

## Premio Nobel de Medicina o Fisiología 2023

ISABEL A. LÜTHY<sup>1,2</sup>, ISABEL N. KANTOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Comité de Redacción, Medicina (Buenos Aires), <sup>2</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental, IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina

E-mail: isabel.luthy@gmail.com; isabel.kantor1@gmail.com

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2023 fue otorgado conjuntamente a Katalin Karikó y Drew Weissman por sus descubrimientos concernientes a las modificaciones de bases nucleosídicas, que permitieron el desarrollo de vacunas de ARN mensajero (ARNm) contra COVID-19.

El comunicado de prensa destaca que los descubrimientos de estos dos laureados fueron críticos para el desarrollo de vacunas ARNm eficaces contra COVID-19, durante la pandemia que comenzó en 2020. Estos hallazgos cambiaron de manera fundamental la comprensión de cómo el ARNm interactúa con nuestro sistema inmune, contribuyendo al desarrollo de vacunas a una velocidad sin precedentes, durante una de las más grandes amenazas a la salud humana de los tiempos modernos<sup>1</sup>.

Citan en el comunicado de prensa tres trabajos señalados como fundamentales. En el primero de ellos Karikó y Weissman notaron que las células dendríticas reconocen *in vitro* al ARNm transcrito como una sustancia extraña, provocando su activación y la liberación de citoquinas inflamatorias<sup>2</sup>. El ARN contiene 4 bases (A, U, G, y C). Karikó y Weissman sabían que las bases nucleosídicas del ARN de mamíferos, frecuentemente se hallan químicamente modificadas, mientras que aquellas de los transcritos *in vitro* no lo están. Para investigar si la ausencia de bases alteradas en el ARN transcrito podía explicar la reacción inflamatoria no deseada, produjeron diferentes variantes de ARNm, que incubaron con células dendríticas. La reacción inflamatoria se anulaba cuando incluían bases modificadas en el ARNm. Éste fue un cambio de

paradigma sobre la manera en que las células reconocen y responden a distintas formas de ARNm. Inmediatamente entendieron que su descubrimiento tenía una profunda significación para el uso de terapias basadas en ARNm.

En dos trabajos posteriores, también considerados fundamentales<sup>3,4</sup>, mostraron que la administración de ARNm generado con bases modificadas aumentaba marcadamente la producción de proteínas con respecto al ARNm no modificado. El efecto era debido a la reducción de la actividad de una enzima que regula la producción de proteínas. Expresándolo más técnicamente, demostraron que los transcritos que contienen uridina activan la proteína quinasa dependiente de ARN (PKR), que fosforila el factor de iniciación de la traducción eIF2 $\alpha$ , inhibiendo la traducción. En cambio, los ARNm que contienen pseudouridina activan en menor grado a PKR y la traducción no es reprimida.

Al descubrir que la modificación de bases reduce la respuesta inflamatoria mientras aumenta la producción de proteínas, Karikó y Weissman eliminaron obstáculos críticos para la aplicación clínica del ARNm.

### La historia

La intensa historia de las vacunas ARNm se inicia en los años 60, con el descubrimiento del ARNm; en 1965 se producen los primeros liposomas (burbujas compuestas por moléculas lipídicas), y las primeras proteínas a partir del ARNm. En los años 70 se comienzan a emplear liposomas para liberar drogas en el organismo. Y después de 1975 ya se libera experimentalmente

ARNm “envuelto” en liposomas a células humanas<sup>5,6</sup>.

En la década de los 80 se sintetiza ARNm en el laboratorio. Entre 1990 y 1995 se ensaya la primera vacuna ARNm para influenza en ratas, y una vacuna ARNm contra cáncer, en ratones. Los ARNm sintéticos presentan la gran ventaja de un procesamiento intracelular sencillo, expresión génica rápida y robusta, y se pueden producir fácilmente. Sin embargo, la incorporación de estos ARNm sintéticos a las células y tejidos “blanco” resulta problemático por su frágil naturaleza y susceptibilidad a la degradación<sup>5</sup>.

En la década de los 90, Karikó y Weissman, ambos entonces en la Universidad de Pensilvania (UPenn) en Filadelfia, descubren que alterar parte del código del ARNm ayuda al ARNm sintético a escapar de la barrera de defensas inmunes innatas de las células. Juntos, planeaban desarrollar una vacuna basada en ARNm para el HIV/Sida. Pero los ARNm de Karikó, inyectados en ratones, dispararon reacciones inflamatorias masivas<sup>6</sup>.

Pronto descubrieron la razón: el ARNm sintético estaba despertando una serie de sensores inmunitarios conocidos como *Toll-like receptors*, que actúan generando la primera respuesta a las señales de peligro de patógenos. Y en 2005, ambos informaron que reorganizar los enlaces químicos en uno de los nucleótidos del ARNm, la uridina, para crear el análogo pseudouridina, parecía evitar que el cuerpo identifique al ARNm como un enemigo<sup>2</sup>.

Pero las vacunas de ARNm tienen una innovación adicional, las nanopartículas lipídicas (LNP), que protegen al ARNm y permiten transportarlo dentro de las células. Estas LNP tienen una mezcla de cuatro moléculas grasas: tres contribuyen a la estructura y estabilidad; la cuarta es un lípido ionizable. Este cóctel envolvente permite que el producto se mantenga estable tanto fuera como dentro del organismo humano<sup>7,8</sup>.

