

עדכונים מכנס האנגלמן האירופאי הבינלאומי ה-3 בפריז 2014 וחידושים במחקר בתחום

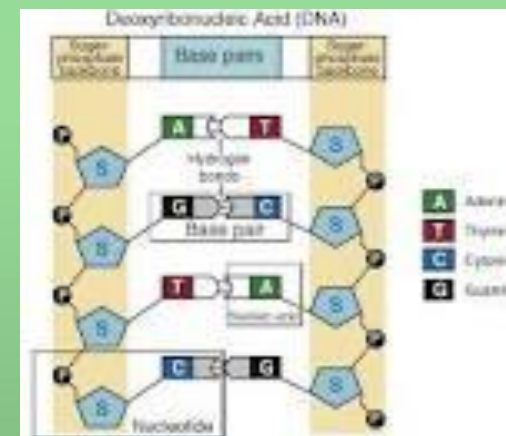
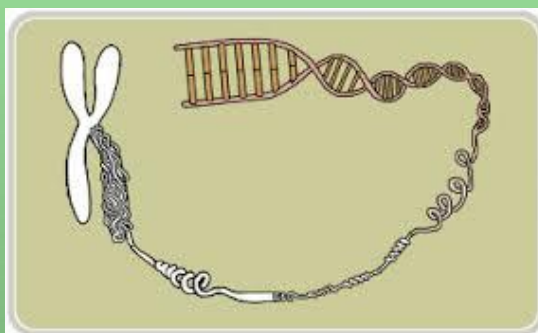
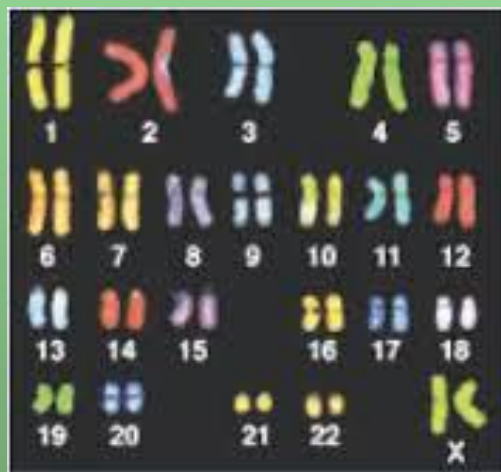
ד"ר גלי חבצלת-היימר,
מרכזת מרפאת האנגלמן,
היחידה לנוירולוגיה של הילד,
בית החולים ספרא לילדים,
המרכז הרפואי המשולב שיבא



