

# siRNA Bidezko Gene-Isilpena: Mekanismoak, Estrategiak eta Aplikazio Klinikoak

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

Maitane Lerga Sola, Imanol Gonzalez-Burguera<sup>2</sup>, Miquel Saumell-Esnaola<sup>3</sup>, Gontzal García del Caño<sup>2</sup>, Maider López de Jesús<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Araba

<sup>2</sup>Neurozientzia Saila, Farmazia Fakultatea. UPV/EHU

<sup>3</sup>Farmakologia Saila, Farmazia Fakultatea. UPV/EHU


**LABURPENA:** Interferentziatzko 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 honek garrantzi handia edukiko du minbizia eta birusen aurkako defentsan. Gaur egun, interferentziatzko 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 emaitza itxaropentsuak erakutsi ditu ikerketa klinikoetan, horien artean, infekzio birikoak, neuroendekapenezko gaixotasunetan edota minbiziaren tratamenduan.

**GAKO-HITZAK:** RNAi, minbizia, isilpen genikoa.

**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

1

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

**Nola aipatu / How to cite:** Lerga Sola, Maitane; Gonzalez-Burguera, Imanol; Saumell-Esnaola, Miquel; García del Caño, Gontzal; López de Jesús, Maider (2025). <<siRNA Bidezko Gene-Isilpena: Mekanismoak, Estrategiak eta Aplikazio Klinikoak>>, Ekaia, 49, xx-xx. (<https://doi.org/10.1387/ekaia.27226>)

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

ISSN 0214-9001-e-ISSN 2444-3225 / © 2025 UPV/EHU



Obra Creative Commons Atribución 4.0 Internacional-en lizentziapean dago

## 1. SARRERA

Gene-terapiaren ikuspegitik, gaixotasunaren oinarri genetikoa identifikatzea eta haren modulazioa da giltza. Giza pangenomaren erreferentziek (aniztasuna txertatuz) akats genetikoaren 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 modulatu baitute (adib., siRNA bidez mRNA helburua isilaraztea). mRNA txertoek, berriz, antigeno baten itzulpena bultzatzen dute aldi baterako immunizazioa lortzeko, genomatik esku hartu gabe; hortaz, haien xedea eta mekanismoa desberdinak dira.

Terapia genikoak medikuntza arloan, gizakien gaixotasunak tratatzeko moduari dagokionez iraultza zientifiko nabarmena eragin du, batez ere zeinetan sintomak arintzeko tratamenduak baino ez zeuden [1]. Medikuntza arloa goitik behera aldatu du eta herentziazko gaixotasunak aurreikusteko edota sendatzeko, ohiko terapiekin konparatuta, aukera terapeutiko egokiago bat izatera iritsi daiteke [2].

Laborategian, material genetikoa nola manipulatu eta zeluletan nola barneratu daitekeen aurkikuntza garrantzitsua eragin du gaixotasunak tratatzeko metodologian, batez ere, osagai genetikoa duten gaixotasunetan. Izan ere, gaixotasun askoren jatorria, gene baten edo gehiagoren funtzionamendu okerra da.

Horrela terapia genikoa sortzen da, non gaixoaren zeluletan gene bat sartzean datza akats genetiko bat zuzentzeko edo funtzio berri bat emateko. Horrela, akats genetikoaren ondorioz sortzen diren proteina akastunek/aberrantek eragindako asaldurak zuzentzea lortzen da [1]. Lan honetan, terapia genikoaren ohiko aplikazioak baita bere abantailak eta desabantailak aurkezten dira.

## 2. GENE ETA PATOLOGIA

Geneak, zelulen nukleoan topatzen diren DNA sekuentziak dira eta haien egituraren aldaketa minimo bat gertatzen bada ere (mutazioak, nukleotido baten ordezkapena, etab.), kalte metaboliko edo estruktural larriak eragin ditzake.

Kaltetutako gene hauek zuzendu ahal izateko, lehenik eta behin, patologia eragin duen gene konkretua identifikatu beharko litzateke. Gizaki 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 terapia arloan egindako aurrerapenek (esate baterako, osteoartritis tratatzeko terapia berriek funtsezko geneak modu seguru eta iraunkorrean adierazten dituztela erakutsi dute), tratamendu genetikoaren benetako potentziala agerian jarritz [3].

