Ekaia, 2026, 49, 47-64
https://doi.org/10.1387/ekaia.27226

ekaia
ZIENTZIA eta TEKNOLOGIA ALDIZKARIA

ISSN 0214-9001 – eISSN 2444-3255

siRNA bidezko gene-isilpena: mekanismoak, estrategiak eta aplikazio klinikoak

(siRNA-Mediated Gene Silencing: Mechanisms, Strategies, and Clinical Applications)

Maitane Lerga Sola[1], *Imanol Gonzalez-Burguera**[2], *Miquel Saumell-Esnaola*[3], *Gontzal García del Caño*[2], *Maider López De Jesús*[3]

[1] Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Araba
[2] Neurozientzia Saila, Farmazia Fakultatea. UPV/EHU
[3] Farmakologia Saila, Farmazia Fakultatea. UPV/EHU

LABURPENA: Interferentziazko RNA, sarritan RNAi gisa laburtuta, eukarioto ugaritan aurkitzen den kate bikoitzeko RNA (dsRNA) molekula hartuta transkripziozko geneak isilaraztea eragiten duen prozesu biologikoa da. Gene jakin batzuen espresioa ezabatzeak garrantzi handia du zelula garatzeko eta desberdintzeko, eta horrek garrantzi handia edukiko du minbiziaren eta birusen aurkako defentsan. Gaur egun, interferentziazko RNAk nahiz eta duela gutxi aurkitutako molekulak izan, laborategietan erabilera terapeutikoan gero eta gehiago erabiltzen ari diren biologia molekularreko erreminta garrantzitsuak bilakatu dira. Ildo horretatik, RNAi-k emaitza itxaropentsuak erakutsi ditu ikerketa klinikoetan, horien artean infekzio birikoetan, neuroendekapenezko gaixotasunetan edo minbiziaren tratamenduan.

GAKO-HITZAK: RNAi, minbizia, gene-isilpena.

ABSTRACT: *RNA interference often abbreviated as RNAi, is found in many eukaryotes and is a biological process which leads to post transcriptional gene silencing (PTGS) trigger by double stranded RNA (dsRNA) molecules. Downregulating the expression of specific genes plays important roles in essential processes, such as cell development and differentiation, which are of great importance for therapies against cancer and viruses. Currently, RNA interference is being shown as an increasing molecular biology technique due to its great potential in terms of its therapeutic uses. In this sense, RNAi is the subject of clinical research, with promising results in the treatment of viral infections, neurodegenerative diseases and cancer.*

KEYWORDS: RNAi, cancer, gene silencing.

***** ***Harremanetan jartzeko/Corresponding author:*** Imanol Gonzalez-Burguera, Neurozientzia Saila. Farmazia Fakultatea (UPV/EHU), (Leioa, Bizkaia). https://orcid.org/0000-0003-2370-9381, imanol.gonzalezb@ehu.eus

Nola aipatu/How to cite: Lerga Sola, Maitane; Gonzalez-Burguera, Imanol; Saumell-Esnaola, Miquel; García del Caño, Gontzal; López De Jesús, Maider (2026). «siRNA bidezko gene-isilpena: mekanismoak, estrategiak eta aplikazio klinikoak», *Ekaia*, 49, 2026, DOI: https://doi.org/10.1387/ekaia.27226

Jasoa: urtarrilak 21, 2025; Onartua: irailak 26, 2025

ISSN 0214-9001-eISSN 2444-3225 / © UPV/EHU Press

Lan hau *Creative Commons Aitortu-EzKomertziala-PartekatuBerdin 4.0 Nazioartekoa* lizentzia baten mende dago

1. **SARRERA**

Gene-terapiaren ikuspegitik, gaixotasunaren oinarri genetikoa identifikatzea eta modulatzea da giltza. Giza pangenomaren erreferentziek (aniztasuna txertatuz) akats genetikoen detekzioa zehaztu dute, eta horrek RNA-terapien (adib., siRNA) bideragarritasuna handitu du, ohiko tratamenduek sintomak soilik arintzen dituzten testuinguruetan.

Zergatik RNA-terapia «terapia geniko» gisa? Testuinguru honetan, RNA-terapiak terapia genikotzat jotzen dira, zeren eta gene-espresioa zuzenean modulatzen baitute (adib., siRNA bidez mRNA helburua isilaraztea). mRNA-txertoek, berriz, antigeno baten itzulpena bultzatzen dute aldi baterako immunizazioa lortzeko, genoman esku hartu gabe; hortaz, haien xedea eta mekanismoa desberdinak dira.

Medikuntza-arloan, terapia genikoak, gizakien gaixotasunak tratatzeko moduari dagokionez, iraultza zientifiko nabarmena eragin du, batez ere sintomak arintzeko tratamenduak baino ez zeudenean [1]. Medikuntza-arloa goitik behera aldatu du, eta herentziazko gaixotasunak aurreikusteko edo sendatzeko, ohiko terapiekin konparatuta, aukera terapeutiko egokiago bat izatera irits daiteke [2].

Laborategian, material genetikoa manipulatzeko eta zeluletan barneratzeko bideen aurkikuntza garrantzitsua izan da gaixotasunak tratatzeko metodologiarako, batez ere osagai genetikoa duten gaixotasunetan. Izan ere, gaixotasun askoren jatorria gene baten edo gehiagoren funtzionamendu okerra da.

Horrela terapia genikoa sortzen da, zeinaren bidez gaixoaren zeluletan gene bat sartzen den akats genetiko bat zuzentzeko edo funtzio berri bat emateko. Horrela, akats genetikoaren ondorioz sortzen diren proteina akastunek/aberranteek eragindako asaldurak zuzentzea lortzen da [1]. Lan honetan, terapia genikoaren ohiko aplikazioak aurkezten dira, baita haren abantailak eta desabantailak ere.

2. **GENEA ETA PATOLOGIA**

Geneak zelulen nukleoan topatzen diren DNA-sekuentziak dira, eta haien egituran aldaketa minimo bat gertatzen bada (mutazioak, nukleotido baten ordezkapena, etab.), kalte metaboliko edo estruktural larriak gerta daitezke.

Kaltetutako gene horiek zuzendu ahal izateko, lehenik eta behin, patologia eragin duen gene konkretua identifikatu beharko litzateke. Giza Genomaren proiektuari esker, gene asko sekuentziatzea lortu zen (% 20 inguru), eta modu horretan akats genetikoak identifikatu ahal izan ziren. Giza genoma sekuentziaren lehenengo zirriborroa 2001ean argitaratu zen, eta

bertan 30.000-40.000 proteina-sekuentzia kodifikatzaile balioztatu ziren. Gaur egun, gene-terapiaren arloan egindako aurrerapenek (esate baterako, osteoartritisa tratatzeko terapia berriek funtsezko geneak modu seguru eta iraunkorrean adierazten dituztela erakutsi dute), tratamendu genetikoen benetako potentziala agerian jarriz [3].