כנס משפחות ילדי תסמונת אנגלמן
פארק אריאל שרון, 19/11/2014

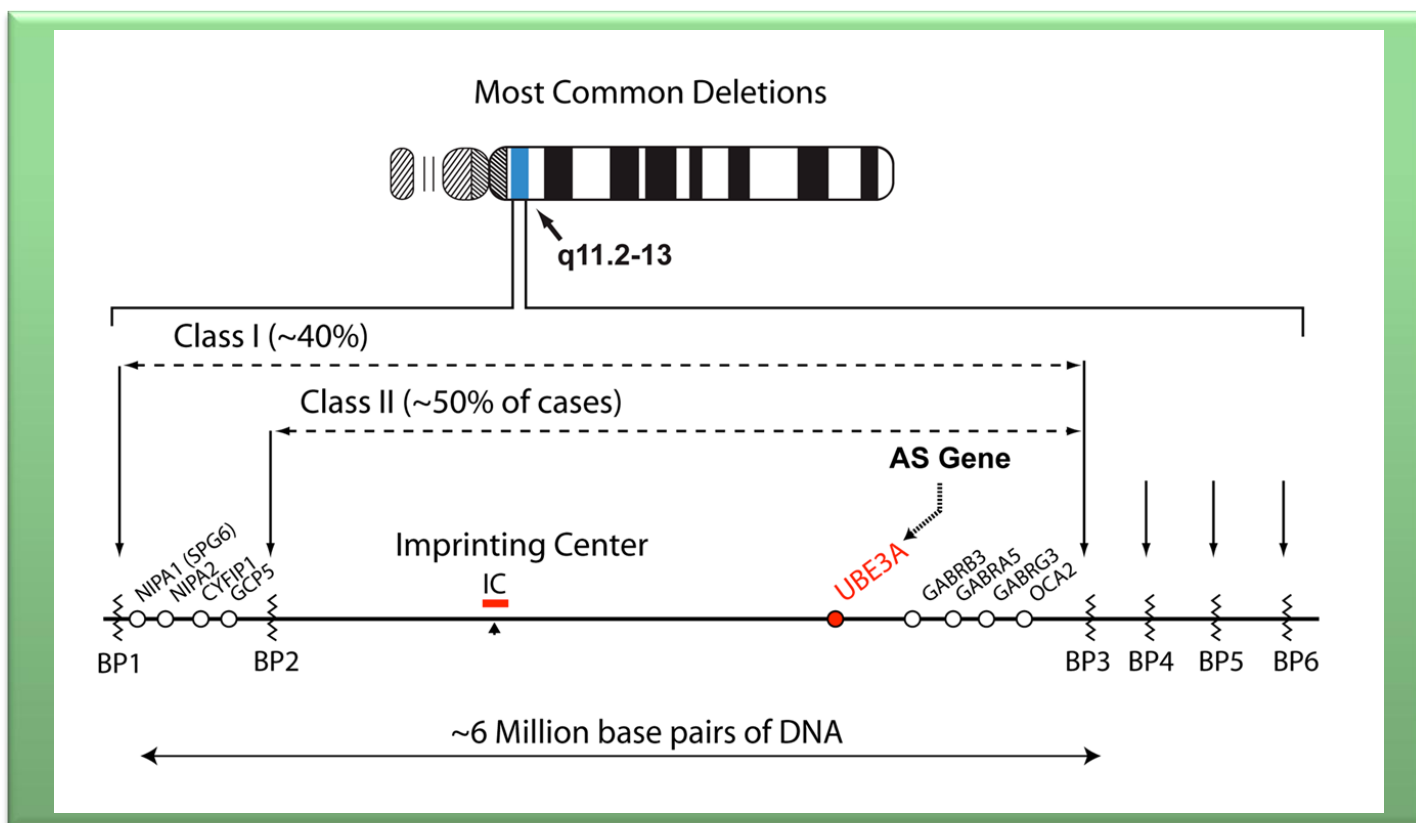


הבסיס הגנטי בתסמונת אנגלמן



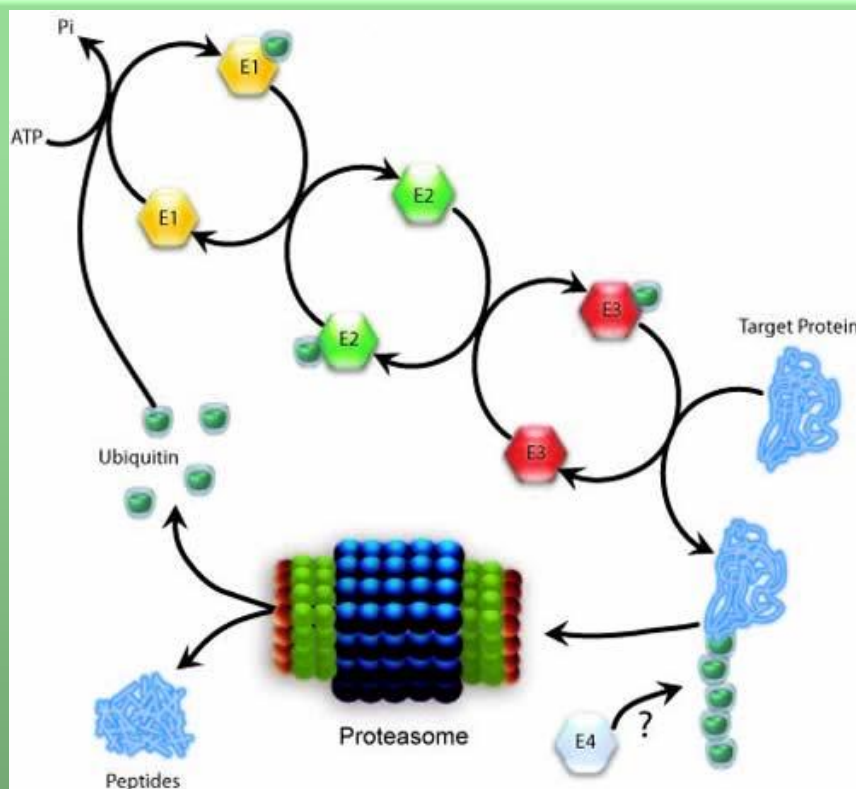
הבסיס הגנטי בתסמונת אנגלמן - המשך

החסר הגנטי בתסמונת אנגלמן – נמצא על כרומוזום 15



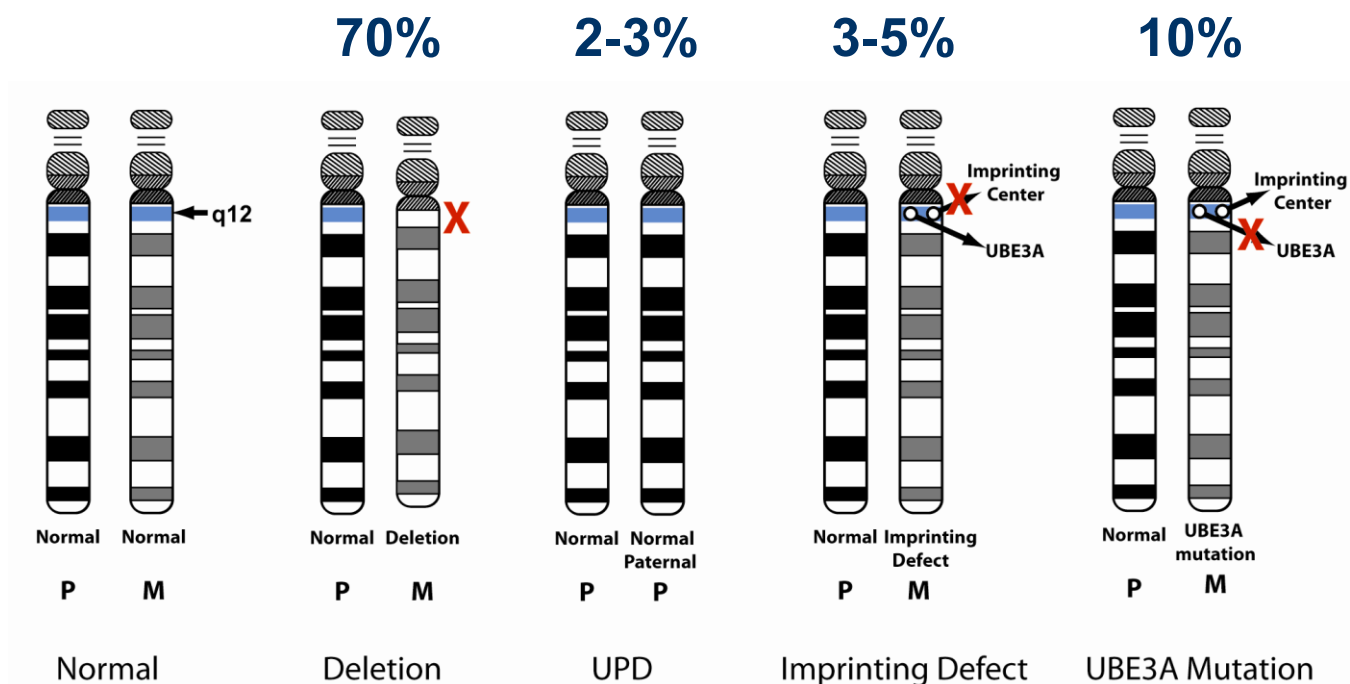
הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך

UBE3A אחראי על סימון חלבונים המיועדים לפירוק



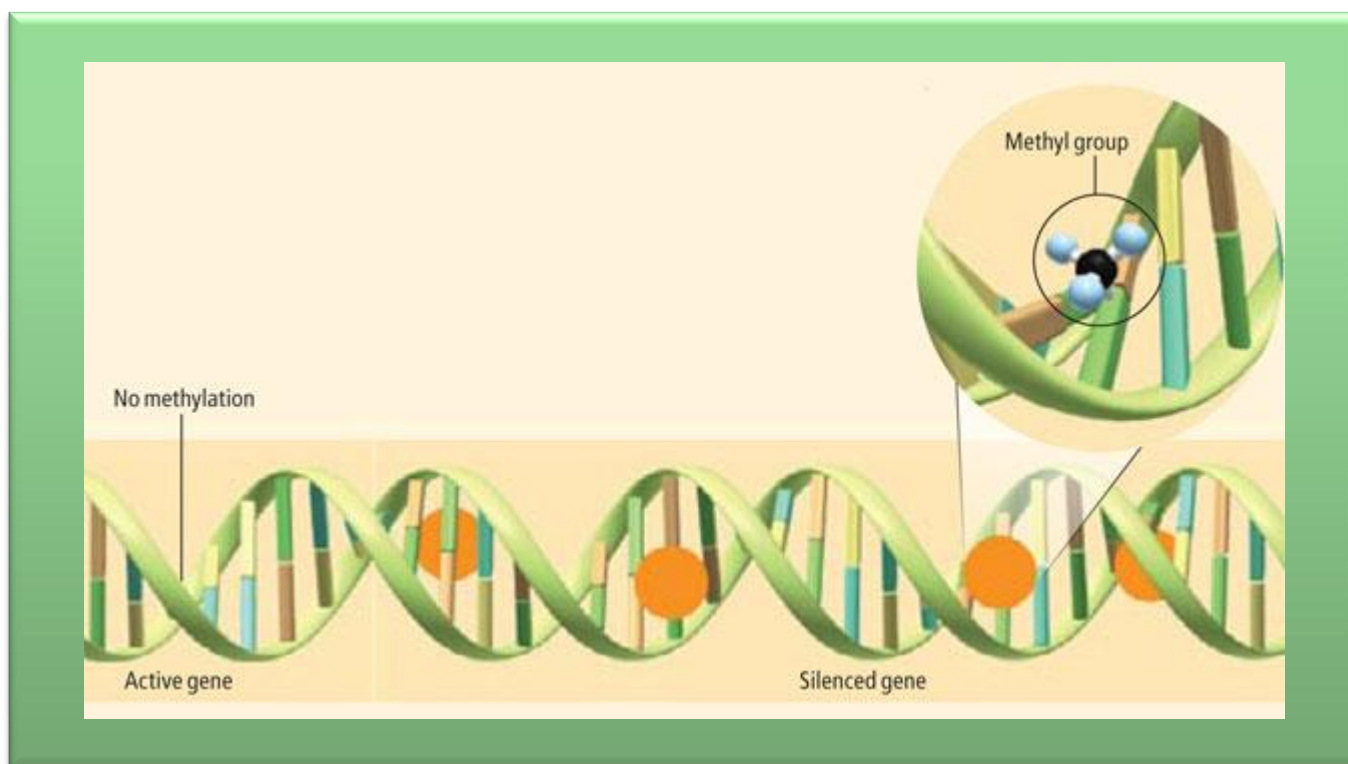
הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך

בכל המנגנונים הגנטיים העותק האבהי של UBE3A שמור

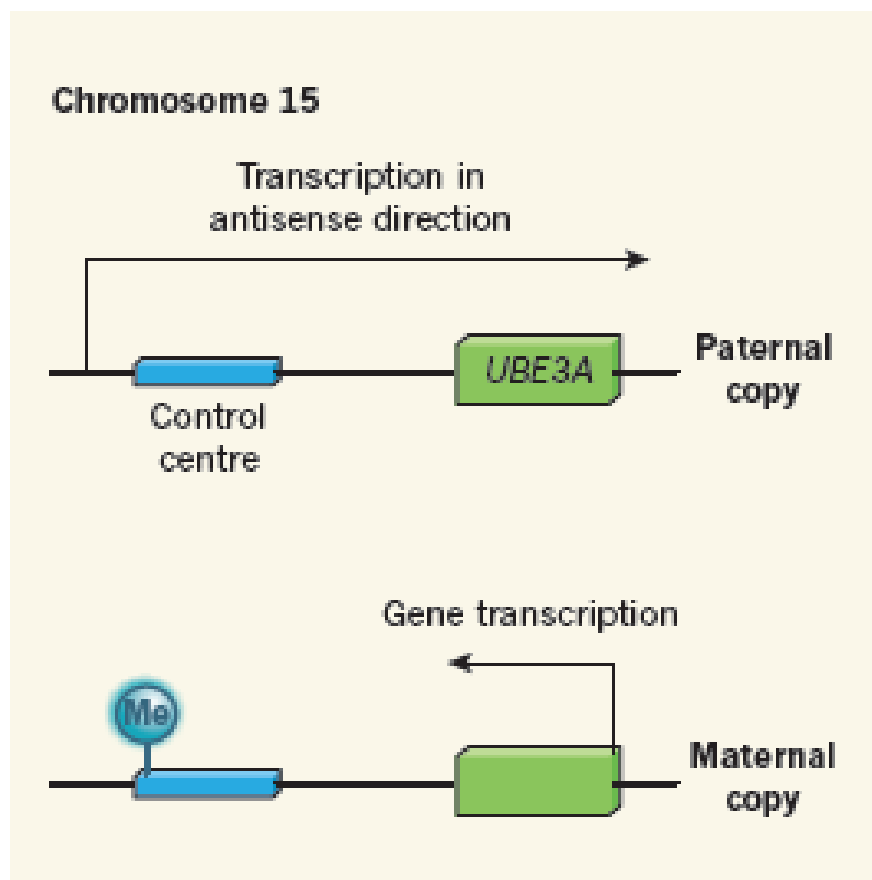


הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך

העותק האבהי של הגן UBE3A עובר השתקה באופן קבוע



הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך



ההשתקה של העותק
האבהי של הגן UBE3A
מתבצעת ע"י antisense



כיווני המחקר לטיפולים בתסמונת אנגלמן

❖ 3 דרכים שונות לביטול ההשתקה של

UBE3A - מחקר ה- Topotecan

- מחקר ה- Antisense oligonucleotides

- מחקר ה- Zinc Fingers



❖ אפיון חלון זמן קריטי לשינוי של הפנוטיפ ע"י ביטול
ההשתקה

מחקר ה- Topotecan

Dr. Benjamin Philpot and Dr.
Marc Zylka, North Carolina
University



מחקר ה- Topotecan - המשך

ינואר 2012:

❖ הזרקה של Topotecan (כימותרפיה) לעכברים עם תסמונת אנגלמן הביאה לביטול ההשתקה של הגן האבהי.

LETTER

doi:10.1038/nature10726

Topoisomerase inhibitors unsilence the dormant allele of *Ube3a* in neurons

Hsien-Sung Huang^{1*}, John A. Allen^{2*}, Angela M. Mabb¹, Ian F. King¹, Jayalakshmi Miriyala¹, Bonnie Taylor-Blake¹, Noah Sciaky², J. Walter Dutton Jr¹, Hyeong-Min Lee², Xin Chen³, Jian Jin³, Arlene S. Bridges⁴, Mark J. Zylka^{1,5,6}, Bryan L. Roth^{2,5,6,7,8} & Benjamin D. Philpot^{1,5,6}



מחקר ה- Topotecan - המשך

- ❖ הזרקה של Topotecan ישירות למח בעכברים עם פגם ב- UBE3A (הגן של תסמונת אנגלמן) למשך שבועיים
- ❖ הורידה את ביטוי ה- antisense והעלתה ביטוי של UBE3A האבהי ללא השפעה על המתילציה במרכז ההחתמה
- ❖ האנזים האבהי שהתבטא היה בעל פעילות תקינה
- ❖ ההשפעה נותרה גם 12 שבועות מסיום הטיפול ב- Topotecan



מחקר ה- Topotecan - עידכונים

- ❖ בינתיים נמצא כי ההשפעה נותרה גם לאחר שנה מתום ההזרקות
- ❖ השפעת ה- Topotecan נבדקה על IPS שגודלו מחולים ונמצאה דומה לזו שהייתה בעכברים
- ❖ נבדקו 49 גנים נוספים הפועלים במנגנון ההחתמה ורק ה- UBE3A הושפע מה- Topotecan



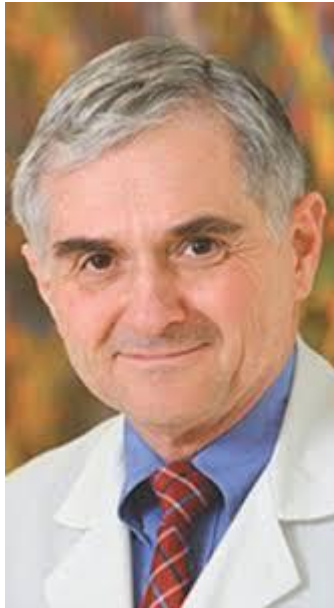
מחקר ה- Topotecan - חסרונות

- ❖ רעילות - דיכוי פעילות סינפטית
- ❖ חדירות נמוכה של מחסום הדם-מח (BBB) ולכן ניתן ישירות לנוזל ה-CSF בזריקות לעמוה"ש.
- ❖ פיזור בלתי אחיד במח
- ❖ טרם נוסה על חיות לבדיקת שיפור התנהגותי

מחקר ה- Topotecan – תוכניות עתידיות

- ❖ עובדים בשיתוף פעולה עם 2 מהמובילים בעולם בפיתוח תכשירים שהם מעכבי טופואיזומרז (Prof. Mark Cushman – אינדיאנה, NIH - Dr. Yves Pommier) ויש כבר כ- 30 תכשירים בעלי פעילות דומה הנבדקים כעת ל – אפקט ומשך השפעה, חדירות ופיזור אחיד במח, רעילות)
- ❖ לאחר שימצאו חומרים קנדידטים טובים יעשו הערכה התנהגותית בחיות. המתינו כשנה לחתימת חוזה לביצוע הניסוי בעכברים ובימים אלו אמור להיות מאושר.

