

Angelman sindromearen tratamendurako estrategia desberdinak

Gradu Amaierako Lana
Farmaziako Gradua

ASIER VILLALAIN BLANCO

2021-2022 ikasturtea

AURKIBIDEA

LABURPENA	1
LABURDURAK	1
1.- SARRERA	2
2.- HELBURUAK	5
3.- GARAPENA	5
3.1- Metodologia	5
3.2- Terapia ez farmakologikoa	5
3.2.1- Logopedia	6
3.2.2- Terapia psikomotorea.....	6
3.3- Entsegu klinikoan dauden farmakoen eraginkortasuna	7
3.3.1- Gaboxadol.....	8
3.3.2- NSI-189 fosfatoa	10
3.3.3- LB-100	13
3.4- Terapia genikoak	15
3.4.1- Terapia zelular bidezko gen ordezkapena	15
3.4.2- Antisense oligonukleotidoen bidezko terapia	18
3.4.3- Cas9/CRISPR gen terapia.....	19
4.- ONDORIOAK	22
5.- BIBLIOGRAFIA	23

LABURPENA

Angelman sindromea (AS) neurogarapenean eragina duen sindrome arraroa da. Amarengandik jasotako UBE3A genearen funtzio ezaren eraginez UBE3A proteina ez da ekoizten neuronetan eta ondorioz hainbat bide metaboliko kaltetzen dira garunean. Ez dira oso ondo ezagutzen zeintzuk diren UBE3A faltak neuronetan eragiten dituen kalte molekularrak, baina ugariak dira. Gaur egun tratamendu komertzialik ez da aurkitzen sintoma denak arintzen dituenik eta jatorri genetikoaren duen aldetik, zaila da honentzako terapia eraginkor eta merke bat garatzea. Hala ere, azken urteotan hainbat aurrerapen egin dira gaixotasunaren ezagutzan eta honi esker AS tratatzeko estrategia berriak planteatzen ari dira. Lan honen helburua AS sindromearen tratamendurako estrategia desberdin hauek deskribatzea eta biltzea da. Estrategia hauek bi adar nagusitan banatzen dira, alde batetik, gaixotasuna erabat sendatzeko tratamendu genetikoaren bilatzea eta, beste aldetik, jada gaixotasuna pairatzen duten gaixoen sintomak molekula desberdinen bidez modu eraginkorrean arintzea. Tratamendu berri hauek baieztatzeko hainbat ikerketa egin dira bai *in vitro* zein *in vivo* eta fase preklinikoan eta baita fase klinikoan aurkitzen diren entseguak daude, hauetan emaitza itxaropentsuak lortu direlarik. Errebisio bibliografikoa egin ondoren, ondorioztatu daiteke terapia genikoan oinarrituriko terapia dela behin-betiko tratamendu moduan erabiltzeko aukera gehien azaltzen dituen estrategia. Hala ere, hauek guztiz garatu bitartean farmakoen erabilera izango da tratamendu eraginkorra, gaixotasun hau pairatzen duten pertsonen bizimodua modu nabarmenean hobetuz.

LABURDURAK

AS = Angelman sindromea; **NSZ** = nerbio sistema zentrala; **UDP** = aitaren disomia uniparentala; **AAC** = komunikazio alternatiboa eta handigarria; **CGI-I** = Clinical Global Impression- Improvement; **CGI-S** = Clinical Global Impression- Severity; **AO** = albo ondorio; **LTP** = epe luzeko potentziazioa; **WT** = wild type; **PTPA** = fosfotirosil fosfatasa aktibatzailea; **PP2A** = proteina fosfatasa 2A; **HSC** = ama zelula hematopoietikoa; **ASO** = antisense oligonukleotidoak.