Identifikazioa burutu ostean, akatsa zuzentzeko, CRISPR-Cas9 teknologiari esker posible da edizio genetikoa eta mikroebakuntzak egitea, genea espresatzen den zelula guztietan ordezkapena edo zuzenketa gauzatzeko. Terapia genikoaren bidez, gene horiek kodifikatzen dituzten proteinen espresioa molda daiteke. Duela urte batzuk, gizakiaren material genetikoa eskuraezina zenez, prozesu hori (geneen zuzenketa edo aldaketa) ezinezkoa zela pentsatzen zen [4].

Terapia mota berri hau gaixotasun askotan erabil daiteke tratamendu gisa, besteak beste, gaixotasun genetiko eta metabolikoetan, neuroendekapenezko asalduretan, minbizian, gaixotasun hematologikoetan, arnasbideetako gaixotasunetan, gaixotasun kardiobaskularretan, gaixotasun infekzioso eta immuneetan [2].

3. TERAPIA GENIKOAREN MEKANISMO MOLEKULAR MOTAK

Kaltetutako geneen zuzenketa egiteko mekanismo molekular bat baino gehiago erabil daitezke, horien artean geneen adizioa, zuzenketa edo ezabaketa [5].

- **Geneen adizioa**: prozedura erabiliena da. Gene funtzionalaren kopia zuzen bat sartzean oinarritzen da. Horrela, gene horrek espresatzen duen proteina modu egokian ekoiztuko da, eta dagokion funtzioa bete ahal izango du [6]. Adibidez: plasmidoak, minizirkuluak edo adeno-lotutako birusen (AAV) espresioa.
- **Geneen zuzenketa**: asaldatuta dagoen genea gene zuzen batez ordezkatzea du helburu. Prozesu hori birkonbinazio homologoaren bidez egin behar da, baina metodo hori ez da oso eraginkorra eta momentuz terapia genikoan ezin da aplikatu [2]. Horren ordez, estrategia berri bat agertu da. Estrategia berri horretan, mutazioa jasan duen nukleotidoa nukleotido egokiaz ordezkatzen da genearen kopia zuzen bat lortzeko. Estrategia berri hori oso interesgarria izan daiteke gaixotasun monogenikoak tratatzeko, gaixotasun horien erantzulea gene baten mutazio puntual bat delako [6]. Adibidez: CRISPR-Cas9, *base editing* edo *prime editing*.
- **Geneen ezabaketa**: gene baten espresioaren isiltzeari edo deuseztatzeari deritzo [2]. Estrategia mota hau gaixotasun infekziosoetan interesgarria izan daiteke, eragile patogenoaren ekintza blokeatu daitekeelako. Gainera, minbizian erabilgarria suerta daiteke proteinen

espresioa alteratuta dagoelako [6]. Adibidez: RNAi/siRNA edo antisense oligonukleotidoak (ASO).

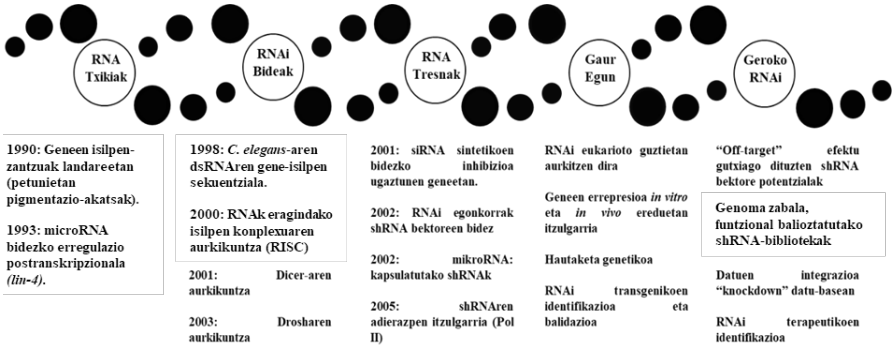
Geneen ezabaketaren bidezko metodoa bideragarria izateko, interferentziazko RNAk erabiltzen dira.

4. INTERFERENTZIAZKO RNA (RNAi): siRNA-REN BIOGENESIA, MEKANISMOAK ETA FUNTZIOAK

Azken 30 urte hauetan, jatorri, egitura eta funtzio bereziak dituzten azido erribonukleiko ezberdinak aurkitu dira [7]. 19-31 nukleotido inguru dituzten RNA-kate bikoitzeko molekulak dira, eta, haien tamaina dela eta, hasiera batean *RNA txikiak* deitzen ziren. RNA-familia berri horrek funtsean bi ezaugarri ditu: ez dituzte proteinarik kodifikatzen, eta post-transkripzionalki RNAm osagarria oztopatzea eta interferitzea dira.

RNAi mota asko deskribatu izan badira ere, haien funtzio biologikoaren, elementu efektorearen, jatorriaren edo/eta egituraren arabera hiru familia nagusitan sailkatu dira: piwi-interacting RNA (piRNA), short interfering RNA (siRNA) eta microRNA (miRNA) [4-9]. Horiek espezie eukarioto askoren lerro germinaletan eta somatikoetan aurkitzen dira, eta han gene endogenoak erregulatzen dituzte edo genoma azido nukleiko inbaditzaileetatik babesten dute. Azkeneko ikerkuntzek haien biogenesibideetan dibertsitate oso zabala erakutsi dute, eta mekanismo erregulatzaile askotan parte hartzen dutela agerian utzi dute [10].

Denen artean, helburu terapeutikora zuzentzeko asmoarekin, batez ere gehien garatu diren ikerkuntza-lerroak siRNAren erabilerara zuzendutakoak izan dira [11-15]. 1. irudian 1990. urtetik egindako aurkikuntzak eta garapenak laburbilduta agertzen dira [16].

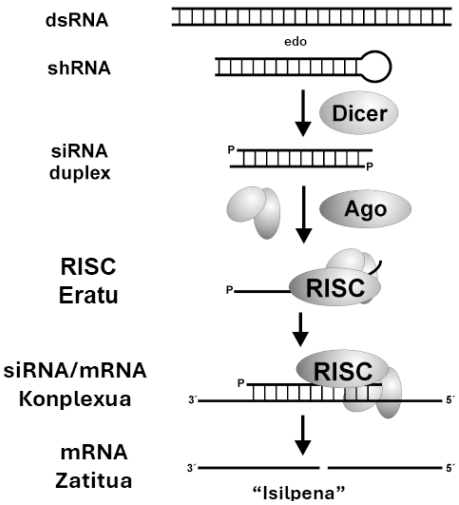


1. irudia. Interferentziazko RNAen (RNAi) aurkikuntza eta garapena. Fellman eta Lowe (2014)-tik moldatua [16].

Organismo askoren zeluletan gertatzen den mekanismoa denez, gizakiarenetan barne, estrategia berri eta oso espezifikoa bihurtu da gene zehatz baten espresio fisiologikoa inhibitzeko [9].

4.1. **siRNAren ekintza mekanismoa**

Kate bikoitzeko RNAk (dsRNA) bitartekatutako geneak isiltzearen eragile nagusia Dicer (RNase III familiako endoribonukleasa) entzima da. Horren bidez, RNA zati txikitan mozten da (ikusi 2. irudia). RNA zati txikiak isiltze-konplexu batekin lotu eta «basepairing» bidez sekuentzia homologoekin (RNA edo DNA) lotzen dira. Konplexuaren eraginaren, proteinaren konposizioaren eta sekuentziaren izaeraren arabera, mRNAren degradazioa, errepresioa edo genomaren aldaketa eragin dezakete. Guztiek genearen espresioaren isilpena eragiten dute [17].



