

Genetic Reversal
Dr. Huda Zoghbi
Baylor College of Medicine

Η μελέτη έχει διεξαχθεί στο εργαστήριο ενός εξέχοντος ιατροεπιστήμονα, της δρ. Χούντα Ζόγκμπι, στο Ιατρικό Κολέγιο Baylor στο Χιούστον, Τέξας. Μέσω εξειδικευμένης γενετικής μηχανικής, το εργαστήριο Zoghbi θα σχεδιάσει ένα πείραμα που θα αναλύσει προσεκτικά τα συμπτώματα νόσου σε ένα ζωικό μοντέλο μετά την απενεργοποίηση του δεύτερου γονιδίου MECP2. Ενθαρρυντικά δεδομένα που υπο

Pharmaceutic Screen
Dr. Huda Zoghbi
Baylor College of Medicine

Ένα φάρμακο για τη μείωση του MeCP2 θα ήταν ο πιο απλός τρόπος για τους ασθενείς, οπότε για αυτό το έργο ο στόχος είναι να βρεθούν φάρμακα που μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα πρωτεΐνης MeCP2 ή να εντοπίσουν καλούς στόχους φαρμάκων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σχεδιασμό φαρμάκων για τη θεραπεία του Συνδρόμου Διπλασιασμού MECP2.

Δύο βασικές προσεγγίσεις για την εύρεση φαρμάκων που μειώνουν το mecp2 διερευνώνται.

Δοκιμάζοντας σχεδόν όλα τα τρέχοντα φάρμακα που έχουν εγκριθεί από το FDA για να δούμε αν κάποιο από αυτά μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα MeCP2. Τέτοιες στρατηγικές έχουν λειτουργήσει για να βρεθούν θεραπείες για άλλες νόσους, και αν βρεθεί κάποιο, η διαδρομή προς την κλινική χρήση θα επιταχυνθεί δραματικά αφού το φάρμακο θα είναι ήδη διαθέσιμο και το προφίλ ασφάλειάς του θα είναι γνωστό.

Δοκιμάζοντας κάθε γονίδιο στο γονιδιωματικό υλικό για να εντοπιστούν αυτά που ρυθμίζουν τα επίπεδα MeCP2. Μόλις εντοπιστούν οι ρυθμιστές MeCP2, μπορούν να αναζητηθούν προσπάθειες για την εύρεση φαρμάκων που μπορεί να τους αναστέλλουν. Αυτή η προσέγγιση δοκιμάστηκε πιλοτικά και πράγματι βρέθηκαν αρκετοί ρυθμιστές MeCP2.

Ένα φάρμακο για την αναστολή ενός ρυθμιστή δοκιμάστηκε στα ποντίκια MDS και μερικά από τα συμπτώματα των ποντικών βελτιώθηκαν. Για αυτό το έργο, θα παρακολουθηθούν όλοι οι ρυθμιστές καθώς και όσοι νέοι εντοπίζονται, με επιπλέον μελέτες σε ποντίκια για να καθοριστούν οι καλύτεροι στόχοι φαρμάκων και αν μπορούν να λειτουργήσουν ακόμα καλύτερα όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό.

Το εργαστήριο Zoghbi προσπαθεί να βρει τόσους πολλούς στόχους φαρμάκων και φάρμακα όσο είναι δυνατόν για να μεγιστοποιήσει τις πιθανότητες εύρεσης αυτών που είναι πιο αποτελεσματικά και ασφαλή και μπορούν να φέρουν στην κλινική για τη θεραπεία του Συνδρόμου Διπλασιασμού MECP2.

Antisense Oligionucleotide Therapy
Dr. Huda Zoghbi
Baylor College of Medicine

Το σύνδρομο διπλασιασμού *MeCP2* είναι μια νευρολογική διαταραχή που προκαλείται από το διπλασιασμό γενετικού υλικού στο χρωμόσωμα X, που καλύπτει το γονίδιο *MeCP2*. Ως αποτέλεσμα του διπλασιασμού, η πρωτεΐνη *MeCP2* παράγεται υπερβολικά σε δύο φορές τα φυσιολογικά επίπεδα.

Σε συνεργασία με την εταιρεία φαρμάκων *Ionis*, αναπτύξαμε ένα αντίστροφο φάρμακο (ASO) που μπορεί ειδικά να μειώσει τα επίπεδα της *MeCP2*. Χρησιμοποιήσαμε το μόριο ASO για να αναστρέψουμε τα συμπτώματα του Συνδρόμου Διπλασιασμού *MECP2* σε ώριμα ενήλικα ποντίκια με συμπτώματα και δείξαμε ότι η κανονικοποίηση των επιπέδων *MeCP2* οδήγησε σε βελτίωση όλων των χαρακτηριστικών του συνδρόμου. Ακόμα και όταν ξεκινήσαμε τη θεραπεία σε προχωρημένη ηλικία, 6-8 μήνες, τα ζώα επωφελήθηκαν και σταμάτησαν να έχουν κρίσεις. Αυτά τα αποτελέσματά μας δίνουν ελπίδα ότι υπάρχει δυνατότητα αναστροφής των συμπτωμάτων στους ανθρώπους αν μπορούμε να παραδώσουμε το ASO και να ελέγχουμε ασφαλώς τα επίπεδα της *MeCP2*.

