



## Desarrollo de nanopartículas para la administración de microRNA para el tratamiento del neuroblastoma de alto riesgo

### Antecedentes y finalidad del proyecto de investigación

El cáncer pediátrico no es una única enfermedad, sino que incluye más de 47 enfermedades, la mayoría diferentes a los tipos de cáncer que se desarrollan en los adultos. Los tumores pediátricos son a menudo el resultado de alteraciones genéticas que se producen de forma temprana durante el desarrollo o en las primeras etapas de la vida, por lo que, a diferencia de los tumores en adultos, no se asocian con el estilo de vida o con factores de riesgo ambientales.

La incidencia del cáncer en los niños es muy baja, considerándose una enfermedad rara. Aún así, se estima que cerca de 15.000 niños son diagnosticados anualmente de cáncer en Europa, lo que representa un 1% de todos los tumores diagnosticados. Durante las últimas décadas, en los países desarrollados, se han producido grandes avances en las técnicas diagnósticas y en los tratamientos del cáncer infantil, pasando de una supervivencia del 40% en la década de los 70, a una supervivencia cercana al 80% en la actualidad. A pesar de los avances, un 20% de los tumores siguen siendo incurables, convirtiéndose en la primera causa de mortalidad en los niños mayores de un año. Además, se estima que más del 73% de los supervivientes a un cáncer pediátrico desarrollan al menos una patología crónica en los 30 años siguientes al diagnóstico, siendo las alteraciones del crecimiento y del funcionamiento hormonal y metabólico las más frecuentes.

El neuroblastoma es un tumor embrionario extracraneal de la primera infancia derivado del sistema nervioso simpático. Aparece, a menudo, en una de las glándulas suprarrenales, pero el tumor también puede originarse en los tejidos nerviosos de la región cervical, tórax, abdomen y pelvis. El neuroblastoma representa el 15% de todas las muertes relacionadas con el cáncer en niños, y es el tumor embrionario con la supervivencia más baja a los 5 años. El número de nuevos neuroblastomas reportados es de 1.4 por 100,000 niños y adolescentes por año. Por lo tanto, considerando que en España hay alrededor de 7,1 millones de niños menores de 14 años, cada año se diagnosticarán alrededor de 100 neuroblastomas. Entre estos, el 62% se clasificará en un grupo de riesgo intermedio o alto, siendo el grupo de alto riesgo el que presenta la peor supervivencia general. La terapia para pacientes del grupo de alto riesgo consiste en múltiples ciclos de quimioterapia, cirugía, radioterapia y tratamiento con agentes biológicos. A pesar de la severidad de la terapia, alrededor del 50% de los pacientes recaen desarrollando una progresión de la enfermedad.

Por todo ello, existe una urgente necesidad de encontrar nuevas estrategias terapéuticas que permitan aumentar la supervivencia de pacientes con neuroblastoma de alto riesgo, que no responden a los tratamientos convencionales o en situación de recaída, y disminuir el índice de secuelas a largo plazo de los supervivientes.

Tras 70 años de investigación en quimioterapia, la mayoría de los tratamientos utilizados actualmente en la clínica siguen basándose en los mismos principios, atacar las células que más se dividen alterando así el proceso de división celular y, en última instancia, inducir la muerte celular programada. Desafortunadamente, las células sanas del organismo se ven igualmente afectadas causando efectos secundarios adversos, limitando así la frecuencia y duración de los ciclos de tratamiento.

Las terapias dirigidas son una alternativa para pacientes con tumores caracterizados por alteraciones genéticas muy concretas. Aunque se han obtenido resultados esperanzadores con estas terapias, es frecuente la aparición de mecanismos de resistencia. **Una alternativa emergente es el uso de pequeñas moléculas llamadas microRNA, que pueden dirigirse a varias dianas terapéuticas a la vez.** Los miRNAs tienen el potencial de regular múltiples genes diana que pueden ser tanto componentes de la misma vía de señalización celular, como de vías de señalización celular diferentes. Esta propiedad minimiza los riesgos de aparición de resistencias a las terapias dirigidas contra la función de una única proteína que, a menudo, se compensa por otras proteínas o vías de señalización celular.

En nuestro grupo de investigación hemos estado trabajando, en los últimos años, en encontrar los mejores microRNA candidatos para tratar el neuroblastoma de alto riesgo. Una barrera que nos encontramos es que la aplicación de estos nuevos tratamientos está limitada por la falta de formulaciones adecuadas que protejan, estabilicen y dirijan estas moléculas a los sitios deseados, en nuestro caso, a los tumores. Los microRNAs se administran por vía venosa y sin ningún tipo de direccionalidad, su distribución se concentra mayoritariamente en el hígado, donde es muy efectivo, pero se metaboliza y se excreta rápidamente, limitando su potencial terapéutico en los tumores.