1.- SARRERA

Angelman sindromea neurogarapenean eragina duen sindromea da. Garapenean atzerapen larriak eragiten ditu. Sintoma nagusiak ataxia, ibiltze zurrun eta espasmodikoa, hitz egite falta, atzerapen intelektuala, antsietatea, autismoa, lo arazoak, epilepsia eta hiperaktibitatea dira^[1]. Hala ere, etengabeko irribarrea da AS gaixoen ezaugarri bereizgarriena^[1]. Sintoma hauek lehen bizi urtean agertzen dira eta umeak 1-2 urte dituenean diagnostikatzen da. *1.go taulan*^[2] Amerikako Estatu Batuetako komite zientifikoak eta ASren fundazioak erabiltzen dituen diagnostiko irizpideak ikus daitezke.

1.go taula- Angelman sindromea diagnostikatzeko irizpideak^[2]

KASU GUTZTIETAN AGERTZEN DIREN EZAUGARRIAK (%100)
Garapenean atzerapenak
Mugimendu eta orekan nahasteak
Portaera berezia: irribarre sarria, poztasuna, jarrera kitzikatua...
Hizkeran arazoak
MAIZ AGERTZEN DIREN EZAUGARRIAK (%80)
Hazkuntzan atzerapena, mikrozealia (bereziki delezioa ematen den kasuetan)
Konbultsioak
LOTURIK DAUDEN EZAUGARRIAK (%20-80)
Obesitatea, idorzeria, loaren arazoak, elikaduran arazoak...

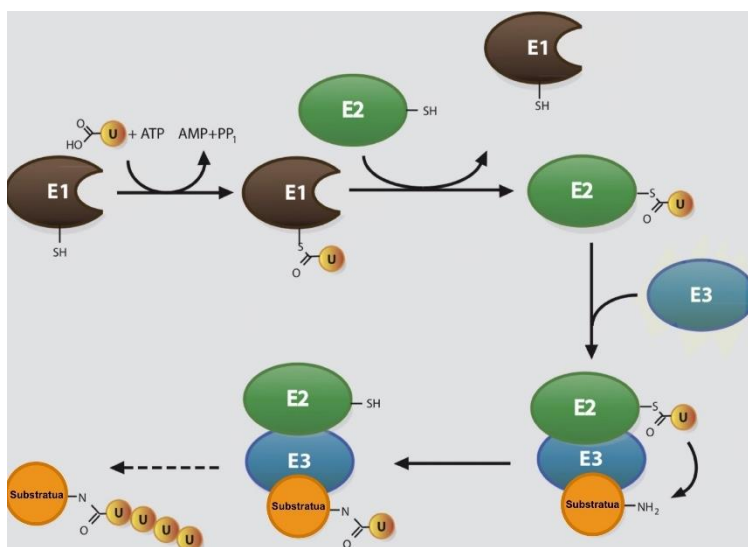
ASren sintomak ugariak eta anitzak dira eta ez da merkatuan sintoma denak aldi berean arintzen dituen farmakorik aurkitzen, baizik eta gaur egun, farmako bana erabiltzen da sintoma bakoitza arintzeko, hala nola: epilepsiaren kasuan lamotrignina, amitriptilina hiperaktibitatea tratatzeko, melatonina edo bentzodiazepinak lo arazoentzako, buspirona antsietatearentzat... Farmakoak algoritmo terapeutiko bitartez aukeratzen dira eta paziente bakoitzaren egoerara moldatzen dira^[3].

Lehen aldiz 1965. urtean deskribatu zuen Harry Angelman pediatrik. Gaixotasun arraroa da, bere intzidentzia 1:15.000koa delarik^[1].

AS amarengandik heredatutako UBE3A genearen funtzio faltak eragiten du. UBE3A 15q11-q13 eskualde kromosomikoan kokatzen da^[6]. Gene honek UBE3A proteina kodetzen du, E3 ubikuitin ligasa bat dena eta honek proteinen ubikuitinazio prozesuan parte hartzen du. Ubikuitinazioa itu-proteinei ubikuitina molekula gehitzean datza, honek eragin esanguratsua du proteinen garapenean; monoubikuitinazioa gertatzean proteinen zelula barneko kokapenean eta proteinen arteko elkarrekintzak erregulatu ditzake, poliubikuitinazioa

ematean, aldiz, proteinen degradazioa. Honek ez luke soilik proteinetan eragina izango, baita zelularen funtzionamenduan ere^[2].

