

Acta de la Reunión de Socios del Consorcio CHARLIE

Ámsterdam, 17 de octubre de 2023

Asistentes:

Presencial: Prof. C. van Karnebeek (presidente), Dr. A. Garanto, Dr. C. Fillat, Dr. V. Gailus-Durner, Dr. C. Linster, Prof. D. Lefeber, H. Dekker (PAO holandés), Dr. A. Carbonell Sanromà y Dr. M. Oñós (PAO español), Dr. C. Coughlin, Prof. R. Wevers (miembro del SAB), I. Zuidgeest (gerente de investigación)

Virtual: Prof. S. Kölker, Dr. S. Jung-Klawitter, Dr. J. Martens, Dr. M. Della Bona, Dr. R. Damiano, H. Al-Shekaili

Ausentes: Prof. B. Leavitt, Prof. M. Hrabé Angelis, Dr. G. la Marca

Sesión matutina: ¿En qué punto nos encontramos? Éxitos, desafíos, impacto, colaboraciones

Moderador: C. van Karnebeek

9.00-9.15 Bienvenida y Objetivos de la Reunión

Lograr los objetivos de CHARLIE

Evaluar nuevas estrategias de tratamiento para PDE y GA1 que se centren en una nueva vía causativa en el metabolismo de la lisina y presentar 1 modalidad lista para ensayos y aplicación en pacientes.

Entregar, resolver problemas y crear impacto

Planificar CHARLIE 2.0

9.15-10.30 Resultados y próximos pasos de los socios (3-5 diapositivas, 15 min incluyendo preguntas)

1. Radboudumc (Garanto)

KO GCDH frente a línea mutante de paciente (hiper vs. hipoactividad)

Necesidad importante: comprender qué sucede en las células, ¿buenos resultados medibles?

Próximos pasos:

- Probar AONs in vivo además de in vitro
- Patente conjunta Rumc y UBC (finalizando datos preliminares)
- Discutir y planificar publicaciones

2. German Mouse Clinic (Gailus-Durner)

No hay fenotipos importantes en PDE KO

No hay fenotipos importantes en AASS KO a la edad de 12 semanas

Problemas hepáticos y renales en doble KO pde-aldh7a1

Próximos pasos: planificar para todos los ratones, dosis de lisina y B6, y datos a nivel de tejido

3. Radboudumc (Lefeber)

En modelo de doble KO, ácido pipecólico presente sugiriendo una vía 'alternativa' activa.

KO completo de Aass basado en niveles indetectables de sacaropina

En KO único de Aldh7a1: la glutarilcarnitina cerebral es normal en el hígado pero baja en el cerebro

Próximos pasos:

- Investigar razones por las cuales las muestras no cumplen con las expectativas
- Medir cetonas, medir B6
- Verificar actividad enzimática de GA tipo 3

4. UBC Vancouver/Omán (Al-Shekaili)

Se reiniciarán las reuniones regulares con Vancouver/Radboud y GMC; Muna Abed Rabbo regresará a Vancouver a finales de octubre y reanudará el trabajo de laboratorio; Hilal ha comenzado nuevo puesto en Omán pero sigue involucrado en Charlie

Diseños de la ronda 1: 10 ASOs diseñados por el equipo de Radboud dirigidos a una secuencia común entre humano y ratón. Se probaron en astrocitos humanos y línea celular 661W de ratón. GAP6 produjo el mayor bloqueo en astrocitos humanos y la línea celular de ratón.

Próximos pasos:

o Formas de mejorar el % de bloqueo de Aass

o Presentación del fenotipo de PDE en noviembre de 2023

5. Heidelberg (Jung-Klawitter)

- Diferencias en la pérdida de peso entre antecedentes
- Cristina/Sabine han estado utilizando un 4.4% de lisina en sus pruebas; Valerie y Hilal están utilizando un 2.5%
- No hay superposición en la investigación entre Heidelberg y Múnich; En Heidelberg se enfocan en el doble KO, en Múnich se centran en el KO simple
- Próximos pasos: ☑ Envío de todas las muestras ya disponibles a Florencia ahora o esperar hasta que las muestras GCDH-/- /AASS-/- estén listas. ☑ Grupo de Giancarlo para analizar el

establecimiento del método de extracción/medición utilizando órganos; el método parece prometedor ☑ Tinción de láminas de órganos (cerebro, hígado, riñón) 11.00-12.30
Resultados y próximos pasos de los socios (cada uno con 3-5 diapositivas, 15 min incluyendo preguntas)