2. irudia. Dicer entzimaren bidez zuzendutako siRNAren sorrera, kate bikoitzeko RNA batetik abiatuta. Matzke eta Matzke (2004) artikulutik moldatua [17].

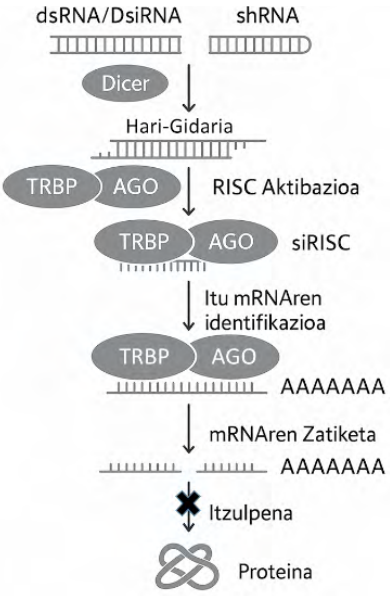
4.2. **siRNAren ekintzaren ondoriozko eragin biologikoak**

siRNAren makineriak maila desberdinetan jarduten du, hala nola kromatinaren birmoldaketan edo transdukzioan eta, ezagunena, gene baten mRNA espezifikoaren inhibizioan eta degradazioan [18].

4.2.1. *Inhibizio geniko postranskripzionala*

Zitoplasman gertatzen den prozesu honetan, Dicer endonukleasak dsRNA/DsiRNA edo shRNA moztu, eta siRNA-duplexak sortzen dira; ja-

rraian, hari-hautapena egiten da (gidari-haria mantendu eta bidaiari-haria degradatu). Gidari-haria TRBP (*Trans-activation Response RNA-binding Protein*) eta AGO (*Argonaute*) proteinek osatutako RISCean (*RNA-induced silencing complex*) kargatzen da (siRISC), eta horrek itu-mRNA ezagutzen du sekuentzia-osagarritasunaren bidez. Osagarritasuna handia denean, AGO2ren PIWI domeinuak (RNase H-antzeko slicer jarduera; endonukleasa aktibitatea duena) mRNA 10/11 posizioen inguruan mozten du; moztu ondoren, zatiak degradatu egiten dira eta itzulpena eteten da. Hori da gene-isilpenaren oinarria (3. irudia) [9].



3. irudia. siRNAk bideratutako inhibizio geniko postranskripzionala. Nakamura eta lankideak (2009) lanetik moldatua [9].

4.2.2. *siRNAk eta kromatinaren birmoldaketa*

2002. urtean siRNAek heterokromatinaren eraketa eragiten dutela deskribatu zen *Schizosaccharomyces pombe* (*S. pombe*) legamian [10]. Horretaz gain, RNAren isilpenak landare, animalia eta ziliatuetan heterokromatinaren eraketa zuzentzen duela ikusi zen [19].

siRNAk kromatinaren birmoldaketan inplikatuta daudela eta maila transkripzionalean eragiten dutela deskribatu da [20]. siRNAren kate bat degradatzen den bitartean, beste kateak transkripzioa inhibitzen duten proteinak bahitzen ditu. siRNAk base osagarrien bidez, DNAren sekuentzia zehatz bat detektatzen dute. DNA sekuentzia hori transkripzioan zehar osa-

tutako mRNAren edo DNAren sekuentzia zehatz bat izan daiteke. Prozesua, berez, konplexuagoa da, baina uste da RISC konplexua, metilasak eta polimerasak inplikatuta daudela [21].

5. **siRNA-ren ERABILERA TERAPEUTIKO POTENTZIALAK**

Geneen espresioaren inhibizioa lortzeko RNAi-aren makineria endogenoa aurkitu izana oso garrantzitsua izan da. Izan ere, horri esker, makineria endogenoa bahitua izan daiteke intereseko geneen espresioa interesen arabera modulatzeko. Horretarako, siRNAren estrategia erabilera ezin hobea bilakatu da. Teorikoki, siRNA bat intereseko edozein genetarako diseina daiteke, genearen espresiorako beharrezkoa den mRNAn oinarrituta. Hori dela eta, ugaztunen geneen ezabapena lortzeko estrategia erabilgarriena bilakatu da, potentziala mugagabea baita.

Gainera, eta are garrantzitsuago, gene batek edo batek baino gehiagok eragindako giza gaixotasun askoren terapiak diseinatzeko RNAi-an oinarritutako inhibizioa aplika daiteke. Gaixotasun genetiko horiek askotarikoak dira: akats genetikoak, gaixotasun birikoak, asaldura autoinmuneak edo minbizi mota desberdinak [21]. RNAi/siRNAri buruzko entsegu klinikoen % 60 inguru minbizira bideratuak izan dira, seguruenik onkopatologien prebalentzia handia eta larritasun klinikoa direla eta [22].

siRNAk diseinatzeko orduan, potentzialki aktiboak, ez-toxikoak eta selektiboak izatea garrantzitsua da. Hori lortzeko, aurretik, siRNA desberdin asko sintetizatu behar dira. Horregatik, eraginkortasun eta espezifikotasun ezaguneko sekuentzien baseak aztertu ondoren, siRNAren diseinua hobetzeko arau batzuk formulatu behar dira.

Lehenik eta behin, RISC konplexuek, siRNAk detektatu ahal izateko, 3’ muturrean 2 nukleotidoko isatsa izan behar dute. Normalean, 2 nukleotido horiek UU edo TT izan ohi dira [23]. Gainera, siRNAren egonkortasun termodinamikoa lortzeko, GC baseen portzentajea kontuan hartu behar da. Kantitaterik egokienak % 30-70 artean egon beharko luke. Azkenik, diseinatutako siRNAek espezifikotasun eta eraginkortasun altua izateko, posizio zehatzetan nukleotido batzuk gehitu edo ken daitezke [8].

siRNAren ekintza-mekanismoa jakinda, gene ezagun baten gehiegizko espresioaren edo eraldatutako espresioaren ondorioz sortutako edozein gaixotasun tratatzeko erabilgarria izango litzateke. Terapia berri honen helburua, beraz, gaixotasunaren eragile den proteinaren transdukzio genikoa inhibitzea edo murriztea izango litzateke. Hori horrela izanda, terapia geniko hori ikertzeko orduan, hainbat itu posible nabarmendu dira: ziklo zelularrean, apoptosian, motilitate zelularrean, seinaleen transdukzioan, estres oxidatiboan, garapenean, etab. [12].

siRNAren erabilera aukera bikaina izan daiteke gene-alterazioekin lotutako gaixotasun sendaezin askotan, baita gaur egun tratamendu eraginkorrik ez dutenetan ere [13-14]. Hala ere, potentzial hori errealitate klinikora eramatea ez da sinplea: gizakiaren genomari buruzko ezagutza handia izan arren, garapena erronka handia da, eta hautagai gutxi iritsi dira entsegu klinikoetara. Hori horrela, RNAi-ren makineria eta ekintza-mekanismoaren gaineko ezagutza gero eta sakonagoak bultzada eman beharko lioke modalitate terapeutiko honi [14].