E3 ubikitina ligasak, E1 eta E2 entzimekin elkarlanean, zelulako proteinei ubikitina deritzon molekula txiki bat (edo gehiago) gehitzen ditu, prozesua ondorengo delarik: ubikitina aktibatu egiten da E1era lotuz ATPren bidez, aktibatutako ubikitina E2 entzimara transferitzen da, ondoren E3 ligasaren bitartez E2-ubikitina substratura lotzen da eta azkenik E2-E3 substratutik askatzen da ubikitina bertan utziz (*1.go irudia*^[4]). Beraz, UBE3A (E3) gabezia honek hainbat proteinen ubikuitinazio mailan izango du eragin zuzena.



1.go irudia – Proteinen ubikuitinazioa. Lehenik ubikitina aktibatu egiten da E1era lotuz ATPren bidez. Ondoren aktibatutako ubikitina E2 entzimara transferitzen da. Jarraian E3 ligasaren bitartez E2-ubikitina substratura lotzen da. Azkenik E2-E3 substratutik askatzen da ubikitina bertan utziz.^[4]

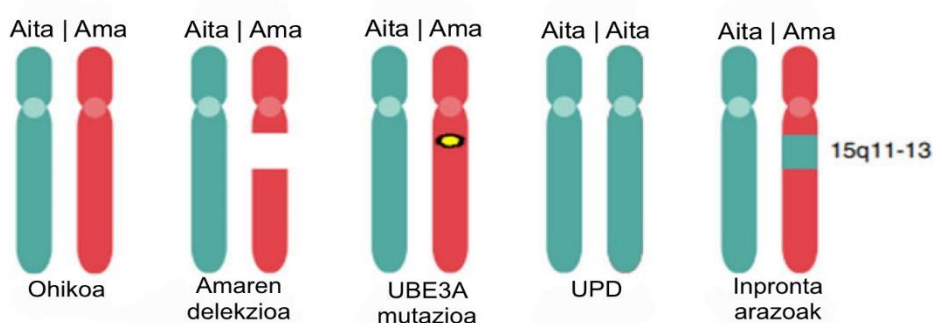
UBE3Aak hainbat bide eta prozesu erregulatzen ditu: hipokanpoan eta burmuinean ematen den UBE3A-PTPA-PP2A bidea, TrkB-Akt bidea... Bide hauek plastikotasun sinaptikoan eta inhibizio tonikoan parte hartzen dute, UBE3A ezak plastikotasun sinaptikoan gabeziak eta inhibizio tonikoaren galerak eragingo dituelarik.

Beste alde batetik, UBE3A genearen kopia osagarriak izateak ere hainbat kalte sorraraz ditzake. Izan ere, *pruning* edo dendriten mozketaren inhibitzen du UBE3A proteinak, hau zuzenean dago loturik autismoarekin. Beraz, UBE3Aren espresio normala izatea burmuinean funtsezkoa da garapen egoki batentzako^[20].

15q11-q13 eskualde kromosomikoa fenomeno genetiko baten bidez erregulatzen da neuronetan, inpronta genetikoaren bidez hain zuzen ere, zeinetan genearen kopietako bat (amarena edo aitarena) espresatzen den, bestea isildu egiten den bitartean. UBE3A genearen inpronta genetikoaren bidezko erregulazioa soilik neuronetan gertatzen da, gainontzeko gorputzeko ataletan herentzia bialelikoa ematen da, horregatik proteinen faltak sortutako kalteak nerbio sistema zentrolean (NSZ) baino ez dira ematen^[6]. Neuronetako eskualde

