

Neurociencia

➤ **Artículo original:** Long-lasting analgesia via targeted in vivo epigenetic repression of $Na_v1.7$ in mice. **Moreno AM et al. *Science Translational Medicine*. 2021.**

Cortando el dolor con CRISPR

Fernando Aleman

Más de 100 millones de personas en Estados Unidos y aproximadamente 1500 millones de personas en el mundo sufren de dolor crónico. Además, este número sigue ascendiendo a medida que aumenta la esperanza de vida, crece la población de ancianos, aumenta la prevalencia de la diabetes y mejoran las tasas de supervivencia al cáncer^{1,2}.

Los tratamientos actuales frente al dolor severo consisten principalmente en opioides, los cuales conllevan efectos secundarios graves y un alto riesgo de adicción³. Dadas las limitaciones de estos tratamientos y los fracasos en los esfuerzos de desarrollo de nuevas terapias, fármacos con mejores perfiles de actividad son necesarios, así como plataformas de desarrollo de fármacos más predictivas. De hecho, aunque el dolor crónico es más frecuente que la prevalencia del cáncer, la diabetes e incluso las enfermedades cardiovasculares, el desarrollo de fármacos no ha experimentado el notable progreso observado en estas otras áreas terapéuticas⁴.

Muchos de los tratamientos experimentales se han centrado en el desarrollo de pequeñas moléculas farmacológicas, pero estos inhibidores han tenido problemas de eficacia junto con toxicidad debido a sus efectos *off-target*. El uso de anticuerpos también se ha enfrentado a un problema similar. Por tanto, una terapia génica para tratar el dolor crónico podría ofrecer una alternativa más segura, selectiva y no adictiva. Nuestro laboratorio en **Navega Therapeutics** junto con investigadores en la Universidad de California, San Diego, hemos publicado un estudio en la prestigiosa revista ***Science Translational Medicine***, donde estudiamos el efecto de terapias génicas para reducir el dolor y demostramos su efectividad en estudios preclínicos *in vivo* utilizando una variante más segura de la laureada técnica de CRISPR⁵.

En profundidad...

Desde el descubrimiento de la relación entre mutaciones en el canal de sodio $Na_v1.7$ (gen *SCN9A*) y la insensibilidad congénita al dolor, $Na_v1.7$ ha sido una diana terapéutica atractiva para el desarrollo de terapias para el dolor crónico⁶. Sin embargo, los esfuerzos para elaborar inhibidores selectivos se han visto truncados por la dificultad para desarrollar compuestos de alta selectividad contra $Na_v1.7$ hasta la fecha⁷. Por esta razón, propusimos la idea de utilizar un enfoque diferente para aliviar el dolor crónico en nuestro estudio: **inhibir $Na_v1.7$ epigenéticamente**.

En este estudio, utilizamos una variante “muerta” del sistema CRISPR/Cas9, la cual mantiene las propiedades de “GPS” para localizar una posición en el genoma, pero no es capaz de cortar el DNA. De esta

forma, conseguimos “teledirigir” la proteína dCas9 al gen *SCN9A* para **bloquear la expresión del canal $Na_v1.7$** y, en lugar de editar el genoma creando una mutación en el gen, **impedimos su transcripción**, imitando la mutación de pérdida de función que genera insensibilidad al dolor (**Figura 1**).

Para demostrar su efecto, primero optimizamos las secuencias que funcionan como dirección “GPS” del genoma, los denominados **gRNAs**, en células *in vitro*. Una vez seleccionado el gRNA que reprimía con mayor efectividad el canal de sodio $Na_v1.7$, introdujimos estos modificadores epigenéticos a través de partículas víricas (AAV9) con alto tropismo para las neuronas encargadas de la transmisión de dolor en ratones.

Uno de los estudios establecidos para estudiar el dolor crónico es inyectar la pata de los ratones con carragenano, un compuesto que causa inflamación y dolor. Utilizando este método, descubrimos que aquellos ratones que habían recibido la terapia génica presentaban menos dolor en respuesta al calor emitido por un laser, conocido como el **Hargreaves test**.

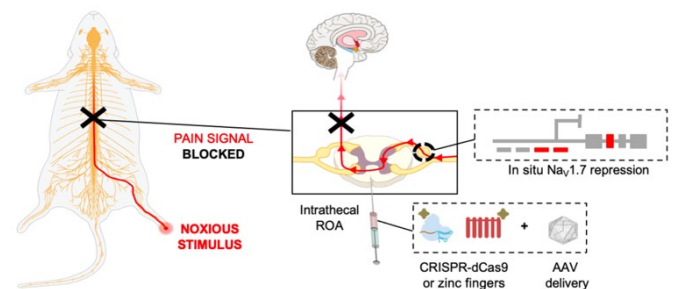


Figura 1. Esquema de la estrategia utilizada para la represión de $Na_v1.7$ en ratones. dCas9 es inyectado por punción lumbar en el área intratecal (similar a epidural), lo que conduce a un bloqueo en la señal del dolor. ©Moreno et al. *Sci. Transl. Med.* 2021⁸.