Για να προετοιμαστούμε για κλινικές μελέτες πρέπει να δημιουργήσουμε και να χαρακτηρίσουμε ποντίκια που, όπως και οι άνθρωποι με διπλασιασμό, έχουν δύο αντίγραφα του ανθρώπινου γονιδίου (και χωρίς γονίδιο ποντικίου). Δημιουργήσαμε τέτοια ποντίκια και τώρα τα χαρακτηρίζουμε. Χρειαζόμαστε επίσης να χρησιμοποιήσουμε μια νέα μέθοδο διοχέτευσης των ASO που έχει αποδειχθεί επιτυχής σε ανθρώπινα βρέφη.

Σε αντίθεση με την προηγούμενη εργασία μας, όπου τα ASO υφίσταντο σταδιακή έγχυση για ένα διάστημα 4 εβδομάδων χρησιμοποιώντας μίνι αντλίες οσμώσεως, σε αυτήν τη νέα έρευνα θα χρησιμοποιήσουμε τη στρατηγική μονής ενέσιμης εισαγωγής εντός του εγκεφάλου. Βασιζόμενοι στην εμπειρία των συνεργατών μας *Ionis* σε πρόσφατες κλινικές δοκιμές, η στρατηγική της μονής ενέσιμης εισαγωγής οδηγεί σε πολύ ευρύτερη διανομή του φαρμάκου, σε σύγκριση με την αργή και σταδιακή έγχυση. Διότι η έχει τα κατάλληλα επίπεδα *MeCP2* είναι κρίσιμο για τη λειτουργία του εγκεφάλου, πρέπει να προσδιορίσουμε την ιδανική δόση του ASO που θα φέρει τα επίπεδα της *MeCP2* από διπλάσια των φυσιολογικών σε φυσιολογικά.

Πρέπει να ορίσουμε προσεκτικά τη δόση έτσι ώστε τα επίπεδα να μην υποβαθύν κάτω από το αναμενόμενο φυσιολογικό για να αποφευχθούν επιπλοκές από την έλλειψη *MeCP2*. Όλες αυτές οι μελέτες για τη βελτιστοποίηση της διοχέτευσης του ASO, τη δοσολογία και την ρύθμιση της δόσης θα γίνουν στο νέο μοντέλο ποντικίου, που, όπως και οι άνθρωποι, εκφράζει δύο αντίγραφα του ανθρώπινου γονιδίου.

Gene Therapy: Vector-Based RNAi
Dr. Kevin Foust
Ohio State

Το πείραμα γονιδιακής θεραπείας στο εργαστήριο του δρ. Kevin Foust περιλαμβάνει τη χρήση Vector-Based RNAi. Ουσιαστικά, αυτό που επιδιώκει αυτό το έργο είναι να μειώσει ή να απενεργοποιήσει το διπλασιασμένο γονίδιο MECP2 μέσω του RNAi.

Stem cell-derived 'mini-brains' reveal potential drug treatment
Dr. Alysson Muotri
University of California-San Diego

Χρησιμοποιώντας "μικρά εγκεφαλάρια" που έχουν κατασκευαστεί με επαναφορτιζόμενα πολύδροσα κύτταρα που προέρχονται από ασθενείς με το Σύνδρομο Διπλασιασμού MECP2, οι ερευνητές λένε ότι έχουν εντοπίσει ένα υποψήφιο φάρμακο που φαίνεται να "σώζει" δυσλειτουργικά κύτταρα με την κατάπτωση μιας κρίσιμης γενετικής μεταλλαγής.

siRNA Therapy
Dr. Anastasia Khvorova
UMass Medical Center

Ένας τρόπος για τη σίγαση των γονιδίων είναι μέσω μικρών ανασταλτικών RNA ολιγονουκλεοτιδίων (siRNAs). Τα siRNA εμποδίζουν τη μετάφραση των στοχευμένων πρωτεϊνών δεσμεύοντας και προωθώντας την καταστροφή του RNA τους. Στο έργο της δρ. Κηνορονα, ένα MeCP2 siRNA θα καθοδηγεί μοριακά ψαλίδια στο RNA του MeCP2 για καταστροφή, μειώνοντας έτσι το επίπεδο του RNA του MeCP2 στο κύτταρο.

