del griego *meros* ("parte" o "unidad").

En ambos casos, las moléculas fueron seleccionadas partiendo de poblaciones de ARN con secuencia aleatoria.

## LOS APTÁMEROS SE PUEDEN DEFINIR COMO ÁCIDOS NUCLEICOS SINTÉTICOS

de cadena sencilla (ARN o ADN), capaces de adoptar estructuras tridimensionales en función de su secuencia y las características del medio, lo que les permite interactuar de manera específica y con alta afinidad con sus moléculas dianas. En cierto modo, los aptámeros se comportan como los anticuerpos en el momento de reconocer a su antígeno, sin embargo, presentan una serie de características que les diferencian. Los aptámeros se obtienen mediante un procedimiento de selección *in vitro* (SELEX) lo que permite fijar las condiciones de temperatura, pH y



**Figura 1.** Esquema del proceso de Selección de Aptámeros "SELEX". Modificado de "Aptamer Selection Technology and Recent Advances" en *Molecular Therapy - Nucleic Acids* 4: e223.

concentración de iones salinos, a diferencia de los anticuerpos que se producen *in vivo* y en condiciones fisiológicas (ver Figura 1). Esto es muy importante a la hora de utilizar los aptámeros en diferentes aplicaciones, en las que las condiciones de uso o almacenamiento están lejos de las condiciones fisiológicas. Además, los aptámeros son capaces de renaturalizar, a diferencia de los anticuerpos cuya desnaturalización es irreversible, por lo que su transporte o almacenamiento no tienen que seguir ninguna condición determinada. Igualmente, al tratarse de un método *in vitro*, los aptámeros pueden seleccionarse no sólo frente a moléculas convencionales (proteínas o péptidos) sino, eventualmente, frente a cualquier tipo de molécula, desde moléculas pequeñas como toxinas, antibióticos o incluso iones, hasta frente a complejas estructuras como virus, bacterias o células completas (ver Figura 2). Finalmente, hay que destacar que el procedimiento de selección de aptámeros parte de una población inicial de un número muy elevado de secuencias, del orden de  $10^{14}$  moléculas diferentes, lo que expande el rango de posibilidades de seleccionar el aptámero con las propiedades deseadas, extendiendo su aplicabilidad más allá de las restricciones habituales que encontramos con los anticuerpos tradicionales.

Por otra parte, es cierto que esta tecnología aún cuenta con muchos detractores, ya que los anticuerpos son herramientas muy bien establecidas y que funcionan correctamente en multitud de aplicaciones, diagnósticas y terapéuticas. Pero la tecnología de aptámeros se abre paso día a día, con ejemplos de aplicaciones terapéuticas y diagnósticas en desarrollo o incluso en el mercado. Destaca *Pegaptanib sódico (Macugen)*, aprobado por la FDA en 2004 como el primer medicamento basado en aptámeros. Actúa uniéndose selectivamente al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF165) e inhibiendo selectivamente su actividad. VEGF165 es una proteína que actúa como inductor de la neovascularización coroidea, proceso común a todos los tipos de degeneración macular asociada a la edad (DMAE). Debido a su unión específica al VEGF165, reduce el exudado y el crecimiento de los vasos sanguíneos, lo que limita la progresión de la enfermedad y ayuda a preservar la visión de los pacientes. Existen multitud de agentes terapéuticos basados en aptámeros en distintas fases de ensayo clínico en la actualidad, por lo que en los próximos años esta tecnología contará con nuevos ejemplos de su aplicabilidad.

**EN APTUSBIOTECH LLEVAMOS MÁS DE 11 AÑOS DESARROLLANDO APTÁMEROS** tanto para nuestros clientes como para nuestro *pipeline* particular, con aplicaciones tanto en diagnóstico como en terapia. Hemos desarrollado una plataforma de desarrollo de aptámeros, desde líneas celulares a proteínas, péptidos o moléculas pequeñas, proporcionando candidatos de alta calidad para ensayos preclínicos. Además, aplicamos la secuenciación de próxima generación para maximizar la detección de aptámeros utilizando las últimas herramientas bioinformáticas.

Entre nuestros trabajos, destaca un aptámero frente a TLR4 para el tratamiento del ictus isquémico, desarrollado en colaboración con el grupo de Aptámeros del IRYCIS y la Unidad de Investigación Neurovascular (UIN). En el ictus isquémico, las células que mueren en la zona que deja de recibir el flujo sanguíneo (núcleo isquémico) liberan moléculas que interactúan con el receptor TLR4. Cuando este receptor se activa, se dispara una cascada de señales que conduce a la liberación de proteínas proinflamatorias. El aptámero que hemos desarrollado se une al receptor TLR4 y, en consecuencia, inhibe la cascada de eventos que producen la inflamación en la zona de penumbra y, por tanto, la muerte neuronal. Dicho aptámero fue adquirido por AptaTargets



**Figura 2.** Propiedades de los aptámeros. La adquisición de su estructura tridimensional está basada en la secuencia y condiciones del medio, lo que les permite reconocer a su diana de manera selectiva y con muy alta afinidad.

SL en 2014 con el que inició su programa *Aptoll*. En 2019 y 2020, AptaTargets realizó el primer ensayo clínico en humanos voluntarios sanos (NCT04742062). Actualmente se está realizando un ensayo de fase Ib / IIa en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo (estudio APRIL, NCT04734548), habiendo completado la fase Ib en junio de 2021.

**AUNQUE SE HAN LOGRADO AVANCES SUSTANCIALES EN LA APLICACIÓN** de aptámeros en diversos campos, todavía se necesita tiempo para llevar los aptámeros al uso comercial en clínica y en sistemas diagnósticos. Hace falta un esfuerzo didáctico para dar a conocer la tecnología a toda la comunidad científica, resaltando los beneficios que presentan para su potencial aplicación, como su fácil producción *in vitro*, las modificaciones químicas que pueden ser incorporadas para mejorar su estabilidad en las muestras biológicas, el reconocimiento de dianas tanto inmunogénicas como no inmunogénicas, su estabilidad a altas temperaturas y su capacidad de renaturalizarse. Igualmente, hay que superar la otra razón principal del cuello de botella de la tecnología de aptámeros: la enorme inversión financiera de la industria biotecnológica en los procesos bien establecidos de investigación, desarrollo y fabricación de anticuerpos monoclonales humanizados y nano-anticuerpos, lo que hace que estas industrias sean relativamente reacias a invertir capital en nuevas tecnologías como los aptámeros. A pesar de estos desafíos, los excelentes ejemplos de aplicación de esta tecnología han creado cierta penetración en el mercado de la industria agrícola (detección de micotoxinas), de la industria de pruebas de seguridad alimentaria y de la terapéutica del cáncer. Esta penetración de la tecnología en nichos de mercado puede generar confianza tanto en los potenciales nuevos usuarios de aptámeros como en la generación de nuevas inversiones, y así impulsar la creación de nuevos mercados ☺