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

Terapia mota berri hau, gaixotasun askotan erabil daiteke tratamendu bezala, horien artean, gaixotasun genetiko eta metabolikoak, neuroendekapenezko asaldurak, minbizia, gaixotasun hematologikoak, arnas-gaixotasunak, gaixotasun kardiobaskularrak, gaixotasun infekzioso eta immuneak aurki ditzakegu [2].

### 3. TERAPIA GENIKOAREN MEKANISMO MOLEKULAR MOTAK

Kaltetutako gene hauen zuzenketa burutzeko mekanismo molekular ezberdinak 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 Adenotutako birusen (AAV) adierazpena.

**-Geneen zuzenketa:** asaldatuta dagoen genea gene zuzen batengatik ordezkatzeari du helburu. Prozesu hori aurrera eramateko, birkonbinazio homologoaren bidez egin behar da, baina metodo hau ez da oso eraginkorra eta momentuz terapia genikoan ezin da aplikatu [2]. Horren ordez, estrategia berri bat agertu da. Estrategia berri honetan, mutazioa jasan duen nukleotidoa, nukleotido egokiarengatik ordezkatzeari da genearen kopia zuzen bat lortuz. Estrategia berri hau oso interesgarria izan daiteke gaixotasun monogenikoak tratatzeko, gaixotasun hauen erantzulea gene baten mutazio puntual bat delako [6]. Adibidez: CRISPR-Cas9, *base editing* edo *prime editing*.

**-Geneen ezabaketa:** gene baten espresioaren isiltzeari edo deuseztatzeari deritza [2]. Estrategia mota hau gaixotasun infektiosoetan interesgarria izan daiteke, eragile patogenoaren ekintza blokeatu daitekeelako. Gainera, minbizian erabilgarria suertatu daiteke proteinen espresioa aldatuta dagoelako [6]. Adibidez: RNAi/siRNA edo antisense oligonukleotidoak (ASO).

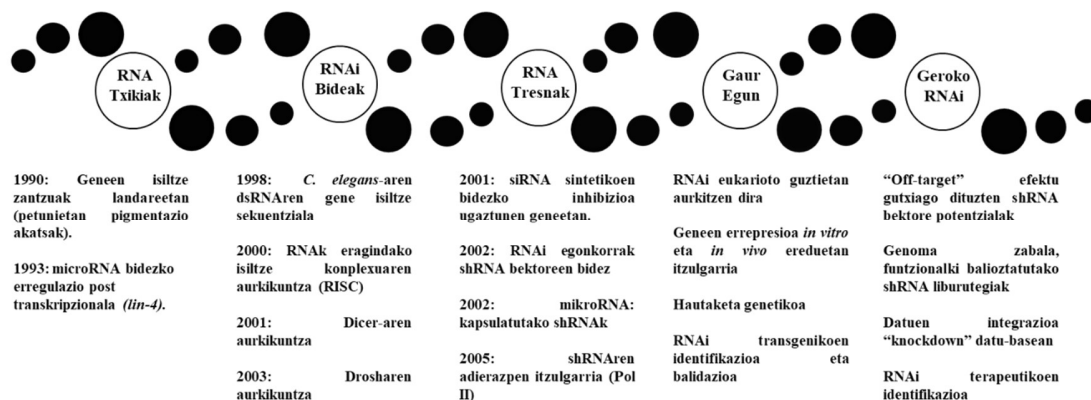
Geneen ezabaketaren bidezko metodoa bideragarria izateko, interferentziako RNA-ak erabiltzen dira.

#### **4. INTERFERENTZIA RNA (RNAi): siRNAREN 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 bere tamaina dela eta, hasiera batean *RNA txikiak* deitzen ziren. RNA familia berri honek funtsean bi ezaugarri ditu; lehenengoa, ez dituzte proteinarik kodifikatzen eta bigarrena, post-transkripzionalki RNAm osagarria oztopatzea edo interferitzea dira.

RNAi mota desberdin asko deskribatu izan badira ere, haien funtzio biologikoa, elementu efektorea, jatorria edo/eta egituraren arabera hiru familia nagusietan sailkatu dira: piwi-interacting RNA (piRNA), short interfering RNA (siRNA) eta microRNA (miRNA) [4-9]. Hauek, espezie eukarioto askoren lerro germinaletan eta somatikoetan aurkitzen dira, eta han gene endogenoak erregulatzen edo genoma azido nukleiko inbaditzaileen aurka babesten dute. Azkeneko ikerkuntzek, haien biogenesi bideetan dibertsitate oso zabala erakutsi dute eta mekanismo erregulatu askotan parte hartzen dutela agerian utzi dute [10].