6. Barcelona (Fillat)

- Cortos hairpins exitosos bioquímicamente
- IV vs Cisterna magna <> hígado y cuerpo estriado
- La supervivencia del ratón tratado mejora al 95% en comparación con el no tratado del 50%
- Próximos pasos: ☑ Hairpins cortos de GCDH: análisis bioquímico hígado vs cerebro (metabólica) (el papel de Barzi se centra en el hígado pero se dieron altas dosis que no se pueden administrar a humanos, por lo que la investigación adicional es útil) ☑ Introducción sensible al tiempo de lisina y enzimas

7. Luxemburgo (Linstler)

- Knockout y knockdown de aass en el modelo de pez cebra PDE ☑ Pez PDE obtenido de Ottawa y genotipado en Lux ✓ ☑ Reevaluación del fenotipo del pez PDE ✓ ☑ Knockout (Crispr/Cas9) aass en el modelo de pez PDE y evaluación del rescate fenotípico ✓ ☑ Knockdown (MOs) aass en el modelo de pez PDE y evaluación del rescate fenotípico ✓ (realizado con crisprantes y delección monoalélica de aass en lugar de MOs)
- Generación del modelo de pez cebra GA1 (gcdha/gcdhb doble KO) en curso
- Próximos pasos: ☑ Evaluar la eficacia de la inhibición de aass en el pez cebra GA1 ☑ Explicaciones elevadas de sacaropina > deficiencia en el ciclo de la urea, lactato y aasa inhibe la replicación ☑ Pero también es posible que el segundo paso esté inactivado y/o que la inactivación del primer paso sea incompleta ☑ Así que análisis no dirigido y mediciones enzimáticas ☑ Modelos de pez cebra, modelos humanos, modelos animales no dirigidos

8. Florencia (M. Della Bona)

- Necesidad de estándares internos
- Trabajando en mediciones de pez cebra
- Problema crítico; estándares no encontrados en el mercado: ☑ 2-aminoadipato-6-semialdehído o L-alisina, CAS 6665-12-9 ☑ Piperideína 6-carboxilato, CAS 3038-89-9 ☑ 2-ceto 6-amino caproato o ácido 6-amino-2-oxohexanoico
- Próximos pasos: ☑ Desarrollo de modelos animales y humanos translacionales para la identificación / optimización y evaluación de estrategias terapéuticas

9. Organizaciones de Pacientes (Dekker)

- Se ha añadido una pestaña de Pacientes al sitio web de Charlie con información en lenguaje sencillo.
- Próximos pasos: ☑ Encuesta a pacientes con preguntas en las categorías de política de salud, ciencia básica y traslacional, que se añadirá en 4 idiomas (inglés, holandés, alemán y español); La encuesta se traducirá al alemán con la ayuda de ChatGPT y colegas alemanes Sabine/Stefan; la encuesta estará disponible en las próximas 2 semanas y a finales de enero de 2024 se realizará un análisis intermedio de los resultados. ☑ Promoción del proyecto de Tamizaje Neonatal. ☑ Desarrollo de un protocolo de emergencia. ☑ Albert está intentando involucrar a clínicos españoles en Charlie.

10. Coordinación (van Karnebeek) se omitió considerando el tiempo; diapositivas resumen:

- La publicación y visibilidad son una prioridad.
- Inicio del proyecto de Tamizaje Neonatal (Coughlin & van Karnebeek).
- Próxima reunión presencial el 29-30 de abril, en la Clínica de Ratones en Múnich.
- Se programará una reunión con el SAB y será moderada por Clara y Ron Wevers.
- Todos los planes de gestión de datos se revisarán nuevamente y se actualizarán si es necesario.
- Se ha presentado el informe anual de EJPRD.
- La mitigación de riesgos y la alineación estratégica se discutirán en la próxima reunión de SMB.
- Se implementará un plan de valorización que incluirá un caso comercial y una estrategia ODD.