Η δρ. Κηνορονα έχει αναπτύξει ένα νέο πλαίσιο αναστολής του RNA που σε μοντέλα ζώων δείχνει αξιόπιστη διανομή siRNA σε όλο τον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό. Η προσέγγισή της υποδηλώνει ότι η αντιμετώπιση με siRNA θα χρειαστεί να δοσολογείται κάθε 9 έως 12 μήνες στους ανθρώπους και μπορεί να έχει καλύτερο προφίλ ασφαλείας από άλλες μορφές σίγασης γονιδίων.

Η δρ. Κηνορονα είναι πρωτοπόρος στον τομέα των ολιγονουκλεοτιδίων και ανήκει στο Ινστιτούτο Θεραπευτικής RNA στο UMass που συγκεντρώνει ένα κρίσιμο αριθμό επιστημόνων με εμπειρία στο RNA, συμπεριλαμβανομένου του Νόμπελ Craig Mello. Το Ινστιτούτο έχει έντονη έμφαση στην ανάπτυξη θεραπευτικών για νευρολογικές νόσους.

CRISPR Therapy
Dr. Ronald Cohn
The Hospital for Sick Children

Το Σύνδρομο Διπλασιασμού MECP2 (MDS) είναι μια διαταραχή στην ανάπτυξη του εγκεφάλου που προκαλείται από την ύπαρξη επιπλέον αντίγραφου του γονιδίου mecp2. Υπάρχει επίσης πάντα ένα επιπλέον αντίγραφο ενός γειτονικού γονιδίου που ονομάζεται IRAK1. Ωστόσο, τα τρέχοντα ζωικά και κυτταρικά μοντέλα για αυτή την κατάσταση μελετούν μόνο τις επιπτώσεις του επιπλέον mecp2 χωρίς να λαμβάνουν υπόψη το IRAK1. Για να κατανοήσουμε καλύτερα τον ρόλο του IRAK1 στο MDS, το εργαστήριό μας δημιούργησε ένα ειδικό μοντέλο ποντικών με επιπλέον αντίγραφα και των δύο γονιδίων mecp2 και IRAK1. Αυτό μας επιτρέπει να μελετήσουμε καλύτερα τη νόσο και να δοκιμάσουμε δυναμικές θεραπείες.

Βρήκαμε ότι τα ειδικά μας ποντίκια με επιπλέον αντίγραφα των γονιδίων mecp2 και IRAK1 έδειξαν σημάδια νόσου που επιδεινώθηκαν καθώς γερνούσαν. Στα 10 εβδομάδες, αυτά τα ποντίκια είχαν μεγαλύτερους εγκέφαλους σε σχέση με το μέγεθος του σώματός τους και ήταν πιο ενεργά και λιγότερο ανήσυχά από τα κανονικά ποντίκια. Καθώς γερνούσαν, οι διαφορές έγιναν πιο προφανείς. Είχαν χαμηλότερο σωματικό βάρος και χειρότερη ισορροπία στις 52 εβδομάδες. Αυτά τα ποντίκια ζούσαν επίσης μικρότερο χρονικό διάστημα, παρόμοιο με αυτό που παρατηρείται στους ανθρώπινους ασθενείς με MDS.

Διότι το MDS επηρεάζει την ανάπτυξη του εγκεφάλου, δοκιμάσαμε τις ικανότητες μάθησης του μοντέλου ποντικιού μας. Όταν υποβάλαμε τα ποντίκια σε ένα τεστ μάθησης φόβου, έδειξαν ανορθόδοξη συμπεριφορά μάθησης, αντιδρώντας πιο έντονα σε ενδείξεις που τους θύμιζαν άσχημες εμπειρίες. Επίσης, ανακαλύψαμε ότι οι κύτταροι του εγκεφάλου τους είχαν αυξημένη σημαση μεταξύ τους, που μπορεί να είναι ο λόγος για την ανώμαλη συμπεριφορά μάθησης.

Δοκιμάσαμε επίσης πώς ανταποκρίνονται αυτά τα ποντίκια στον ιό της γρίπης, δεδομένου ότι το γονίδιο IRAK1 εμπλέκεται στον έλεγχο της φλεγμονής. Τα ποντίκια με επιπλέον αντίγραφα των γονιδίων mecp2 και IRAK1 είχαν μια ισχυρότερη ανοσοαπόκριση στον ιό. Αυτό δεν έχει παρατηρηθεί σε άλλα μοντέλα ποντικών με μόνο επιπλέον mecp2, επομένως μπορεί να οφείλεται στο επιπλέον γονίδιο IRAK1 στο μοντέλο μας.