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

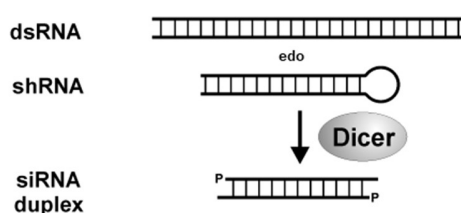


**1. Irudia.** Interferentziatzko RNAen (RNAi) aurkikuntza eta garapena. Fellman eta Lowe (2014)-tik moldatua [16].

Organismo askoren zeluletan gertatzen den mekanismoaenez, gizakia barne, estrategia berri eta oso espezifikoak bihurtu da gene zehatz baten espresio fisiologikoa inhibitu ahal izateko [9].

#### 4.1. siRNAren ekintza mekanismoa

Kate bikoitzeko RNA-k (dsRNA) bitartekatutako geneak isiltzearen eragile nagusia Dicer (RNase III familiako endoribonukleasa) entzima da. Honen bidez, RNA zati txikietan moztzen da (ikus 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. Guztiak, genearen espresioaren isilpena eragiten dute [17].



**2. Irudia.** Dicer entzimaren bidez zuzendutako siRNA-ren sorrera, kate bikoitzeko RNA batetik abiatuta.

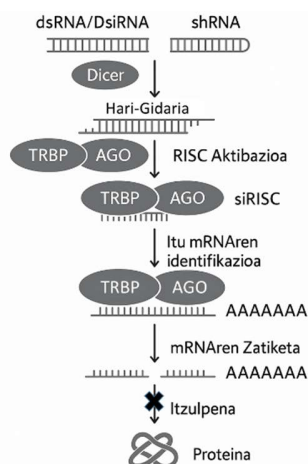
Matzke eta Matzke (2004) artikulutik eraldatuta [17].

## 4.2.siRNA-ren ekintzaren ondoriozko eragin biologikoak

siRNA-ren makineriak maila desberdinetan jarduten du, hala nola, kromatinaren birmoldaketan edo transdukzioan eta, ezagunena, gene baten mRNA espezifikokoaren 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; jarraian, 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 RISCeak (*RNA-induced silencing complex*) kargatzen da (siRISC), eta honek itu-mRNA ezagutzen du sekuentzia-osagarritasunaren bidez. Konplementaritatea handia denean, AGO2ren PIWI domeinuak (RNase H-antzeko slicer jarduera; endonukleasa aktibitatea duena) mRNA 10/11 posizioen inguruan mozten du; mozketa ondoren, zatiak degradatu egiten dira eta itzulpena eteten da. Hori da gene-isiltasunaren oinarria (irudia) [9].



**3.Irudia.** siRNA-k bideratutako inhibizio geniko posttranskripzionala. Nakamura eta kolaboratzailetik moldatua (2009) [9].

#### 4.2.2. siRNAk eta kromatinaren birmoldaketa

2002. urtean siRNA-k heterokromatinaren eraketa eragiten dutela deskribatu zen *Schizosaccharomyces pombe* (*S. pombe*) legamian [10]. Horretaz gain, RNA-ren isiltasuna landareen, animalien eta ziliatuen heterokromatinaren lotura zuzentzen zuela ikusi zen [19].

siRNA-k kromatinaren birmoldaketan inplikaturik, eta maila transkripzionaletan eragiten dutela deskribatu da [20]. siRNA-ren kate bat degradatzen den bitartean, beste kateak transkripzioa inhibitzen duten proteinak bahitzen ditu. siRNA-k base osagarrien bidez, DNA-ren sekuentzia zehatz bat detektatzen dute. DNA sekuentzia hori transkripzioan zehar osatutako mRNA-ren edo DNA-ren sekuentzia zehatz bat izan daiteke. Prozesua, berez, konplexuagoa da, baina RISC konplexua, metilasak eta polimerasak inplikaturik daudela uste da [21].