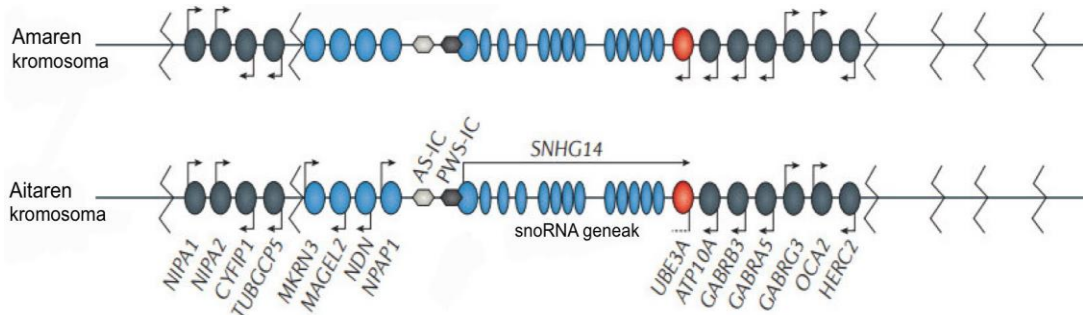
honetan isilduta agertzen den aleloa aitarena da, beraz, amarengandik jasotako UBE3A genean arazoak daudenean AS agertzen da.

Amaren UBE3A genearen falta eragiten duten lau mekanismo molekular desberdin deskribatu ahal izan dira hainbat ikerlan genetikoren bidez^[5]: amaren 15q11-q13 kromosoma eskualdearen *de novo* delekzioa (%70-75ko kasuetan), amarengatik heredatutako UBE3Aren mutazio intragenikoak (%5-10), aitaren disomia uniparentala (UPD) 15q11-q13 kromosoma eskualdearekiko (%2-3) eta amarengatik heredatutako 15q11-q13 kromosoma eskualdean inpronta arazoak (%3-5). Delekzioaren mutazioa fenotipoki indartsuena izango delarik eta UDP eta inprontaren ondoriozkoak ahulenak (2. irudia^[5]).



2. irudia– Angelman sindromea eragiten duten mekanismo molekular desberdinak. Ezkerretik eskubira: amaren 15q11-q13 kromosoma eskualdearen *de novo* delekzioa (%70-75ko kasuetan), amarengatik heredatutako UBE3Aren mutazio intragenikoak (%5-10), aitaren disomia uniparentala (UPD) 15q11-q13 kromosoma eskualdearekiko (%2-3) eta amarengatik heredatutako 15q11-q13 kromosoma eskualdean inpronta arazoak (%3-5).^[5]

Bestalde, 15q11-q13 eskualde kromosomikoan delekzioa aitarengandik heredatutako kromosoman ematen denean beste gaixotasun genetikoa desberdin bat ematen da: Prader-Willi sindromea, zeinetan hipotonia muskularra, gainpisua eta jarrera arazoak izango dituzte gaixoek. 3. irudia^[6] ikus daiteke 15q11-q13 kromosomaren eskualdea, bertan urdinez agertzen diren elipseak aitaren espresatutako geneak dira eta gorritz aldiz amarenak.



3. irudia– 15q11-q13 eskualdea. Urdinez agertzen diren elipseak= aitaren espresatutako geneak dira. Gorritz, aldiz amarenak.^[6]

2.- HELBURUAK

Lan honen helburu nagusia Angelman sindromea tratatzeko erabilgarriak izango liratekeen terapiak azaltzea eta deskribatzea da. Helburu hauek betetzeko, terapiak 3 ataletan banatuko dira:

- Behin AS agertuta, sintomak arintzeko egun erabiltzen diren terapia psikomotorrak eta logopedia deskribatu eta hauen erabilgarritasuna zehaztu.
- Entsegu klinikoan aurkitzen diren molekula desberdinak deskribatu eta hauen erabilpena ASren sintomak arintzeko edota sendatzeko finkatu.
- AS agertzean, terapia genikoa erabiliz gaixotasuna erabat desagerrarazteko dauden estrategia desberdinen deskribapena.