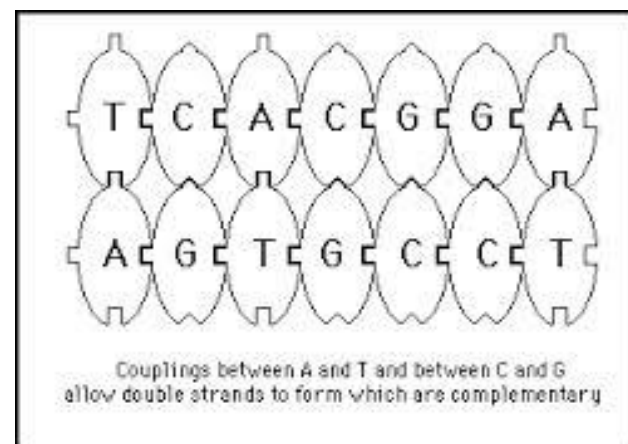
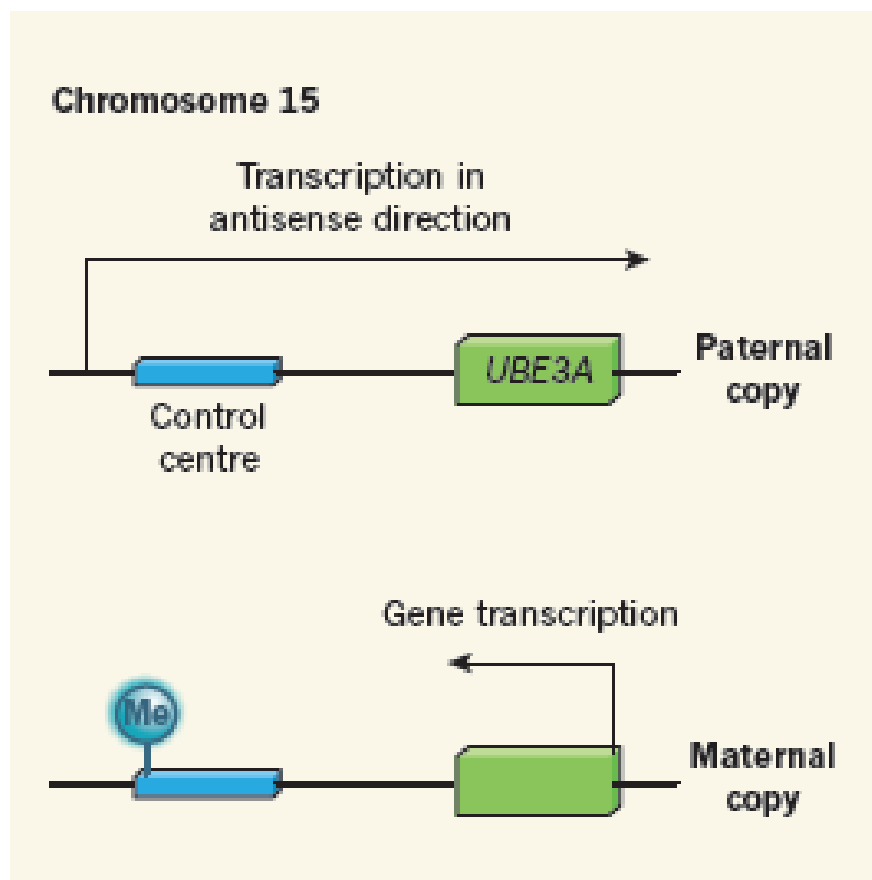
מחקר ה- Antisense oligonucleotide



Arthur L. Beaudet – a professor of molecular and human genetics at Baylor College of Medicine



הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - תזכורת



Antisense oligonucleotide - המשך

- ❖ דרך תרביות נוירונים של עכבר אותר רצף של אוליגונוקלאוטידים הנקשרים ל-Antisense של ה-UBE3A בעכבר (ASOs)
- ❖ הזרקת ה-ASOs לנוזל חוט השדרה בעכברי תסמונת אנגלמן בני 2-4 ח' הביאה לירידה ברמת ה-Antisense ועליה בביטוי של ה-UBE3A האבהי.
- ❖ הביטוי המוגבר היה בכל אזורי המח.
- ❖ האפקט נשאר גם חודש לאחר הזרקת בודדת.



Antisense oligonucleotide - המשך

חסרונות:

- ❖ מצריך הזרקה לנוזל חוט השדרה פעם ב 1-3 חודשים.
לא צופה שתהיה בעתיד דרך מתן אחרת.
- ❖ עליית הביטוי של UBE3A האבהי הייתה פחות מאשר ב- WT
ומנסים למצוא דרך לגרום לעליה משמעותית יותר בביטוי.
- ❖ הפנוטיפ בעכבר השתפר רק חלקית.
- ❖ טרם נבדק על תאים הומאנים ויתכן שיהיה צורך למצוא ASOs
התואמים ל- Antisense ההומאני.