### 5. siRNAren ERABILPEN TERAPEUTIKO POTENTZIALAK

Geneen espresioaren inhibizioa lortzeko RNAi-aren makineria endogenoa aurkitu izana, oso garrantzitsua izan da. Izan ere, honi esker, makineria endogenoa bahitua izan daiteke intereseko geneen espresioa, interesen arabera modulatu ahal izateko. Horretarako, siRNAren estrategia erabilera ezin hobea bilakatu da. Teorikoki, siRNA bat intereseko edozein generako diseinatu daiteke, genearen espresiorako beharrezkoa den mRNA oinarrituta. Hori dela eta,

ugaztunen geneen ezabapena lortzeko estrategia erabilgarriena bilakatu da, potentzial mugagabe bat baita.

Gainera, eta are garrantzitsuago, gene batek edo hainbatek eragindako giza gaixotasun askoren terapiak diseinatzeko, RNAi-an oinarritutako inhibizioa aplikatu daiteke. Gaixotasun genetiko horiek anitzak dira: akats genetikoak, gaixotasun birikoak, asaldura autoinmuneak edota minbizi mota desberdinak [21]. RNAi/siRNA-ri buruzko entsegu klinikoan %60 inguru minbiziari bideratuak izan dira, seguruenik onkopatologiaren prebalentzia handia eta larritasun klinikoa direla eta [22].

siRNA-ak 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, siRNA-ren diseinua hobetzeko arau batzuk formulatu behar dira.

Lehenik eta behin, RISC konplexuak siRNA-ak detektatu ahal izateko, 3' muturrean 2 nukleotidoetako isatsa izan behar dute. Normalean, 2 nukleotido horiek UU edo TT izan ohi dira [23]. Gainera, siRNA-ren egonkortasun termodinamiko bat lortzeko, GC baseen portzentaia kontuan hartu behar da. Kantitaterik egokiena %30-70 artean egon beharko litzateke. Azkenik, diseinatutako siRNA-k espezifikotasun eta eraginkortasun altua izateko, posizio zehatzetan nukleotido batzuk gehitu edo kendu daitezke [8].

siRNA-ren ekintza-mekanismoa jakinda, gene ezagun baten gehiegizko espresioa 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 hau ikertzeko orduan, hainbat iturri posible nabarmendu dira: ziklo zelularrean, apoptosian, motilitate zelularrean, seinaleen transdukzioan, estres oxidatiboan, garapenean, etab. [12].

siRNA-ren 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-terapiekin 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 jaitsiera iraunkorra lortuz) [12].

Praktikan, eraginkortasuna lortzeko administrazio-estrategia bi nabarmentzen dira: (i) inokulazio lokala (adib., begi bidezko injekzio intrabitrea), kontzentrazio txikietan eraginkorra eta efektu lokaletarako egokia; eta (ii) administrazio sistemikoa, non konjugatuak (adib., GalNAc hepatotropikoa) edo nanogarriatzaileak (adib., lípido nanopartikulak (LNP), polimeroak, peptido/antigorputz-konjugatuak, nanopartikulak) erabiltzen diren. Horri esker, siRNA degradazio entzimatikotik babestu, egonkortasuna eta biodistribuzioa hobetu, eta ituehun/zelula zehatzetara bideratzea lortzen da; ondorioz, esposizio-profilak eta dosi-egutegiak helburu klinikoaren arabera doitzen dira (lokala: efektu fokala eta toxikotasun sistemiko txikiagoa; sistemikoa: gibel-itu [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 hemofilia A edo B duten pazienteentzat, siRNA sendagaien esparru klinikoa gehiago hedatuz [26].

### 5.1. siRNA-ren erabilera minbizian

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

*Cell Lung Cancer*), koloneko eta ondestekoa, gibekeko kartzinoma hepatozelularra, obariokoa, pankreakoa (bereziki KRAS mutazioak dituztenetan), glioblastoma, prostatakia eta melanoma [27].

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

Hala eta guztiz ere, minbizi zelulen ezaugarriekin (hazkuntza, biziraupena, apoptosia, medikamentuei erresistentzia, ...) erlazionatutako gene funtzionalen miaketa eta identifikazioa ezinbesteko pausoak dira, itu espezifikagoen kontrako siRNA eraginkorrak aurkitzeko. Bestetik, geneen inhibizioa lortzeko, siRNA-ak itu duten tumorera iritsi behar dira eta hori terapia berri honen oztopo garrantzitsu bat da [15].