Ildo berean, azken urteotan siRNA-terapiek emaitza sendoak erakutsi dituzte hainbat patologiatan: heredatutako transtiretina-amiloidosia (hATTR; neuropatiaren progresioa eta sintomak murriztuz), porfiria hepatiko akutua (AHP; eraso-tasa jaitsiz), oxaluria primarioa 1 (PH1; gernu-oxalatoa murriztuz) eta dislipidemia (LDL-C-ren jaitsiera iraunkorra lortuz) [12].

Praktikan, eraginkortasuna lortzeko administrazio-estrategia bi nabarmentzen dira: (i) inokulazio lokala (adib., begi bidezko injekzio intrabitreoa), kontzentrazio txikitan eraginkorra eta efektu lokaletarako egokia; eta (ii) administrazio sistemikoa, non konjugatuak (adib., GalNAc hepatotropikoa) edo nanogarraiatzaileak (adib., lipido nanopartikulak (LNP), polimeroak, peptido/antigorputz-konjugatuak, nanopartikulak) erabiltzen diren. Horri esker, siRNA degradazio entzimatikotik babestea, egonkortasuna eta biobanaketa hobetzea, eta itu-ehun/zelula zehatzetara bideratzea lortzen da; ondorioz, esposizio-profilak eta dosi-egutegiak helburu klinikoaren arabera doitzen dira (lokala: efektu fokala eta toxikotasun sistemiko txikiagoa; sistemikoa: gibela jomuga duten estrategiak [GalNAc] edo beste ehunak [LNP]) [12].

Azkenik, gaur arte erabilera komertzialerako onartutako siRNA-sendagaiak hauek dira: patisiran (2018), givosiran (2019), lumasiran (2020), inclisiran (2021), vutrisiran (2022) eta nedosiran (2023). Lehen onarpen horien ondorengo garapen klinikoaren ibilbidea eta garapen-programen egoera 2021eko eguneratze klinikoan jaso ziren [24], eta berrikuspen panoramiko berriek joera hau 2025era arte zabaldu dela berresten dute [25]. Horren erakusgarri, 2025ean fitusiran/Qfitlia ere onartu da A edo B hemofilia duten pazienteentzat, siRNA-sendagaien esparru klinikoa gehiago hedatuz [26].

5.1. **siRNAren erabilera minbizian**

siRNAetan oinarritutako terapien eraginkortasuna gero eta indar handiagoa hartzen ari da; ikerketa ugarik frogatu dute minbizi-zelulen hazkuntza eta ugalketa inhibi daitezkeela *in vitro* zein *in vivo*. Emaitza sendoak lortu dira eredu preklinikoetan honako minbizi motetan: bularrekoa (TNBC barne; *Triple negative breast cancer*), birikakoa (NSCLC; *Non-*

Small Cell Lung Cancer), koloneko eta ondestekoa, gibeleko kartzinoma hepatozelularra, obariokoa, pankreakoa (bereziki KRAS mutazioak dituztenetan), glioblastoma, prostatakoa eta melanoma [27].

Gainera, kimioterapia jasotzen duten pazienteek tratamenduaren aurkako erresistentziak garatu ditzakete, eta siRNAen erabileraren ondorioz minbizi-zelulek kimioterapiarekiko sentsibilitate handiagoa dutela ikusi da. Horren ondorioz, terapia berri honi gero eta garrantzia gehiago ematen ari zaio minbiziaren kontrako tratamendu gisa [15].

Hala eta guztiz ere, minbizi-zelulen ezaugarriekin (hazkuntza, bizi-raupena, apoptosia, medikamentuekiko erresistentzia, …) erlazionatutako gene funtzionalen miaketa eta identifikazioa ezinbesteko pausoak dira, itu espezifikoagoen kontrako siRNA eraginkorragoak aurkitzeko. Bestetik, geneen inhibizioa lortzeko, siRNAek itu duten tumorera iritsi behar dute, eta hori terapia berri honetarako oztopo garrantzitsua da [15].

Ikerkuntza batzuek siRNAen itu berrien bila erakuntza tumoralaren jatorri genikora jo dute. Ikerkuntza genetikoek adierazi dutenez, minbizien garapenarekin gehien erlazionatu den genea p53 genea da. Gene horrek jasaten dituen aldizkako mutazioengatik, giza minbizien kasuen % 50etan inaktibatuta egoten denez, tumoreen ezabatzaile moduan arituko litzateke. Izan ere, p53 geneak zelularen nukleoan aurkitzen den p53 proteina kodifikatzen du. Proteina horrek zelulen bikoizpenean eta suntsipenean parte hartzen du, eta gene horren mutazioek p53 proteina maila anormalak eragin, eta zelula tumoralen eraketan lagunduko lukete. Beraz, siRNAen erabilerak p53 genean gerta daitekeen mutazioa zuzendu dezake, bere funtzio normala berreskura dezan.

Beste ikerketa batzuek zelula tumoralek eraldatuta dauzkaten funtzio batzuetan bilatu izan dituzte siRNArako itu berriak. Minbizi-zeluletan funtzio batzuk eraldatuta daude, eta horrek tumorearen etengabeko hazkuntza ahalbidetzen du. Funtzio horiek heriotza zelular programatua eta apoptosia dira. Hori guztia horrela izanda, siRNAk baliagarriak izan daitezke tumoreei aurre egiteko. Faktore antiapoptotikoen (Bcl-2, survivina, Akt1…) kontrako siRNA desberdinak diseina daitezke, tumorearen apoptosia eragiteko [28].

Minbizi-zelulek eragiten dituzten aldaketa genetiko horiek ezagutuz gero, ohiko terapiak hobetu, eta terapia berriak gara litezke [15]. Hainbat minbizi tratatzeko asmoarekin, asko izan dira erabilitako siRNAk.

5.2. **siRNAren erabilera infekzio biraletan**

Birus batek bere ostalariaren beharra du bizirauteko. siRNAren terapia, ohiko terapia antibirikoek ez bezala, birusen geneen inhibizioa edo ostalariaren babesa erregulatzen duten geneetan arituko litzateke. Birusak erre-

plikatu ahal izateko gene horien beharra duenez, siRNAren erabilera ideia bikaina izan daiteke infekzio biralen tratamendurako.

5.2.1. *siRNAren erabilera HIESean*

Duela hamarkada batzuk, Hartutako Immunoeskasiaren Sindromearen (HIESaren) tratamenduan terapia antirretrobiralek (TAR) jauzi kualitatibo bat ekarri zuten, baina desabantaila esanguratsuak dituzte (kostua, toxikotasuna, adherentzia eskasa, erresistentziak), eta ez dute gaixotasuna sendatzen. Testuinguru horretan, interferentziazko RNAn (RNAi) oinarritutako siRNA-estrategiek birusaren oinarri molekularrean zuzenean esku hartzeko aukera ematen dute, itu-birusa (Tat, TAR) zein ostalari-faktoreak (CCR5) jomugan hartuta [29]. Azken berrikuspenek erakutsi dute ikuspegi horien oinarri esperimentala sendoa dela, baina klinikan aurrerapena motela izan dela, batez ere entrega, biobanaketa eta immunoaktibazioaren erronkengatik [30, 31].