3.- GARAPENA

3.1- Metodologia

Aipatutako helburuak eskuratzeko, bilaketa bibliografikoan oinarritutako lana burutu da, zehazki Pubmed datu basean aurkitzen diren artikuluetan oinarrituta. Artikuluak bilatzeko hainbat hitz gako erabili dira: “Angelman syndrome” edo “Angelman”, “treatment”, “UBE3A” edo “UBE3A gene”, “therapy”, “Cas9”, “antisense oligonucleotide”, “ubiquitin ligase”, “clinical” eta “preclinical”. Hitz gako hauek konbinaturik bilaketa zehatzago bat burutu da: “Angelman syndrome” + “therapy”, “therapy” + “Cas9”, “Angelman syndrome” + “antisense oligonucleotide” + “therapy”, “Angelman syndrome” + “clinical”/“preclinical”... Horretaz gain argitaratze datarekiko iragazkia ere ipini da: azken 10 urteetan argitaraturikoak. Ahalik eta artikulua eguneratuenak lortzeko bilaketa ingeleraz egin da.

3.2- Terapia ez farmakologikoa

Terapia ez farmakologikoa behin AS garaturik dagoenean erabilgarria izan daiteke. Terapia hauek ez dute maila molekularrean aldaketarik eragingo, baina hainbat sintoma arintzeko (mugimendu eta hizkera arazoak) erabilgarriak izan daitezke.

3.2.1- Logopedia

AS duten gaixoei hizkera arazoak izaten dituzte, askotan hitzegite falta osoa pairatu ahal dutelarik^[2]. Horregatik garrantzitsua da txikitatik logopediaren bidez hau lantzea. Komunikazio alternatiboa eta handigarria (*augmentative and alternative communication* edo AAC ingelesez) erabil daiteke hizkuntza desgaitasunak tratatzeko. Haei esker espresio maila handitzea (handigarria) edota komunikazio zailtasunak konpentsatzea (alternatiboa) bilatzen da bereziki. AAC-ak hainbat baliabide desberdinez baliatzen da: zeinuak, soinuak, ikur bidezko sistemak (ikur grafikoak eta sistema piktografikoak) eta gailu elektronikoak. 2012. urtean New Hampshire unibertsitatean egindako ikerketa batean AS zuten 195 umeen gurasoei AACak erabilgarriak ziren galdetu zitzaizkien. Baietz erantzun zuten gurasoei (122) zein metodo edo metodo konbinazio zen erabilgarriaren adierazteko eskatu zitzaizkien, 2. *taula*^[7] ikus daitezkeen emaitzak lortuz. Honela zein metodo zein eraginkorren ikusi ahal izan zuten: gailu elektronikoak. Gailu hauek erabiltzen zituzten gaixoen ia laurdenean komunikazioan hobekuntzak agertzen zituztelarik.

2. taula– Komunikazio alternatiboa eta handigarriari (*augmentative and alternative communication, ACC*) buruz New Hampshire unibertsitateak egindako galdeketaren emaitzak ^[7]

	Erabilgarria (%)
Gailu elektronikoak	23,1
Zeinuak	21
Soinuak	10,5
Gurasoa bultzatu nahi den gauzarantz	9,1
Sistema piktografikoak	8,4
Bestelakoak	27,9

3.2.2- Terapia psikomotorea

Lehenago aipatu bezala, mugimendu eta oreka arazoak ASn sintomak dira, gehien bat ataxia edota gorputz adarretan dardara. Honen ondorioz ibiltzerakoan zailtasunak izango dituztelarik. Hau hobetzeko helburuarekin terapia psikomotorea tratamendu estrategia moduan erabil daiteke, bereziki erabilgarria izan daiteke neuroerrehabilitazioa; izan ere, honek NSZ dauden kalteen ondoriozko defizit funtzionalak hobetzea du funts. Neuroerrehabilitazio metodo desberdinak erabiltzen direlarik gaur egun:

- **Vojta metodoa** ^[8]

Metodo hau genetikoki programaturik dauden patroien globalen estimulazioan oinarritzen da. Mugimendu fasikoen bitartez mugimendua kontrolatzen duten garuneko zirkuituen aktibazioa eraginez. Honetarako pazienteak abiapuntuko jarreraren kokatzen da eta puntu zehatzetan presio eginez estimulu propiozeptibo bat eragiten da, honen eraginez erantzun motore global bat ematen delarik. Hau modu egoki batean garatzen bada aurrea eta aldeetara ibiltzeko gaitasuna berreskuratu daitekeelarik^[9].