Ikerkuntza batzuk, siRNA-en itu berrien bila formakuntza tumoralaren jatorri genikora jo dute. Ikerkuntza genetikoak adierazi dutenez, minbizien garapenarekin gehien erlazionatu den genea, p53 genea da. Gene honek jasaten dituen aldizkako mutazioengatik, giza minbizien %50eko kasuetan inaktibatuta egoten denez, tumoreen ezabatzaile moduan arituko zen. Izan ere, p53 geneak zelularen nukleoan aurkitzen den p53 proteina kodifikatzen du. Proteina honek zelulen bikoizpenean eta suntsipenean parte hartzen du eta gene honen mutazioek p53 proteina maila anormalak, eta zelula tumoralen eraketan lagunduko luke. Beraz, siRNA-en erabilerak p53 genean eman daitekeen mutazioa zuzendu dezake eta horrela, bere funtzio normala berreskuratu.

Beste ikerkuntza desberdin batzuk, zelula tumoralek eraldatuta dauzkaten funtzio batzuetan bilatu izan dute siRNA itu berriak lortzeko. Minbizi-zeluletan funtzio batzuk eraldatuta daude eta horrek tumorearen etengabeko hazkuntza ahalbidetzen du. Funtzio horiek heriotza-zelular programatua eta apoptosia dira. Hau guztia horrela izanda, siRNA-ak baliagarriak izan daitezke tumoreei aurre egiteko. Faktore antiapoptotikoen (Bcl-2, survivina, Akt1, ...) kontrako siRNA desberdinak diseinatu daitezke eta horrela, tumorearen apoptosia eragin [28].

Minbizi zelulek eragiten dituzten aldaketa genetiko horiek ezagutuz gero, ohiko terapien hobekuntza bat eta terapia berrien garapena ekarriko lukete [15]. Hainbat minbizi tratatzeko asmoarekin, asko izan dira erabilitako siRNAk.

## 5.2. siRNA-ren erabilera infekzio biraletan

Birus batek bere ostalariaren beharra du bizirauteko. siRNA-ren terapia, ohiko terapia antibirikoek ez bezala, birusen geneen inhibizioa edo ostalariaren babeserregulazioa duten geneetan arituko litzateke. Birusak erreplikatu ahal izateko gene horien beharra duenez, siRNA-ren erabilera ideia bikaina izan daiteke infekzio biralen tratamendurako.

### 5.2.1. siRNA-ren erabilera HIESAn

Duela hamarkada batzuk, Hartutako Immunoeskasiaren Sindromearen (HIESaren) tratamenduan terapia antierretroviralek (TAR) jauzi kualitatiboa ekarri zuten, baina desabantaila esanguratsuak dituzte (kostua, toxikotasuna, adherentzia eskasa, erresistentziak), eta ez dute gaixotasuna sendatzen. Testuinguru honetan, RNA interferentzian (RNAi) oinarritutako siRNA estrategiek birusaren oinarri molekularrean zuzenean esku hartzeko aukera ematen dute, itu-birus (Tat, TAR) zein ostalari-faktoreak (CCR5) jomugan hartuta [29]. Azken berrikuspenek erakutsi dute ikuspegi horien oinarri esperimentalak 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/shRNA adierazpena zelula autologoetan (CD34<sup>+</sup> HSC/HPC (*Hematopoietic Stem Cells/ Hematopoietic Progenitor Cells*) barne) lortzeko. CD34<sup>+</sup> zelulak lentibiral bektoreekin eraldatu ziren, hiruko modulu batekin: shRNA anti-tat/rev, TAR decoy eta anti-CCR5 ribozima. Segurtasuna onargarria izan bazen ere, zelula-eraldaketa tasa txikia eta eraginkortasun mugatua lortu ziren, hortaz, HIESaren kasuan ez zen Fase II/IIIra aurreratu [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 helburudun) 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) gaintitzea eta ituzeluletara heltzea nahikoa intentsitatez eta iraupenez; horregatik, bi ildo nagusi baliatzen dira: (i) administrazio lokala (bereziki intrabentrikularra eta intrabitreo) eta (ii) garun-sarrera errazteko diseinatutako garriatzaileak. Azken multzo honetan, siRNA bikoitzeko arkitekturak (di-siRNA) dosi bakarreko administrazio intratekalez (likido zefalorrakidean, CSF) garun osoan isilpen iraunkorra lortu du karraskarrietan eta primate ez-gizakietan [35]. Halaber, azken diseinuek (C16 lipid-konjugazioa eta siRNA bikoitz programagarriak) NSZn bi gene-helbururen modulazio eraginkorra ahalbidetu dutela erakutsi dute [36]. Bestetik, transferrinhartzaile 1ean (TfR1) oinarritutako garun-sarbidetzaileek (shuttle peptidiko/antigorputz-lotzaileak) HHE zeharkatzeko estrategia frogatuak eskaini dituzte (oraingoz batez ere ASOetarako), eta siRNA-konjugatu esperimentaletan ere potentzial handia erakusten ari dira [37–38].