El proyecto que presentamos consiste en el desarrollo de una formulación clínica basada en nanopartículas (pequeñas partículas transportadoras) para administrar los mejores microRNAs candidatos para el tratamiento del neuroblastoma de alto riesgo. Así, podremos aumentar las opciones terapéuticas de este tumor pediátrico altamente agresivo.

La finalidad del proyecto es mejorar la biodistribución de los miRNAs mediante su encapsulación en nanopartículas fabricadas con materiales biocompatibles y con modificaciones que las dirijan hacia los tumores, confiriendo así una mayor estabilidad y permanencia en el torrente sanguíneo, de modo que tengan más tiempo de acumularse en los tejidos tumorales y ejerzan con más eficiencia su función antitumoral.

## Objetivos del proyecto

Los estudios realizados anteriormente en el grupo de investigación nos han permitido escoger las mejores nanopartículas y los microRNAs con mayor potencial terapéutico en el neuroblastoma. Así, con el actual proyecto pretendemos avanzar hacia la aplicación real en pacientes de esta nueva estrategia terapéutica.

El objetivo principal de la propuesta es completar los estudios de la fase preclínica no regulatoria (antes de la fase clínica con pacientes) para demostrar que esta nueva nanomedicina tiene una aplicación terapéutica para tratar tumores altamente agresivos como el neuroblastoma.

Los objetivos concretos serán:

- 1) La caracterización de la biodistribución *in vivo* (utilizando modelos animales), la internalización celular y distribución subcelular de las nanopartículas que transportan los microRNAs.
- 2) Realización de análisis preclínicos de eficacia con las nanopartículas que contienen los microRNAs seleccionados.
- 3) Desarrollo de nanopartículas-miRNA para uso reglamentario preclínico que cumpla con los requisitos de la industria farmacéutica y autoridades regulatorias.

Una vez logrado estos objetivos quedarán pocos pasos para llegar a la fase clínica de desarrollo del fármaco en pacientes.

Para lograr estos objetivos, se necesita un equipo multidisciplinar altamente cualificado en un marco de tiempo de cinco años.

## Impacto del proyecto en la sociedad

No podemos obviar que el número relativamente bajo de pacientes no proporciona incentivos convincentes para la inversión privada en programas de desarrollo de fármacos para enfermedades raras como el cáncer pediátrico en general y el neuroblastoma en particular.

Desarrollar una idea desde una necesidad médica hasta un tratamiento eficaz disponible en el mercado es un proceso largo y complejo. Los centros de investigación (o universidades) generalmente no tienen la experiencia para transformar sus ideas en productos aplicables, y la industria no tiene la paciencia ni el tiempo para emprender una investigación básica. Este fenómeno común en la industria de la innovación, conocido como el "valle de la muerte", es donde muchas nuevas ideas que atraviesan el proceso de innovación comienzan a tambalearse.

Este proyecto representará varios pasos hacia adelante para la aplicación de los microRNAs como tratamiento para pacientes con neuroblastoma, y por lo tanto, proporcionará un puente que sortee este valle de la muerte y, en última instancia, la tecnología podrá aplicarse para el beneficio del paciente.

Finalmente, es necesario resaltar y agradecer a la asociación NEN por brindar recursos para la investigación del neuroblastoma y ayudar a acelerar el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos tratamientos.

## Presupuesto

El presupuesto del proyecto se destinará a contratar personal altamente cualificado, para la compra de material y reactivos para llevar a cabo los experimentos y el coste de los servicios necesarios para su realización.

**Personal:** 100.000€ (20.000 euros/año x 5 años). 50% del salario de un investigador postdoctoral con dedicación completa al proyecto o bien ~90% del salario de un investigador predoctoral.

**Fungible:** 180.000€ .Material y reactivos para los experimentos en el laboratorio y con los modelos animales (material para el cultivos de células, reactivos de transfección, miRNAs, kits de extracción de RNA, reactivos de qPCR, plásticos de laboratorio y cultivos, ratones inmunodeficientes y reactivos para procesar tejidos).

**Costes de Servicios:** 120.000€. Costes relacionados con el servicio de “Validación Funcional y Plataforma de Investigación Preclínica” para la realización de los experimentos de biodistribución. Costes del estabulario derivados del mantenimiento de los animales de experimentación y de la plataforma de imagen. Así como costes del servicio de histología.

**Publicaciones:** 8.000€. Costes relacionados con las publicaciones *Open Access* y material para las actividades de divulgación y comunicación.