Algunos compuestos quimioterapéuticos como el paclitaxel también pueden generar un estado de dolor neuropático, caracterizado por alta sensibilidad a la presión y al frío. De forma similar a lo observado con carragenano, en los ratones inyectados con un ciclo de paclitaxel equivalente a la dosis en humanos y tratados con nuestra terapia génica presentaron una reducción en el estado alodínic (estado de dolor frente a estímulos habitualmente no dolorosos), comparados con aquellos ratones que no recibieron terapia. Para recapitular el potencial uso clínico de esta terapia génica, primero creamos el dolor con el ciclo de quimioterapia y más tarde tratamos los ratones con nuestra terapia

génica. Utilizando este método, demostramos además que nuestra terapia no solo era capaz de prevenir el dolor, sino de revertir el estado alodínico causado previamente por un estímulo externo, tal y como sucede en la vida real.

Para confirmar estos resultados utilizando una terapia diferente, usamos un modulador epigenético alternativo a CRISPR: los dedos de zinc. Esta técnica es más antigua que CRISPR, pero cuyo mecanismo es muy similar. Los dedos de zinc son proteínas que se unen al DNA de forma natural, y que se pueden rediseñar para dirigirlas a un lugar específico del genoma. En este caso, tal y como hicimos con la técnica CRISPR, diseñamos estas proteínas para inhibir el gen SCN9A. Utilizando esta técnica, fuimos capaces de recapitular los resultados obtenidos con CRISPR, demostrando que usar terapias génicas contra Nav1.7 es una técnica con gran potencial para aliviar el dolor.

Finalmente, comprobamos la duración del tratamiento y su seguridad, y demostramos que reducía el dolor inducido por quimioterapia durante al menos 105 días tras una inyección y el dolor inflamatorio durante al menos 44 semanas. En términos de seguridad, los ratones no mostraron signos de ansiedad, pérdida de peso, cambio de temperatura, pérdida de olfato, pérdida de la motivación para construir un nido ni la capacidad para explorar o reconocer objetos.

Todavía quedan flecos que resolver para utilizar esta terapia en humanos. Por un lado, aunque la duración es prolongada con una sola inyección, aún no se sabe cual será la verdadera duración en humanos. Por otro lado, las terapias génicas son muy costosas, y la mayoría están indicadas para pocos pacientes, especialmente aquellos con enfermedades raras, lo cual presenta un desafío a la hora de manufacturar suficientes dosis.

En conclusión...

Nuestro estudio demuestra que esta nueva forma de terapia génica contra el gen de la proteína Nav1.7, SCN9A, presenta un nuevo uso para el laureado método de CRISPR, descubierto por el investigador español Dr. Francisco Mojica. En este estudio, demostramos que CRISPR no solo es efectivo previniendo el dolor sino también tratando un estado doloroso ya presente. Como el gen SCN9A está implicado en la mayoría de los tipos de dolor, esta nueva terapia génica podría usarse para tratar una amplia gama de patologías, desde dolor lumbar hasta trastornos raros de dolor neuropático, afecciones para las cuales los analgésicos opioides son el tratamiento estándar, alterando el paradigma actual del manejo del dolor.

Referencias:

1. Institute of Medicine (US) committee on advancing pain research. Carer and E. 2011.
2. Dahlhamer J, Lucas J, Zelaya C, Nahin R, Mackey S, DeBar L, Kerns R, Von Korff M, Porter L and Helmick C. 2018. Prevalence of chronic pain and high-impact chronic pain among adults – United States, 2016.
3. Vowles K, McEntee ML, Julnes PS, Frohe T, Ney JP and vander Goes DN. 2015. Rates of opioid misuses, abuse, and addiction in chronic pain: a systematic review and data synthesis. *Pain*. 156:569-576.
4. Baumbauer KM, Young EE, Starkweather AR, Guite JW, Russell BS and Manworren RCB. 2016. *Med. Clin. North. Am.* 100:183-97.
5. Moreno AM, Aleman F, Catroli GF, Hunt M, HU M, Dailamy A, Pla A, Woller SA, Palmer N et al. 2021. Long-lasting analgesia via targeted in situ repression of Nav1.7 in mice. *Science Translational Medicine*. 13:584, eaay9056.
6. Cox JJ, Reimann F, Nicholas A, Thronton G, Roberts E, Springell K, Karbani G, Jafri H, Mannan J et al. 2006. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature*. 444:894-898.
7. Kingwell K. 2019. Nav1.7 withholds its pain potential. *Nature Reviews Drug Discovery*. 18:321-323.
8. Las figuras han sido utilizadas libremente de acuerdo con las políticas editoriales de Science Translational Medicine y Creative Commons 4.0. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Conflictos de interés

El autor de este artículo ha participado en el estudio descrito y es coautor del artículo original. Además, el autor es cofundador de la start-up **Navega Therapeutics**.

Sobre el autor

Fernando Alemán Guillén obtuvo su título de farmacéutico en la Universidad de Granada y su doctorado en la Universidad de Murcia (CEBAS-CSIC). Luego realizó estudios postdoctorales en la Universidad de California San Diego y el Instituto de Investigación Scripps. Actualmente, el Dr. Alemán es cofundador y director científico de **Navega Therapeutics**, donde ha conseguido casi \$5M en varios proyectos públicos (NIH) como investigador principal o co-principal.

✉ faleman@navegatx.com

[in https://www.linkedin.com/in/fernando-aleman/](https://www.linkedin.com/in/fernando-aleman/)

ECUSA News&Views Editors-in-Chief:

Antonio Cembellin Prieto, B.S.

Fernando de Miguel, Ph.D

Copyright © 2021 Españoles científicos en Estados Unidos (ECUSA) News&Views