Για να κατανοήσουμε καλύτερα τους ρόλους των mecp2 και IRAK1 στο MDS, θα θέλαμε να δημιουργήσουμε νέα μοντέλα ποντικών με επιπλέον αντίγραφα μόνο του mecp2 ή μόνο του IRAK1. Με τη σύγκριση της συμπεριφοράς, της λειτουργίας του εγκεφάλου και των ανοσοαποκρίσεων αυτών των νέων ποντικών με το αρχικό μας μοντέλο ποντικών, μπορούμε να καταλάβουμε πόσο συνεισφέρει κάθε γονίδιο στη νόσο.

Τώρα που έχουμε ένα μοντέλο ποντικιού που αντιπροσωπεύει καλύτερα την ανθρώπινη κατάσταση του MDS, μπορούμε να το χρησιμοποιήσουμε για να δοκιμάσουμε μια νέα θεραπεία βασισμένη στην τεχνολογία επεξεργασίας του γονιδιώματος CRISPR. Αυτή η θεραπεία στοχεύει στην αφαίρεση των επιπλέον γονιδίων mecp2 και IRAK1. Βρήκαμε έναν τρόπο να το κάνουμε αυτό στα κύτταρα στο εργαστήριο, και επόμενο βήμα μας είναι να το δοκιμάσουμε στα ποντίκια. Στη συνέχεια θα δούμε αν αυτή η θεραπεία μπορεί να αναστρέψει τα σημάδια της νόσου στα ποντίκια.

MDS Clinical Studies for Drug Treatment
Dr. Davut Pehlivan
Baylor College of Medicine

Το Σύνδρομο Διπλασιασμού MECP2 (MDS) εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται σχετικά ανεπαρκώς, με νέα χαρακτηριστικά που συνεχίζουν να εντοπίζονται. Η ακριβής συχνότητα κάθε συμπτώματος διαφέρει σημαντικά μεταξύ κάθε ομάδας και πρέπει να καθοριστεί με πιο αξιόπιστο τρόπο. Το Κέντρο Rett του Νοσοκομείου Παιδιών του Τέξας (TCH) στο Χιούστον έχει αυτή τη στιγμή λεπτομερείς γενετικές πληροφορίες για περίπου 100 ασθενείς. Σημαντικό είναι ότι οι περισσότεροι έχουν υποβληθεί σε κλινική αξιολόγηση στο TCH. Έχει συγκροτηθεί μια ομάδα ειδικών που είναι εξοικειωμένοι με τις διαταραχές που σχετίζονται με το mecp2 και την ανάπτυξη κλίμακας σοβαρότητας. Αυτοί οι ειδικοί θα διατυπώσουν και θα αναπτύξουν το πρώτο σύνολο τομέων στην κλίμακα σοβαρότητας. Θα προστεθούν επιπλέον μελέτες έρευνας που καλύπτουν τα βασικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου. Αυτές οι μελέτες θα παρέχουν κρίσιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη της κλίμακας και θα μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε καλύτερα τη φυσική πρόοδο του MDS. Μόλις αναπτυχθεί η κλίμακα, θα κοινοποιηθεί σε όλους τους ενδιαφερόμενους φορείς, τις επηρεασμένες οικογένειες και τους παροχείς φροντίδας, θεραπευτές, γιατρούς, ερευνητές και βιομηχανία.

Κατανόηση πώς και σε ποιο βαθμό οι γονομικές διαρροές συνεισφέρουν στη σοβαρότητα των ασθενών.

Σύγχρονες τεχνολογίες όπως η υψηλή ανάλυση συγκριτικής γονομικής υβριδισμού με πίνακες, η οπτική απεικόνιση και η πλήρης ακολουθία γονιδιώματος θα χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση των διαφόρων γονομικών διπλασιασμών. Τα επίπεδα πρωτεϊνών θα αναλυθούν επίσης και θα συγκριθούν με τη γενετική δομή και την κλινική σοβαρότητα. Θα αναπτυχθούν βιοδείκτες για να χρησιμοποιηθούν ως καθοδηγητικό εργαλείο για τη δοσολογία του ASO προκειμένου να εξασφαλιστεί η ασφάλεια. Βιοδείγματα, συμπεριλαμβανομένου του αίματος, του δέρματος και του εγκεφαλικού-νωτιαίου υγρού, έχουν συλλεγεί για την αναγνώριση βιοδεικτών από 10 ασθενείς με MDS και 10 αρσενικούς ασθενείς με Σύνδρομο Rett. Οι σχεδιασμοί είναι να συνεχιστεί η εγγραφή πρόσθετων ασθενών. Θα γίνουν διάφορες αναλύσεις για την αναγνώριση βιοδεικτών που σχετίζονται με την σοβαρότητα της νόσου.