Historikoki, I. faseko ebidentzia dago gene-transferentziaren bidez siRNA/shRNAren espresioa zelula autologoetan ($CD34^+$HSC/HPC barne [*Hematopoietic Stem Cells / Hematopoietic Progenitor Cells*]) lortzeko. $CD34^+$ zelulak bektore lentibiralekin eraldatu ziren, hiruko modulu batekin: shRNA anti-tat/rev, TAR decoy eta anti-CCR5 erribozima. Segurtasuna onargarria izan bazen ere, zelula-eraldaketako tasa txikia eta eraginkortasun mugatua lortu ziren. Hortaz, HIESaren kasuan ez zen II/III. fasera iritsi [32]. Gaur egun, ahaleginak bi norabidetan biltzen dira: aldaketa-kimikoak eta banaketa-/entrega-sistemak (adib., LNP bidezko entrega selektiboa) hobetzea, eta edizio genetikoarekin (adib., CCR5 helburuduna) estrategia konbinatuak aztertzea, iraunkortasuna eta eraginkortasuna hobetzeko [33, 34].

5.3. **Neuroendekapenezko gaixotasunak**

NSZ helburudun siRNA-terapiak oraindik ez daude onarturik, eta garapen klinikoa fase goiztiarrean dago. Erronka nagusiak dira hesi hematoentzefalikoa (HHE) gainditzea eta itu-zeluletara heltzea nahikoa intentsitatez eta iraupenez; horregatik, bi ildo nagusi baliatzen dira: (i) administrazio lokala (bereziki intrabentrikularra eta intrabitreoa) eta (ii) garun-sarrera errazteko diseinatutako garraiatzaileak. Azken multzo horretan, siRNA bikoitzeko arkitekturak (di-siRNA) dosi bakarreko administrazio intratekalez (likido zefalorrakideoan, CSF) garun osoan isilpen iraunkorra lortu du karraskarietan eta gizaki ez diren primateetan [35]. Halaber, azken diseinuek (C16 lipido-konjugazioa eta siRNA bikoitz programagarriak) NSZn bi gene-helbururen modulazio eraginkorra ahalbidetu dutela erakutsi dute [36]. Bestetik, 1 transferrin-hartzailean (TfR1) oinarritutako garunsarbidetzaileek (shuttle peptidiko/antigorputz-lotzaileak) HHE zeharka-

tzeko estrategia frogatuak eskaini dituzte (oraingoz batez ere ASOetarako), eta siRNA-konjugatu esperimentaletan ere potentzial handia erakusten ari dira [37-38].

Orain arte gizakietan bildutako datuek erakusten dute QPI-1007k (CASP2; injekzio intrabitreoa) II/III. fasean segurtasun onargarria izan duela, baina helburu nagusia ez duela bete [39]. Mivelsiran/ALN-APP (APP; administrazio intratekala) I. fasean dago, eta CSF biomarkatzaileetan (sAPPα/β, Aβ40/42) jaitsiera dosi-mendekoak ikusi dira [40]. LY3954068 (MAPT/tau) ere I. fasean ari da, Alzheimer goiztiarrerako, segurtasuna eta PK/PD ebaluatzen [41]. Oro har, siRNA-NSZ programak aurrera doaz, baina eraginkortasun kliniko sendoa oraindik frogatu behar da hurrengo faseetan.

6. **siRNA-ren ETORKIZUNERAKO ERRONKA NAGUSIAK**

siRNAen garapenak gaixotasun asko sendatzeko edo tratatzeko aukera eman dezakeela uste izan arren, siRNAetan oinarritutako hainbat erronka sortu dira:

- **Helburutik kanpo sortutako efektuak:** hasiera batean siRNAk helburu espezifiko bat suntsitzeko diseinatuak daude. Halere, hainbat ikerketak demostratu dute helburu ez diren geneak ere isilarazi ahal dituztela [6]. Hortaz, siRNAetan oinarritutako terapien garapenean, helburutik kanpo isiltzen diren geneak kontuan izan behar ditugu. Horretarako, hautagai izan daitezkeen siRNA guztiak sakontasunez aztertu behar dira, itu ez diren proteinen espresioan eragiten duten ala ez jakiteko [21].
- **Eraginkortasuna:** azken urteetan siRNA batzuk eredu esperimentaletan erabiliak izan dira eta arrakasta izan dute. Modelo preklinikoetan lortutako datuek siRNA berriak sintetizatzeko aukera eman dute. Ugaztunen zeluletara zuzendutako siRNAen artean, proportzio txiki batek bakarrik erakutsi du funtzionalitatea. Ausaz aukeratutako siRNAen artean, % 58-78k isilpena eragiten zuten % 50etik gorako eraginkortasunarekin, eta % 11-18k bakarrik lortu zuten % 90-95eko isilpena eragitea [8].
- **Itu-zeluletara iristeko erronka:** siRNAk helburu-zeluletara heltzea zaila da, hainbat mailatako oztopo biologikoak gainditu behar direlako. Batetik, glomerulutik erraz iragazten dira, eta horren ondorioz giltzurrunetik azkar kanporatzen dira. Bestetik, nukleasen bidez erraz degradatzen dira, eta horregatik siRNAen erdibizitza oso laburra da (15 minutu eta 1 ordu bitartekoa). Ondorioz, iraupen labur horrek siRNAen aplikazio terapeutikoak nabarmen mugatzen ditu [8].

Alabaina, siRNAetan aldaketa kimiko batzuk eginez gero, degradaziotik babestu, proteinekiko lotura handitu eta erdibizitza plasmatikoa luzatu daiteke. Beste aukera bat nanogarraiatzaileen erabilera izan daiteke giltzurrun-iraizketa azkarretik eta nukleasen zatiketatik babesteko [8]. siRNA hauek, eraginkorrak izateko, plasman bizirauteaz gain, intereseko geneak espresatzen dituzten ehun mota guztietako zeluletara iritsi behar dute [21].

Bestetik, halakoen karga negatiboak, pisu handiak eta molekulen tamainak mintza zeharkatzeko difusio pasiboa zailtzen dute. Hortaz, zelulek barneratzeko bide nagusia endozitosia da [8]. Nahiz eta zitoplasmara iritsi, zelula barneko RNAek degrada ditzakete, eta RISC konplexuak ezagutu eta haiei akoplatu behar zaizkie eraginkortasun handiz [21].

Potentzia altuko isilpen-agente batek ez du ezertarako balio, ezin bada dagokion zelula, ehun edo organora iritsi. *In vivo* metodoaren bidez materialaren entrega egitea da eragozpen nagusia. Birusetan oinarritutako administrazio-sistemak eraginkorrak izan arren, hainbat arazo edo oztopo dituzte; besteak beste, mutazioak induzitu ditzakete, erantzun immuneak piztu edota hanturazko erantzunak aktibatu. Arazo horri aurre egiten saiatzeko, biralak ez diren beste administrazio-sistema batzuk garatzen saiatu dira: zuzenean siRNAen aldaketa kimikoa eginez, liposomen formulazioak eratuz eta nanopartikulak sortuz [21].