### Otros avances en vacunas de ARNm

En 2012 la Agencia de Proyectos de Investigación Avanzada de Defensa de EE.UU. decide financiar investigaciones de la industria sobre vacunas y medicamentos de ARN. Desde entonces, hasta 2015, Moderna y otras compañías, centran sus planes de desarrollo, en investigaciones so-

bre aprovechamiento del ARNm para inducir células del cuerpo a producir sus propios medicamentos - solucionando así las enfermedades causadas por proteínas defectuosas. Pero esos planes fracasan, y se opta por priorizar un objetivo menos ambicioso: producir vacunas<sup>5,6</sup>.

En esos años CureVac AG inició estudios preclínicos con el antígeno principal del virus de la rabia, el ARNm de la glicoproteína de la envoltura (RABV-G) encapsulado en LNP, que mostraron resultados positivos, tanto en ratones como en primates no humanos, y que se prosiguieron con estudios clínicos en humanos<sup>6-9</sup>.

Numerosas vacunas de ARNm contra la influenza estacional se encuentran actualmente en ensayos clínicos de fase 1 a 3. Dos de las vacunas de ARNm del virus respiratorio sincicial (VRS) han sido aprobadas por la FDA (en marzo Arexvy de GSK y en agosto Abrysvo de Pfizer, ambas para mayores de 60 años) mientras que otras han avanzado a ensayos clínicos fase 2-3 en adultos y a fase 1 en niños. Una vacuna combinada de ARNm de metapneumovirus humano y parainfluenza-3 es inmunogénica, y bien tolerada en adultos. Se están realizando ensayos clínicos de vacunas de ARNm que combinan antígenos de múltiples virus respiratorios<sup>8-10</sup>.

Estos conceptos y los avances logrados se pueden aplicar a otras vacunas virales, y extenderse aún mucho más allá...

### Y llega la pandemia de COVID-19

La secuencia del genoma del virus está disponible, Pfizer/BioNTech y Moderna son las pioneras en un rápido desarrollo de vacunas ARNm contra COVID-19, y obtienen la aprobación de uso de emergencia para la vacunación en unos 10 meses<sup>6</sup>.

### Katalin Karikó, ejemplo de perseverancia y resiliencia

Katalin Karikó creció en una pequeña ciudad de Hungría, hija de un carnicero. Decidió que quería ser científica, aunque nunca había conocido a ninguno. Obtuvo su doctorado en la Universidad de Szeged y realizó su postdoctorado en su *Biological Research Center*. En 1985, la Dra. Karikó, su esposo y su pequeña hija de 2 años, Susan, se mudaron a Filadelfia llevando dinero cosido en un osito de peluche de Susan (quien

ha ganado dos medallas de oro olímpicas en remo). Por décadas no consiguió una posición permanente. Su carrera en la Universidad de Pensilvania fue frágil, mudándose de laboratorio en laboratorio, con un presupuesto modesto. Un encuentro casual con el Dr. Weissman en una fotocopidora cambió el futuro de ambos. La Dra. Karikó se presentó como investigadora que podía obtener cualquier logro con el ARN, y el Dr. Weissman estaba interesado en una vacuna contra HIV, comenzando así una fructífera labor en el laboratorio de este último. El trabajo fundamental por el que obtuvieron el premio Nóbel<sup>2</sup> fue rechazado en las principales revistas

científicas hasta ser publicado en *Immunity* en 2005.

Hablaron con numerosas empresas farmacéuticas, que manifestaron poco interés por sus proyectos, salvo dos: Moderna, en EE.UU. y BioNTech en Alemania. Pfizer se asoció con BioNTech, y entre ellas ayudaron a financiar el laboratorio del Dr. Weissman<sup>11</sup>.

La persistencia y el “pensar diferente” llevaron a estos desarrollos fundamentales que desembocaron en las vacunas ARNm de Moderna y Pfizer que salvaron millones de vidas durante la pandemia y ayudan a desarrollar otras vacunas de enorme relevancia sanitaria.

## Bibliografía

1. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The Nobel prize in physiology or medicine 2023. En: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/press-release/>; consultado octubre 2023.
2. Kariko K, Buckstein M, Ni H, Weissman D. Suppression of RNA recognition by toll-like receptors: The impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity* 2005; 23: 165-75.
3. Anderson BR, Muramatsu H, Nallagatla SR, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA enhances translation by diminishing pkr activation. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 5884-92.
4. Kariko K, Muramatsu H, Welsh FA, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther* 2008; 16: 1833-40.
5. Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. *Nature* 2021; 597: 318-24.
6. Jeeva S, Kim KH, Shin CH, et al. An update on mRNA-based viral vaccines. *Vaccines* 2021, 9: 965
7. Schoenmaker L, Witzigmann D, Kulkarni JA, et al. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability. *Int J Pharm* 2021; 601: 120586.
8. Jeong M, Lee Y, Park J, Jung H, Lee H. Lipid nanoparticles (LNPs) for in vivo RNA delivery and their breakthrough technology for future applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2023; 200: 114990.
9. May M. After COVID-19 successes, researchers push to develop mRNA vaccines for other diseases. *Nature Medicine* 2021; 27: 930-2
10. Whitaker J, Sahly H, Healy C. mRNA vaccines against respiratory viruses. *Cur Op Infect Dis* 2023; 36: 385-93.
11. The New York Times. Long Overlooked, Kati Kariko Helped Shield the World From the Coronavirus. En: <https://www.nytimes.com/2021/04/08/health/coronavirus-mrna-kariko.html>; consultado octubre 2023.