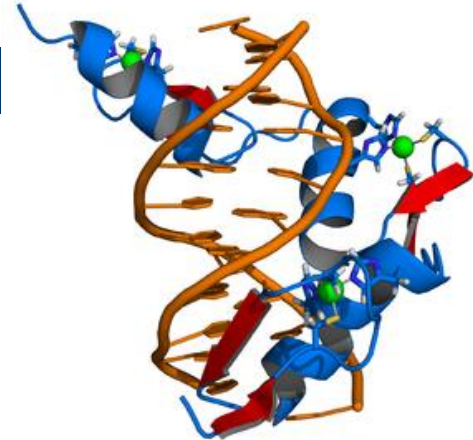
מחקר ה- Zinc fingers



David Segal – an associate professor in protein engineering, UC Davis Genome Center



מחקר ה- Zinc fingers - המשך



- ❖ ייצרו באופן מלאכותי פקטורי שיעתוק אשר מצד אחד מוצמדים ל- Zinc fingers המזהים את ה- UBE3A או ה- Antisense שלו ומצד שני מוצמדים לחלבונים קטנים "חודרי ממברנות".
- ❖ ניסו הגברת שיעתוק של ה- UBE3A או עיכוב שיעתוק של ה- Antisense. הגישה השנייה הייתה יותר מוצלחת.

מחקר ה- Zinc fingers - המשך

- ❖ הזריקו לפריטונאום (בטן) של עכברים עם תסמונת אנגלמן, גילו את הראש והראו ע"י סמן פלורוסנטי שהחלבון המלאכותי התפזר יפה בכל המח.
- ❖ בהמשך הראו שיש עליה בביטוי של ה- UBE3A האבהי.
- ❖ הודגם שיפור קל אך לא מובהק במבחנים התנהגותיים (קבירת גולות, טיפוס על סולם וריצה על מוט).



מחקר ה- Zinc fingers - המשך

יתרון:

❖ יש חדירות טובה למח גם כשמזריקים לבטן ויש פיזור טוב במח

חסרונות:

❖ השיפור הקליני היה קל בלבד.

❖ דרושות הזרקות חוזרות ויש חשש שתפתח אלרגיה לחלבון

מחקר ה- Zinc fingers - המשך

תכניות לעתיד:

- ❖ כעת נמצאים בתהליך יצירה של עכבר ראשון מסוגו עם חסר כמו בחולים. אמור לתת פנוטיפ יותר דומה לחולים.
- ❖ רוצים ליצר גם מודל של תסמונת אנגלמן בחזירים.
- ❖ מתכננים לבדוק את החלבון המלאכותי על IPS מחולים.
- ❖ מנסים לייצר אפקט קבוע שלא יצריך הזרקות חוזרות מרובות.



מחקר לבדיקת חלון הזמן הקריטי



Dr. Ype Elgersma is a Professor of Molecular Neuroscience at Erasmus Medical Center in Rotterdam and the Scientific Director of ENCORE Expertise Centre for Neurodevelopmental Disorders



מחקר לבדיקת חלון הזמן הקריטי

- ❖ רק חלק מהתפקודים ההתנהגותיים (ריצה על גלגל ו – open field) השתפרו בהזרקה לאחר הלידה.
- ❖ השיפור הודגם בהזרקה בגילאי "ילדות" ו-"התבגרות" אך לא בהזרקה לעכבר הבוגר.
- ❖ השיפור ההתנהגותי מודגם כבר בעליה של 30-40% ברמת הביטוי של UBE3A.
- ❖ התפקוד הסינפטי (Plasticity) כן השתפר בכל הגילאים – מקור לאופטימיות לשיפור ביכולת הלמידה ושיפור תפקודי תחת טיפולים אינטנסיביים!



חלון הזמן הקריטי – תזכורת למחקר של – Ed Weeber

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Adeno-Associated Virus-Mediated Rescue of the Cognitive Defects in a Mouse Model for Angelman Syndrome

Jennifer L. Daily^{1,4}, Kevin Nash^{1,4}, Umesh Jinwal^{2,4}, Todd Golde^{5,6}, Justin Rogers^{1,4}, Melinda M. Peters^{1,4}, Rebecca D. Burdine³, Chad Dickey^{4,7}, Jessica L. Banko^{4,7}, Edwin J. Weeber^{1,4*}

1 Department of Molecular Pharmacology and Physiology, University of South Florida, Tampa, Florida, United States of America, **2** Department of Pharmacy, University of South Florida, Tampa, Florida, United States of America, **3** Department of Neuroscience, Princeton University, Princeton, New Jersey, United States of America, **4** University of South Florida Health Byrd Alzheimer's Institute, Tampa, Florida, United States of America, **5** McKnight Brain Institute, University of Florida, Gainesville, Florida, United States of America, **6** Center for Translational Research in Neurodegenerative Diseases, University of Florida, Gainesville, Florida, United States of America, **7** Department of Molecular Medicine, University of South Florida, Tampa, Florida, United States of America