- **Toxizitatea:** oligonukleotidoetan oinarritutako terapia guztiek *off-target* eraginak izan ditzakete, hau da, helburu ez diren gene edo sekuentzietan eragitea, eta horrek nahigabeko toxikotasuna eragin dezake. Dosi terapeutikoa mugatzen duen faktore nagusietako bat hori da. Arazo hori saihesteko eta tarte terapeutikoa (*therapeutic window*) zabaldu ahal izateko, lehen urratsa potentzia handiko eta espezifikotasun handiko RNAi-sekuentzia bat identifikatzea da [35].
- **Erantzun immunearen aktibazioa**: hainbat ikerketak siRNAek berezko immunitatea induzitu dezaketela erakutsi dute, kontzentrazio baxuetan baldin bada ere. Izan ere, RNAi berezko erantzun immunearen erantzunean parte hartzen duen mekanismoa da, eta, horri esker, zelulak birus eta patogenoetatik babesten ditu [8].

siRNAk berezko immunitate-hartzaileak aktiba ditzake, hanturazko erantzunak eta interferoiaren ekoizpena eraginez. Mekanismo horretan, *Toll-Like Receptor* (TLR) familiako hartzaileak (TLR3 eta TLR7) eta RIG-I proteina dira funtsezko aktibatzaileak. Arazo horri aurre egiteko, aldaketa kimiko espezifikoak garatu dira, eta horiei esker siRNAk hartzaileetara lotzeko eta haiek aktibatzeko duen ahalmena nabarmen murriztu da. Hala ere, oligonukleotidoetan oinarritutako terapia askotan sistema im-

munea neurri batean aktibatzen da oraindik, eta horrek bigarren mailako efektuak eragin ditzake, hala nola ziztada-tokiko erreakzioak, zitokinen indukzioa, konplementuaren aktibazioa edo gripeak eragindako antzeko sintomak [42].

7. ONDORIOAK

siRNAk etorkizunean gaixotasun desberdin asko tratatzeko aukera terapeutiko bat izan daitezke. Horretarako, gaixotasun horien etiopatologia jakitea ezinbestekoa da. Horrela, siRNAren itu terapeutikoak identifikatu eta horietara zuzendutako siRNAk diseinatu ahal izango dira.

RNAi-n oinarritutako molekulek abantaila garrantzitsu bat aurkezten dute, farmako molekular txikien eta antigorputz monoklonalekin alderatuta: tamaina oso txikia daukate. Horrelako ezaugarriek siRNAn oinarritutako gaixotasunen tratamendua ikertu nahi duten ikertzaile eta farmazia-enpresa asko erakarri dituzte. Aurreko bi hamarkadetan aurrerapen handiak egin dira siRNAk garatzeko oztopo ugarien inguruan (adibidez, administrazioa, potentzialak, itu-zeluletara iristea, immunogenizitatea, etab.).

Halere, etorkizuneko terapia erreal bihurtzeko, zelulaz kanpoko oztopoak gainditu eta itu-zeluletan sartzea lortu behar da. Horretarako, lipido-nanopartikula (LNP), polimero eta peptido/antigorputz-konjugatuetan oinarritutako entrega-sistemak, garatzen ari dira, baita ligando-konjugazioak ere (adib., GalNAc). *In vivo* emaitzek zenbait testuingurutan isilpen eraginkorra erakutsi duten arren, segurtasun-profilean eta dosifikazio bakoitzean fintzen jarraitu behar da.

Teknika horien bidez, aukera berriak eskainiko dira RNAi-terapeutikaren garapen zabalerako, batez ere molekula txikien edo antigorputzen planteamendu tradizionaletarako eskuraezinak diren helburuetarako. Patisiranaren arrakastarekin, bereziki klinikoki ikertutako terapia aurreratu batzuen etengabeko aurrerapenean, siRNAk aukera paregabea izango dira datozen urteetan.

ESKER ONAK

Egileek Zientzia eta Berrikuntza Ministerioaren (PID2022-138266NB-I00) eta Eusko Jaurlaritzaren (IT1620-22) dirulaguntzak jaso dituzte.

BIBLIOGRAFIA

[1] MALAKONDAIAH, S., Julius, A., PONNAMBALAM, D., GUNTHOTI, S. S., ASHOK, J., KRISHANA, P. S., REBECCA, J. 2024. «Gene silencing by RNA interference: a review». *Genome Instability & Disease,* **5**, 225-241. DOI: 10.1007/s42764-024-00135-7

[2] SANTALLA, M., FESSER, E., ASAD, A. S., ACOSTA, D., HARNICHAR, E., FERRERO, P. V. 2013. «Terapia génica: desde los extractos y las píldoras a las pociones de ADN». *Archivos de Medicina*, **9**, 1-9. DOI: 10.3823/098

[3] LIAO, W. W., ASRI, M., EBLER, J., DOERR, D., HAUKNESS, M., HICKEY, G., LU, S., LUCAS, J. K., MONLONG, J., ABEL, H. J., BUONAIUTO, S., CHANG, X. H., CHENG, H., CHU, J., COLONNA, V., EIZENGA, J. M., FENG, X., FISCHER, C., FULTON. R. S., GARG, S., GROZA, C., GUARRACINO, A., HARVEY, W. T., HEUMOS, S., HOWE, K., JAIN, M., LU, T. Y., MARKELLO, C., MARTIN, F. J., MITCHELL, M. W., MUNSON, K. M., MWANIKI, M. N., NOVAK, A. M., OLSEN, H. E., PESOUT, T., PORUBSKY, D., PRINS, P., SIBBESEN, J. A., SIRÉN, J., TOMLINSON, C., VILLANI, F., VOLLGER, M. R., ANTONACCI-FULTON, L. L., BAID, G., BAKER, C. A., BELYAEVA, A., BILLIS, K., CARROLL, A., CHANG, P. C., CODY, S., COOK, D. E., COOK-DEEGAN, R. M., CORNEJO, O. E., DIEKHANS, M., EBERT, P., FAIRLEY, S., FEDRIGO, O., FELSENFELD, A. L., FORMENTI, G., FRANKISH, A., GAO, Y., GARRISON, N. A., GIRON, C. G., GREEN, R. E., HAGGERTY, L., HOEKZEMA, K., HOURLIER, T., JI, H. P., KENNY, E. E., KOENIG, B. A., KOLESNIKOV, A., KORBEL, J. O., KORDOSKY, J., KOREN, S., LEE, H., LEWIS, A. P., MAGALHÃES, H., MARCO-SOLA, S., MARIJON, P., MCCARTNEY, A., MCDANIEL, J., MOUNTCASTLE, J., NATTESTAD, M., NURK, S., OLSON, N. D., POPEJOY, A. B., PUIU, D., RAUTIAINEN, M., REGIER, A. A., RHIE, A., SACCO, S., SANDERS, A. D., SCHNEIDER, V. A., SCHULTZ, B. I., SHAFIN, K., SMITH, M. W., SOFIA, H. J., ABOU TAYOUN, A. N., THIBAUD-NISSEN, F., TRICOMI, F. F., WAGNER, J., WALENZ, B., WOOD, J. M. D., ZIMIN, A. V., BOURQUE, G., CHAISSON, M. J. P. , FLICEK, P., PHILLIPPY, A. M., ZOOK, J. M., EICHLER, E. E., HAUSSLER, D., WANG, T., JARVIS, E. D., MIGA, K. H., GARRISON, E., MARSCHALL, T., HALL, I. M., LI, H., PATEN, B. 2023. «A draft human pangenome reference». *Nature*. **617**, 312-324. DOI: 10.1038/s41586-023-05896-x