Egun arteko gizakietan bildutako datuek erakusten dute QPI-1007k (CASP2; injekzio intrabitreoa) fase 2/3an segurtasun onargarria izan zuela, baina helburu nagusia ez zuela bete [39]. Mivelsiran/ALN-APP (APP; administrazio intratekala) fase 1ean dago, eta CSF biomarkatzaileetan (sAPP $\alpha$ / $\beta$ , A $\beta$ 40/42) jaitsiera dosi-mendekoak ikusi dira [40]. LY3954068 (MAPT/tau) ere fase 1ean ari da Alzheimer goiztiarrean, segurtasuna eta PK/PD ebaluatzen [41]. Oro har, siRNA-NSZ programak aurrera doaz, baina eraginkortasun kliniko sendoa oraindik frogatu behar da hurrengo faseetan.

## 6. siRNAren ETORKIZUNERAKO ERRONKA NAGUSIAK

siRNA-en garapena gaixotasun asko sendatzeko edo tratatzeko aukera eman dezaketela uste arren, siRNA-etan oinarritutako hainbat erronka sortu dira:

**-Helburutik kanpo sortutako efektuak:** hasiera batean siRNA-ak helburu espezifiko bat suntsitzeko diseinatuak daude. Halere, hainbat ikerketek demostratu dute helburu ez diren geneak ere isilarazi ahal dituztela [6]. Hortaz, siRNA-etan oinarritutako terapien garapenean, helburutik kanpo isiltzen diren geneak kontuan izan behar ditugu. Horretarako, hautagai izan daitezkeen siRNA guztiak sakontasunez aztertu behar dira ituzeluz 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 sintetizatzen aukera eman dute. Ugaztunen zeluletara zuzendutako siRNA-en artean, frakzio eskas batek bakarrik erakutsi du funtzionalitatea izatea. Ausaz aukeratutako siRNA-en artean, %58-78-k isiltasuna eragiten zuten %50 baino gehiagoko eraginkortasunarekin eta %11-18-k bakarrik %90-95-eko isiltasuna eragitea lortu zuten [8].

**-Itu-zeluletara iristeko erronka:** siRNA-ak helburu-zeluletara heltzea zaila da, hainbat mailako oztopo biologiko gainditu behar direlako. Batetik, glomerulutik erraz iragazten dira eta horren ondorioz giltzurrunetik azkar kanporatzen dira. Bestetik, nukleasen bidez erraz degradatzen dira, eta horrek siRNA-en erdibizitza oso laburra eragiten du (15 minutu eta 1 ordu bitartean). Ondorioz, iraupen labur horrek siRNA-en aplikazio terapeutikoak nabarmen mugatzen ditu [8].

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

Bestetik, hauen karga negatiboak, pisu handiak eta molekulen tamainak mintza zeharkatzeko difusio pasiboa zailtzen dute. Hortaz, zelulek barneratzeko bide nagusia endozitosis da [8]. Nahiz eta zitoplasmara iritsi, zelula barneko RNA-ek degrada ditzakete, eta RISC konplexuak ezagutu eta hauei akoplatu behar dira 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, eragozpen nagusia da. Birusetan oinarritutako administrazio-sistemak eraginkorrak izan arren, hainbat arazo edo oztopo dituzte, hala nola, mutazioa induzitu ditzakete, erantzun immuneak piztu edota hanturazko-erantzunak aktibatu. Arazo horri aurre egiten saiatzeko, biralak ez diren beste administrazio-sistemak garatzen saiatu dira: zuzenean siRNA-en aldaketa kimikoa burutu, liposomen formulazioak eratu eta nanopartikulen sorrera [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 RNAi potentzia handiko eta espezifikotasun handiko sekuentzia bat identifikatzea da [35].