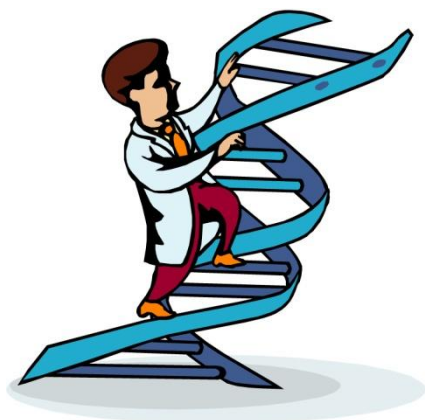
חלון הזמן הקריטי – תזכורת למחקר של - Ed Weeber

- ❖ יצרו ע"י הנדסה גנטית וירוס המכיל בתוכו עותק תקין של UBE3A
- ❖ הזריקו את הוירוס ישירות למח בעכברים בוגרים עם תסמונת אנגלמן
- ❖ ההזרקה הייתה לאזור במח שאחראי על למידה וזיכרון (היפוקמפוס)
אך לא לאזור שאחראי על מוטוריקה עדינה.
- ❖ הראו שיפור ניכר במבחנים של למידה וזיכרון אך לא במוטוריקה העדינה.
- ❖ גם כאן הראו שיפור בתפקוד החשמלי של תאי העצב הקשור ללמידה.



עדכון התקדמות מחקרים שהוזכרו בכנס הקודם

❖ מחקר המינוציקלין



❖ מחקר ה-L-DOPA

מחקר המינוציקלין של Ed Weeber

Minocycline in the Treatment of Angelman Syndrome

This study is ongoing, but not recruiting participants

First Received on February 5, 2012.

Last updated: May 9, 2014

Sponsor:

University of South Florida

Information provided by:

Edwin Weeber, Ph.D.,
University of South Florida

ClinicalTrials.gov Identifier:

NCT01531582



ההיגיון מאחורי המינוציקלין – מחקר ה- C3

- ❖ הזרקה של מינוציקלין לעכברים בוגרים עם פגם ב- UBE3A למשך 3 שבועות
- ❖ נמצאו תיקון כמעט מלא של הקואורדינציה המוטורית ושיפור ניכר ביכולות הלמידה והזיכרון
- ❖ נמצא שיפור בתפקוד הסינפסות (החיבורים בין תאי העצב) בהיפוקמפוס (האזור האחראי על זיכרון)
- ❖ מנגנון הפעולה אינו ברור לחוקרים, חודר טוב למח, אך ככל הנראה אינו פועל דרך ביטול השתקת הגן האבהי





מחקר המינוציקלין - המשך

- ❖ מחקר פתוח, ללא פלצבו. 24 משתתפים בגילאים 4-12 שנים
- ❖ לא נכללו ילדים עם: אלרגיה לתרופה, פרכוסים קשים, לופוס ומחלות כרוניות נוספות.
- ❖ טיפול במשך 8 שבועות. נקודות הערכה - התחלה, 8 שבועות, 16 שבועות (לבדוק אפקט מתמשך).
- ❖ מטרה ראשונית – שיפור בתפקוד במבחן ביילי להערכת התפתחות.
- ❖ מטרות שניוניות: נרמול ה-EEG, שיפור בתפקודי היום-יום, בהפרעות התנהגות ובשפה רצפטיבית ואקספרסיבית (PLS).



מחקר המינוציקלין - המשך

❖ ע"פ הדיווחים המחקר אכן הסתיים במרץ 2013, הובטח פרסום של הממצאים בסתיו 2013... ככל הנראה טרם התפרסם מאחר שהתוצאות לא היו משכנעות מספיק.

❖ מדוע חשוב להוכיח שאכן יעיל?

ת.ל נדירות:

- חום
- תגובה אלרגית
- שינויי ראייה
- לחץ תוך גולגולתי
- מוגבר

תופעות לוואי שכיחות:

- כאבי בטן / שלשולים / הקאות
- סחרחורות
- כאבי ראש
- רגישות לשמש
- צביעת שיניים קבועה

מחקר המינוציקלין הספרדי

Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Minocycline in Angelman Syndrome (A-MANECE)

This study is ongoing, but not recruiting participants

Start date: January, 2014, Last updated: October 28, 2014

Primary completion date: September 2014

Sponsor:

Puerta de Hierro University Hospital

Information provided by:

Belen Ruiz-Antoran, Puerta de Hierro University Hospital (Madrid)

ClinicalTrials.gov Identifier:

NCT02056665





מחקר המינוציקלין הספרדי - המשך

- ❖ מחקר רנדומאלי, כפול סמיות עם פלצבו, בפורמט Cross-over
- ❖ 32 משתתפים בגילאים 6-30 שנים
- ❖ לא כולל ילדים עם: אלרגיה לתרופה או הפרעה בתפקודי כבד וכליות
- ❖ טיפול במשך 8 שבועות בתרופה / פלצבו והחלפה ל- 8 שבועות. טיפול במשך 16 שבועות בתרופה.
- ❖ נקודות הערכה - התחלה, 8, 16, ו-24 שב' (לבדוק אפקט מתמשך).
- ❖ מטרה ראשונית – עליית הגיל ההתפתחותי
- ❖ מטרות שניוניות - שיפור תפקודי בשפה, תקשורת, קוגניציה, מוטוריקה, שיפור ב- EEG.