[4] AUSTIN-WARD, E. D., VILLASECA, G.C. 1998.«La terapia génica y sus aplicaciones». *Revista Médica de Chile,* **126**, 838-845. DOI: 10.4067/S0034-98871998000700013

[5] MAEDER, M. L., & GERSBACH, C. A. 2016. «Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy». *Molecular Therapy : The Journal of the American Society of Gene Therapy*, **24**, 430-446. DOI: 10.1038/mt.2016.10

[6] COX, D. B., PLATT, R. J., & ZHANG, F. 2015. «Therapeutic genome editing: prospects and challenges». *Nature medicine*, **21**, 121-131. DOI: 10.1038/nm.3793

[7] VARANI, G. 2015. «Twenty years of RNA: the discovery of microRNAs». *RNA (New York, N.Y.)*, **21**, 751-752. DOI: 10.1261/rna.050237.115

[8] QI, H. Y., ZHANG, D. D., LIU, B., CHEN, J. Y., HAN, D., WANG, D. 2024. «Leveraging RNA interference technology for selective and sustainable crop protection». *Frontiers in Plant Science*. **15**, 1502015. DOI: 10.3389/fpls.2024.1502015

[9] YUKO NAKAMURA LÓPEZ, MARÍA DE LOURDES ESPARZA AGUILAR, LORENA GARRIDO OLVERA, VÍCTOR MIGUEL PALOMAR OLGUÍN, JUAN CARLOS GALLARDO-PÉREZ. 2009. «Aplicaciones terapéuticas del ARN de interferencia». *Bioquimia*, **34**, 26-36.

[10] LEE, M. 2023. «Machine learning for small interfering RNAs: a concise review of recent developments». *Frontiers in Genetics*. **14**, 1226336. DOI: 10.3389/fgene.2023.1226336

[11] KANASTY, R. L., WHITEHEAD, K. A., VEGAS, A. J., ANDERSON, D. G. 2012. «Action and Reaction: The Biological Response to siRNA and Its Delivery Vehicles». *Molecular Therapy*, **20**, 513-524. DOI: 10.1038/mt.2011.294

[12] SEHGAL, I., EELLS, K., HUDSON, I. 2024. «A Comparison of Currently Approved Small Interfering RNA (siRNA) Medications to Alternative Treatments by Costs, Indications, and Medicaid Coverage». *Pharmacy (Basel),* **12**, 58. DOI: 10.3390/pharmacy12020058

[13] HUANG, Y. 2017. «Preclinical and clinical advances of GalNAc-decorated nucleic acid therapeutics». *Molecular Therapy-Nucleic Acids,* 6,116-132. DOI: 10.1016/j.omtn.2016.12.003

[14] LARES, MONICA R. ROSSI, JOHN J. OUELLET, DOMINIQUE L. 2010. «RNAi and small interfering RNAs in human disease therapeutic applications». *Trends in Biotechnology*, **28**, 570-579. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.07.009

[15] SAZADEH, H., ORUJI, F., SHABANI, S., BEHROOZI, J., NASIRI, H., ISAZADEH, A., AKBARI, M. 2023. «Advances in siRNA delivery approaches in cancer therapy: challenges and opportunities». *Molecular Biology Reports,* **50**, 9529-9543. DOI: 10.1007/s11033-023-08749-y

[16] FELLMANN, C., & LOWE, S. W. 2014. «Stable RNA interference rules for silencing». *Nature Cell Biology*, **16**, 10-18. DOI: 10.1038/ncb2895

[17] MATZKE, M. A., MATZKE, A. J. M. 2004. «Planting the Seeds of a New Paradigm». *PLOS Biology,* **2**, e133. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020133

[18] VALENCIA-SANCHEZ, M. A., LIU, J., HANNON, G. J., PARKER, R. 2006. «Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs». *Genes & Development*, **20**, 515-524. DOI: 10.1101/gad.1399806

[19] VOLPE, T., & MARTIENSSEN, R. A. 2011. «RNA interference and heterochromatin assembly». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **3**, a003731. DOI: 10.1101/cshperspect.a003731

[20] KAWASAKI, H., TAIRA, K., MORRIS, K. V. 2005.«siRNA induced transcriptional gene silencing in mammalian cells». *Cell Cycle*, **4**, 442-448. DOI: 10.4161/cc.4.3.1520

[21] CHOKWASSANASAKULKIT, T., OTI, V. B., IDRIS, A., MCMILLAN, N. A. 2024. «SiRNAs as antiviral drugs - Current status, therapeutic potential and challenges». *Antiviral Research,* **232**:106024. DOI: 10.1016/j.antiviral.2024.106024

[22] PAUL, A., MURALIDHARAN, A., BISWAS, A., KAMATH, B. V., JOSEPH, A., ALEX, A. T. 2022. «siRNA therapeutics and its challenges: Recent advances in effective delivery for cancer therapy». *OpenNano,* **7**, 100063. DOI: 10.1016/j.onano.2022.100063

[23] MOTAMEDI, H., ARI, M. M., ALVANDI, A., ABIRI, R. 2024. «Principle, application and challenges of development siRNA-based therapeutics against bacterial and viral infections: a comprehensive review». *Frontiers in Microbiology,* **15**, 1393646. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1393646

[24] ZHANG, M. M., BAHAL, R., RASMUSSEN, T. P., MANAUTOU, J. E., ZHONG, X. B. 2021. «The growth of siRNA-based therapeutics: Updated clinical studies». *Biochemical Pharmacology, 189*, 114432. DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114432

[25] LIU, M., WANG, Y., ZHANG, Y., HU, D., TANG, L., ZHOU, B., YANG, L. 2025. «Landscape of small nucleic acid therapeutics: moving from the bench to the clinic as next-generation medicines». *Signal Transduction and Targeted Therapy,* **10**, 73. DOI: 10.1038/s41392-024-02112-8

[26] YOUNG, G., KAVAKLI, K., KLAMROTH, R., MATSUSHITA, T., PEYVANDI, F., PIPE, S. W., RANGARAJAN, S., SHEN, M. C., SRIVASTAVA, A., SUN, J., TRAN, H., YOU, C. W., ZÜLFIKAR, B., MENAPACE, L. A., ZHANG, C., SHEN, Y., PUURUNEN, M., DEMISSIE, M., KENET, G. «Safety and efficacy of a fitusiran antithrombin-based dose regimen in people with hemophilia A or B: the ATLAS-OLE study». *Blood,* **145**, 2966-2977. DOI: 10.1182/blood.2024027008