Sesión de la tarde Terapia efectiva, ¿cómo la entregamos juntos (2024)? y plan para el futuro (2025-) Moderador: Curtis Coughlin

13.30-14.00 Investigación de PDE y GA1 en los Estados Unidos (Curtis)

- Sesiones mensuales "Pregunta al experto" organizadas para que las familias se mantengan conectadas.
- Artículo de Leandro et al, MOL, Genet Metab, 2021: GA 3 en ratones consanguíneos compartido (guardado en los Equipos de Charlie bajo publicaciones).
- Discusión del fenotipo de pacientes deficientes en AASS y la necesidad de más detalles.
- Resumen del trabajo centrado en el papel de los metabolitos (estudios de flujo, datos de historia natural).
- Tamizaje neonatal para PDE avanzando y papel de la colaboración continua.

14.00- 14.30 Moléculas pequeñas (Inhibición de AASS, otros mecanismos) (Linster)

- Actualmente bloqueado en procesos administrativos: o Luxemburgo ☑ Trabajo de producción de proteínas recombinantes (USC). ☑ Segunda pantalla (validación HPLC/LCMS de 50 compuestos principales) (Medina). o Florencia ☑ Desarrollo de ensayos y pantalla primaria de 8000 compuestos (2400 compuestos bioactivos de EU-OPENSREEN + 5600 colección de repurposición de IME) (USC). ☑ Colección de compuestos de repurposición del Fraunhofer ScreeningPort Hamburg IME (5600 compuestos) (Fraunhofer IME).
- Compuestos en fibroblastos, neuronas/astrocitos, neuroblastoma.
- 14.30-14.45 Sistemas Modelo (Gailus-Durner)
- PDE DKO & AASS: 3 tipos diferentes de alimentos, uno de los cuales es el mismo que en Vancouver y Heidelberg.
- Resultados incluyen: supervivencia bioquímica, neurológica, hígado (riñón).
- Charlie 2.0: focalización en tejidos, estudio importante sobre AASS.

14.45-15.15 Terapia molecular con ARN y otras (Inhibición de AASS, entre otros) (Garanto)

- Mejorar la eficiencia de los AONs en neuronas y astrocitos.
- Resultados funcionales incluyen imágenes de calcio, mediciones.
- En ratones de Vancouver.

- IP en astrocitos, neuronas, mezcla: mejora funcional o bioquímica.
- Luego, 1 año para proporcionar más información.

15.15-15.45 Terapia de Reemplazo Génico (Fillat)

- Artículo sobre modelo celular enviado a la revista 'Gene Therapy' para su publicación (nota post reunión; artículo aceptado).
- Valerie enviará más ratones a Barcelona para más fenotipado.

16.15-16.45 Preparación para Ensayos Clínicos (Dekker y Carbonell)

- La disposición de los padres para participar en ensayos a menudo depende de si la terapia estará disponible para sus hijos o solo para futuros hijos.
- Se compartirán Medidas de Resultado Informadas por el Paciente (PROMS) con investigadores/clínicos.
- Se sugiere hacer un video/podcast de YouTube sobre una variedad de temas (ya está disponible un video de terapia génica; investigación en animales para que las personas comprendan que esto es necesario para desarrollar terapias para humanos; ASO/RNA/moléculas pequeñas).

16.45-17.30 Discusión: Valorización y Plan de Acción (todos)

- Se enviará una hoja de Excel para que todos los socios añadan entregables, desafíos, próximos pasos para 2023-2024, y las publicaciones planificadas.
- La revista Orphanet Journal of Rare Diseases aceptó la consulta previa a la presentación (Coughlin, van Karnebeek, Carbonell escribirán).
- 17.30-18.00 Conclusión y CHARLIE 2.0 (Clara)
- Todos los socios indicaron que les gustaría participar en CHARLIE 2.0. El Prof. Ron Wevers enfatiza la necesidad de publicaciones y visibilidad.
- Reunión de monitoreo a mitad de período el 28 y 29 de noviembre de 2023 en Luxemburgo (Dr. Garanto, ¿Dr. Linster, Ivonne Zuidegeest asistirán?)
- A todos los socios presentes se les preguntó si quieren una extensión de 1 año; reacciones positivas de Valerie, Cristina, Hanka, Albert, Sabine, Stefan, Alex, Clara, Ron, Curtis, Carol; En reuniones anteriores del SMB, otros socios confirmaron que desean una extensión. EJPRD respondió que es posible una extensión de 9-12 meses, por lo que se iniciará el papeleo por socio/país; la nueva fecha de finalización será en el primer o segundo trimestre de 2026.