**-Erantzun immunearen aktibazioa:** Hainbat ikerketek siRNA-k 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].

siRNA-ak berezko immunitate-hartzaileak aktibatu 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 siRNA-k hartzaileetara lotzeko eta hauek aktibatzeko duen ahalmena nabarmen murriztu da. Hala ere, oligonukleotidoetan oinarritutako terapia askotan sistema immunea 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

siRNA-ak etorkizunean gaixotasun desberdin asko tratatzeko aukera terapeutiko bat izan daitezke. Horretarako, gaixotasun horien etiopatologia jakitea ezinbestekoa da. Horrela, siRNA-ren itu terapeutikoak identifikatu eta horietara zuzendutako siRNA-ak 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 siRNAan oinarritutako gaixotasunen tratamendua ikertu nahi duten ikertzaile eta farmazia enpresa asko erakarri dituzte. Aurreko bi hamarkadetan aurrerapen

handiak egin dira siRNA-k 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, baita ligando-konjugazioak (adib., GalNAc), garatzen ari dira. *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 eskurazinak diren helburuetarako. Patisiran-aren arrakastarekin, bereziki klinikoki ikertutako terapia aurreratu batzuen etengabeko aurrerapenean, siRNA-k aukera paregabea izango dira datozen urteetan.

## ESKER ONAK

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

## 8. BIBLIOGRAFIA

- [1] MALAKONDAIAH S, JULIUS A, PONNAMBALAM D, GUNTHOTI SS, ASHOK J, KRISHANA PS, 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 AS, ACOSTA D, HARNICHAR E, FERRERO PV. 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 WW, ASRI M, EBLER J, DOERR D, HAUKNES M, HICKEY G, LU S, LUCAS JK, MONLONG J, ABEL HJ, BUONAIUTO S, CHANG XH, CHENG H, CHU J, COLONNA V, EIZENGA JM, FENG X, FISCHER C, FULTON RS, GARG S, GROZA C, GUARRACINO A, HARVEY WT, HEUMOS S, HOWE K, JAIN M, LU TY, MARKELLO C, MARTIN FJ, MITCHELL MW, MUNSON KM, MWANIKI MN, NOVAK AM, OLSEN

HE, PESOUT T, PORUBSKY D, PRINS P, SIBBESEN JA, SIRÉN J, TOMLINSON C, VILLANI F, VOLLGER MR, ANTONACCI-FULTON LL, BAID G, BAKER CA, BELYAEVA A, BILLIS K, CARROLL A, CHANG PC, CODY S, COOK DE, COOK-DEEGAN RM, CORNEJO OE, DIEKHANS M, EBERT P, FAIRLEY S, FEDRIGO O, FELSENFELD AL, FORMENTI G, FRANKISH A, GAO Y, GARRISON NA, GIRON CG, GREEN RE, HAGGERTY L, HOEKZEMA K, HOURLIER T, JI HP, KENNY EE, KOENIG BA, KOLESNIKOV A, KORBEL JO, KORDOSKY J, KOREN S, LEE H, LEWIS AP, MAGALHÃES H, MARCO-SOLA S, MARIJON P, MCCARTNEY A, MCDANIEL J, MOUNTCASTLE J, NATTESTAD M, NURK S, OLSON ND, POPEJOY AB, PUIU D, RAUTIAINEN M, REGIER AA, RHIE A, SACCO S, SANDERS AD, SCHNEIDER VA, SCHULTZ BI, SHAFIN K, SMITH MW, SOFIA HJ, ABOU TAYOUN AN, THIBAUD-NISSEN F, TRICOMI FF, WAGNER J, WALENZ B, WOOD JMD, ZIMIN AV, BOURQUE G, CHAISSON MJP, FLICEK P, PHILLIPPY AM, ZOOK JM, EICHLER EE, HAUSSLER D, WANG T, JARVIS ED, MIGA KH, GARRISON E, MARSCHALL T, HALL IM, LI H, PATEN B. 2023. <<A draft human pangenome reference>>. *Nature*. **617**, 312-324. DOI: 10.1038/s41586-023-05896-x.