[27] GAO, H., CHENG, R., SANTOS, H. A. 2021. «Nanoparticle-mediated siRNA delivery systems for cancer therapy». *View,* **2**, e20200111. DOI: 10.1002/VIW.20200111

[28] YANG, C., LIN, Z. I., ZHANG, X., XU, Z., XU, G., WANG, Y. M., TSAI, T. H., CHENG, P. W., LAW, W. C., YONG, K. T., CHEN, C. K. 2024. «Recent Advances in Engineering Carriers for siRNA Delivery». *Macromolecular Bioscience,* **24**, e2300362. DOI: 10.1002/mabi.202300362

[29] SUBRAMANYA, S., KIM, S., MANJUNATH, N., SHANKAR, P. 2010. «RNA interference-based therapeutics for human immunodeficiency virus HIV-1 treatment: synthetic siRNA or vector-based shRNA». *Expert Opinion on Biological Therapy*, **10**, 201-213. DOI: 10.1517/14712590903448158

[30] CHOKWASSANASAKULKIT, T., OTI, V. B., IDRIS, A., MCMILLAN, N. A. 2024. «SiRNAs as antiviral drugs - Current status, therapeutic potential and challenges». *Antiviral Research,* **232**, 106024. DOI: 10.1016/j.antiviral.2024.106024

[31] AGBOSU, E. E., LEDGER, S., KELLEHER, A. D., WEN, J., AHLENSTIEL, C. L. 2022. «Targeted Nanocarrier Delivery of RNA Therapeutics to Control HIV Infection». *Pharmaceutics,* **14**, 1352. doi: 10.3390/pharmaceutics14071352

[32] DIGIUSTO, D. L., KRISHNAN, A., LI, L., LI, H., LI, S., RAO, A., MI, S., YAM, P., STINSON, S., KALOS, M., ALVARNAS, J., LACEY, S. F., YEE, J. K., LI, M., COUTURE, L., HSU, D., FORMAN, S. J., ROSSI, J. J., ZAIA, J. A. 2010. «RNA-

based gene therapy for HIV with lentiviral vector-modified CD34(+) cells in patients undergoing transplantation for AIDS-related lymphoma». *Science Translational Medicine,* **2**, 36ra43. DOI: 10.1126/scitranslmed.3000931

[33] Bowden-Reid, E., Moles, E., Kelleher, A., Ahlenstiel, C. 2025. «Harnessing antiviral RNAi therapeutics for pandemic viruses: SARS-CoV-2 and HIV». *Drug Delivery and Translational Research,* **15**, 2301-2322. DOI: 10.1007/s13346-025-01788-x

[34] Anand, P., Zhang, Y., Patil, S., Kaur, K. 2025. «Metabolic Stability and Targeted Delivery of Oligonucleotides: Advancing RNA Therapeutics Beyond The Liver». *Journal of Medical Chemistry,* **68**, 6870-6896. DOI: 10.1021/acs.jmedchem

[35] Alterman, J. F., Godinho, B. M. D. C., Hassler, M. R., Ferguson, C. M., Echeverria, D., Sapp, E., Haraszti, R. A., Coles, A. H., Conroy, F., Miller, R., Roux, L., Yan, P., Knox, E. G., Turanov, A. A., King, R. M., Gernoux, G., Mueller, C., Gray-Edwards, H. L., Moser, R. P., Bishop, N. C., Jaber, S. M., Gounis, M. J., Sena-Esteves, M., Pai, A. A., Difiglia, M., Aronin, N., Khvorova, A. 2019. «A divalent siRNA chemical scaffold for potent and sustained modulation of gene expression throughout the central nervous system». *Nature Biotechnology,* **37**, 884-894. DOI: 10.1038/s41587-019-0205-0

[36] Belgrad, J., Tang, Q., Hildebrand, S., Summers, A., Sapp, E., Echeverria, D., O'Reilly, D., Luu, E., Bramato, B., Allen, S., Cooper, D., Alterman, J., Yamada, K., Aronin, N., Difiglia, M., Khvorova, A. 2024. «A programmable dual-targeting siRNA scaffold supports potent two-gene modulation in the central nervous system». *Nucleic Acids Research,* **52**, 6099-6113. DOI: 10.1093/nar/gkae368

[37] Barker, S. J., Thayer, M. B., Kim, C., Tatarakis, D., Simon, M. J., Dial, R., Nilewski, L., Wells, R. C., Zhou, Y., Afetian, M., Akkapeddi, P., Chappell, A., Chew, K. S., Chow, J., Clemens, A., Discenza, C. B., Dugas, J. C., Dwyer, C., Earr, T., Ha, C., Ho, Y. S., Huynh, D., Lozano, E. I., Jayaraman, S., Kwan, W., Mahon, C., Pizzo, M., Robles-Colmenares, Y., Roche, E., Sanders, L., Stergioulis, A., Tong, R., Tran, H., Zuchero, Y., Estrada, A. A., Gadkar, K., Koth, C. M. M., Sanchez, P. E., Thorne, R. G., Watts, R. J., Sandmann, T., Kane, L. A., Rigo, F., Dennis, M. S., Lewcock, J. W., Devos, S. L. 2024. «Targeting the transferrin receptor to transport antisense oligonucleotides across the mammalian blood–brain barrier». *Science Translational Medicine*, **16**, eadi2245. DOI: 10.1126/scitranslmed.adi2245

[38] Fu, T., Fan, F., Lin, Y., Mo, Z., Zhou, M., Ye, X., Cai, X., Zhang, Z., Qian, C., Liu, X. 2025. «TfR1-Binding Peptide Conjugation Facilitates Robust and Specific siRNA Delivery to the Central Nervous System». *Bioconjugate Chemistry,* **36**, 1377-1383. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5c00225

[39] Levin, L. A., Bhatti, M. T., Klier, S., Morgenstern, R., Szanto, D., Miller, N. R., Kupersmith, M. J.; Quark Naion Study Group. 2025. «A

Randomized Sham-Controlled Phase 2/3 Trial of QPI-1007 for Acute Non-arteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy». *Ophthalmology, Online ahead of print,* DOI: 10.1016/j.ophtha.2025.07.039

[40] COHEN, S., DUCHARME, S., BROSCH, J. R., VIJVERBERG, E. G. B., SOSTELLY, A., GOTETI, S., FARRUGIA, L., AVBERSEK, A., KASPAR, C. & MUMMERY, C J. 2024. «Single ascending dose results from an ongoing Phase 1 study of mivelsiran (ALN-APP), the first investigational RNA interference therapeutic targeting amyloid precursor protein for Alzheimer's disease». *Alzheimer's Dementia,* **20**: e084521. DOI: https://doi.org/10.1002/alz.084521

[41] ELI LILLY AND COMPANY. 2025. «A First-In-Human Study of LY3954068 in Participants With Early Symptomatic Alzheimer's Disease». *ClinicalTrials.gov* Identifier: NCT06297590 (accessed 12-Sep-2025).

[42] ANDERS WITTRUP, JUDY LIEBERMAN. 2015. «Knocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics». *Nature Reviews. Genetics*, **16**, 543-552. DOI: 10.1038/nrg3978