מחקר ה- L-DOPA

A Trial of Levodopa in Angelman Syndrome

This study is ongoing but not recruiting participants

Verified July 2013 by Children's Hospital Boston

First Received on January 20, 2011. Last Updated on novemebr 18, 2013

Sponsor:	Children's Hospital Boston
Information provided by:	Wen-Hann Tan
Collaborators:	Rady Children's Hospital, San Diego University of California, San Francisco Baylor College of Medicine Vanderbilt University Greenwood Genetic Center Angelman Syndrome Foundation FDA Office of Orphan Products Development
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01281475



מחקר ה- L-DOPA – ההיגיון שמאחורי

- ❖ טיפול ב L-DOPA לרעד בפרקינסון
- ❖ עדויות כי יש שינויים במטאבוליזם של דופאמין במודל עכבר של תסמונת אנגלמן

Research article



Pathway-specific dopaminergic deficits in a mouse model of Angelman syndrome

Thorfinn T. Riday,^{1,2} Elyse C. Dankoski,¹ Michael C. Krouse,³ Eric W. Fish,³ Paul L. Walsh,⁴ Ji Eun Han,² Clyde W. Hodge,^{1,5} R. Mark Wightman,^{1,4,6} Benjamin D. Philpot,^{1,2,6,7} and C.J. Malanga^{1,3,5,7}

¹Curriculum in Neurobiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA. ²Department of Cell Biology and Physiology and ³Department of Neurology, University of North Carolina School of Medicine, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, USA. ⁴Department of Chemistry, ⁵Bowles Center for Alcohol Studies, ⁶UNC Neuroscience Center, and ⁷UNC Carolina Institute for Developmental Disabilities, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA.



מחקר ה L-DOPA - המשך

- ❖ מחקר רנדומאלי, כפול סמיות עם פלצבו
- ❖ מתוכננים 100 ילדים בין גילאים 4-12 שנים, טיפול במשך שנה. סיום משוער - יוני 2014 ← ינואר 2015
- ❖ לא יכללו ילדים עם מחלות נוספות (כבד, כיליה וכו...), פרכוסים שכיחים או טיפול בריספרדל ופניטואין.
- ❖ מטרה ראשונית: הערכות התפתחותיות, הערכת רעד ותנועות לא רצוניות. מטרה שניונית: השפעה על EEG.
- ❖ דיווח ראשוני – לא נראו ת.ל בעייתיות באף קבוצה

מרפאת האנגלמן בשיבא - תכניות עתידיות

- ❖ שילוב פיזיותרפיה, ריפוי בעיסוק וק"ת – הערכה והדרכה במסגרות
- ❖ המשך איזון משק הסידן בילדים
- ❖ טיפול ב- L-DOPA שלא במסגרת מחקר קליני לפי תוצאות המחקר בבוסטון.
- ❖ מחקר הפקת IPS מפרטים עם תסמונת אנגלמן
- ❖ מינוציקלין??? מחקר קליני בתוסף מזון המגביר GABA???
- ❖ יצירת קשר עם הקבוצות המובילות בפיתוח תרופות עתידיות מתוך כוונה להיות שותפים במחקר קליני כאשר יהיה זמין



Erin Sheldon's Facebook group



	Early Emerging Literacy		Transitional Emerging Literacy		Early Conventional
	(1 point) Interest/Awareness	(2 point) Participation	(3 points) Recognition	(4 points) Demonstration	(5 points) Purposeful Engagement
Phonemic Awareness	Shows some interest or enjoyment in rhyme play activities ✓	Participates during rhyme play by repeating words of similar sound patterns ✓	Attempts to create word similarities, such as rhyme or initial sound patterns ✓	Identifies similarities and differences of sounds within words; Identifies some letters ✓	Creates new words within word families; associates consonant letters and sounds ✓
Concepts of Print	Shows beginning interest or attention to book reading ✓	Attends to story reading and graphics with minimal prompts ✓	Recognizes left to right sequence of text within page format ✓	Follows the left-right-top-bottom flow of text and page to page progression of stories ✓	Reads words in text while following a left-right; page to page flow ✓
Word Recognition	Shows beginning interest or attends to graphics or pictures ✓	Identifies named pictures or graphics ✓	Recognizes familiar signs, names, or text words with graphic support ✓	Identifies some text words without graphic support ✓	Identifies an increasing # of high frequency sight words ✓
Fluency	Shows beginning awareness of repetitive lines in story reading ✓	Participates with a repetitive line during story reading ✓	Predicts or repeats repeated lines within a story ✓	Attempts to read/repeat text within a repeated story ✓	Reads text for a purpose: Reads familiar stories with varied text patterns ✓
Comprehension	Shows indications of spoken word and object recognition within own experiences ✓	Associates spoken word to graphics within a story page read ✓	Associates connected speech with supporting graphics during story reading ✓	Fills in open ended sentences and omitted words during repeated stories ✓	Engages in "retell" activities and responds to questions that represent comprehension ✓

Total Score	Early Emerging Literacy: 0 - 5	Early Transitional Emerging Literacy 6 - 10	Transitional Emerging Literacy 11 - 15	Late Transitional Emerging Literacy 15 - 20	Early Conventional Literacy 21 - 25
	3		11		

Directions: Engage the student in story reading and/or reading related activities. Observe student's behaviors and level of participation. Mark the space in each row that most clearly defines the student's level of concept understanding. Calculate the total points for the student. Within each of the five areas, note the level of text that you should select to help the student move further in their skill and understanding.

Student Name **Maggie Hickey** Date **Sept 2014** Assessed by **Megan Telford, special educator
Linda Hutson, educational assistant
Dr. Caroline Musselwhite, CCC-SLP
Erin Sheldon, mother**

Kathy Staigler © 2007