[4] AUSTIN-WARD ED, 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 HY, ZHANG DD, LIU B, CHEN JY, 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>>. *Bioquímica*, **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 RL, WHITEHEAD KA, VEGAS AJ, ANDERSON DG. 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 MA, MATZKE AJM. 2004. <<Planting the Seeds of a New Paradigm>>. *PLOS Biology*, **2**, e133. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020133.

- [18] VALENCIA-SANCHEZ MA, LIU J, HANNON GJ, 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 KV. 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 VB, IDRIS A, MCMILLAN NA. 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 BV, JOSEPH A, ALEX AT. 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 MM, 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 MM, BAHAL R, RASMUSSEN TP, MANAUTOU JE, ZHONG XB. 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, KAVAKLIK, KLAMROTH R, MATSUSHITA T, PEYVANDI F, PIPE SW, RANGARAJAN S, SHEN MC, SRIVASTAVA A, SUN J, TRAN H, YOU CW, ZÜLFİKAR

B, MENAPACE LA, 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 HA. 2021. <<Nanoparticle-mediated siRNA delivery systems for cancer therapy>>. *View*. **2**, e20200111. DOI: 10.1002/VIW.20200111.

[28] YANG C, LIN ZI, ZHANG X, XU Z, XU G, WANG YM, TSAI TH, CHENG PW, LAW WC, YONG KT, CHEN CK. 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 VB, IDRIS A, MCMILLAN NA. 2024. <<SiRNAs as antiviral drugs - Current status, therapeutic potential and challenges>>. *Antiviral Research*. **232**, 106024. DOI: 10.1016/j.antiviral.2024.106024.

[31] AGBOSU EE, LEDGER S, KELLEHER AD, WEN J, AHLENSTIEL CL. 2022. <<Targeted Nanocarrier Delivery of RNA Therapeutics to Control HIV Infection>>. *Pharmaceutics*. **14**, 1352. doi: 10.3390/pharmaceutics14071352.

[32] DIGIUSTO DL, KRISHNAN A, LI L, LI H, LI S, RAO A, MI S, YAM P, STINSON S, KALOS M, ALVARNAS J, LACEY SF, YEE JK, LI M, COUTURE L, HSU D, FORMAN SJ, ROSSI JJ, ZAIA JA. 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 JF, GODINHO BMDC, HASSLER MR, FERGUSON CM, ECHEVERRIA D, SAPP E, HARASZTI RA, COLES AH, CONROY F, MILLER R, ROUX L, YAN P, KNOX EG, TURANOV AA, KING RM, GERNOUX G, MUELLER C, GRAY-EDWARDS HL, MOSER RP, BISHOP NC, JABER SM, GOUNIS MJ, SENA-ESTEVEZ M, PAI AA, 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 SJ, THAYER MB, KIM C, TATARAKIS D, SIMON MJ, DIAL R, NILEWSKI L, WELLS RC, ZHOU Y, AFETIAN M, AKKAPEDDI P, CHAPPELL A, CHEW KS, CHOW J, CLEMENS A, DISCENZA CB, DUGAS JC, DWYER C, EARR T, HA C, HO YS, HUYNH D, LOZANO EI, JAYARAMAN S, KWAN W, MAHON C, PIZZO M, ROBLES-COLMENARES Y, ROCHE E, SANDERS L, STERGIOULIS A, TONG R, TRAN H, ZUCHERO Y, ESTRADA AA, GADKAR K, KOTH CMM, SANCHEZ PE, THORNE RG, WATTS RJ, SANDMANN T, KANE LA, RIGO F, DENNIS MS, LEWCOCK JW, DEVOS SL. 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 LA, BHATTI MT, KLIER S, MORGENSTERN R, SZANTO D, MILLER NR, KUPERSMITH MJ; QUARK NAION STUDY GROUP. 2025. <<A Randomized Sham-Controlled Phase 2/3 Trial of QPI-1007 for Acute Nonarteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy>>. *Ophthalmology*, *Online ahead of print*. DOI: 10.1016/j.ophtha.2025.07.039.
- [40] COHEN, S., DUCHARME, S., BROSCHE, J.R., VIJVERBERG, E.G.B., SOSTELLY, A., GOTETI, S., FARRUGIA, L., AVBERSEK, A., KASPAR, C. AND 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.