- **Le Métayer**

Xede nagusia motrizitate funtzionalaren garapenean datza. Hau lortzeko erlaxazio automatikoa eta jarrera posturaren zuzentzea erabiltzen direlarik. Honi esker gaixoa mugimendu automatiko konplexuak egiteko gai izango da^[10].

- **Bobath**

NSZ heltze egoki bat izan ez duten pazienteetan da erabilgarria. Kasu honetan mugimendua egiten ez da irakasten, baizik eta zer sentitzen den hau egitean^[11]. Honetarako patroien anormalen inhibizioan eta postura egokiaren erraztean oinarritzen da. Ikerketa ugari erakutsi dute erabilgarritasuna dutela garun paralisia duten umeetan, beraz hau erabilgarria izan liteke AS tratatzeko ^[12].

- **Perfetti edo ariketa terapeutiko kognositiboa**

Errehabilitazioa ikasketa prozesu batean oinarritzean datza. Memoria, imajinazioa, motibazioa, eta arreta ardatz nagusi dituelarik. Ariketak arazoetan oinarritzen dira, non hauek ebazteko gorputzeko mugimendu zehatzak egin behar diren^[13].

3.3- Entsegu klinikoan dauden farmakoen eraginkortasuna

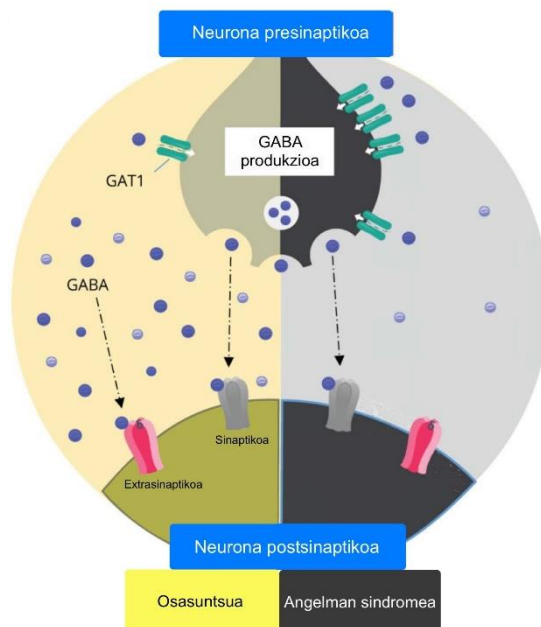
ASren tratamenduan farmakoen erabilera erabilgarria da UBE3Aren faltak eragina duen bide metaboliko ezagunetan. Izan ere, gaixotasun honetan eraldaturik dauden bide molekularretan eragina duten farmakoek sintomak hobeto dituzakete modu eraginkor batean. GABA extrasinaptikoaren birxurgapenean, TrkB-Akt bidean eta UBE3A-PTPA-PP2A bidean eragiten duten farmakoek nolabaiteko eraginkortasuna erakutsi dute.

Hemendik aurrera aipatuko diren ikerketa lan guztietan emaitzak esanguratsuak direla adierazteko, p balio estatistikoa $< 0,05$ kontuan hartu dute. Irudietan hau irudikatzeko zeinuak aurkitzen direlarik: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$ eta *** = $p < 0,001$.

3.3.1- Gaboxadol

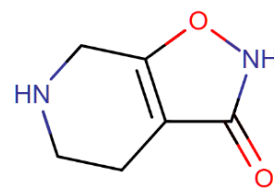
UBE3Ean ematen den eraldaketa horrek E3 ubikuitina ligasa falta eragiten du. Honen ondorioz, besteak beste GAT1 garratzaileak ez dira poliubikuitinizatzen eta degradatzen, azido gamma-aminobutirikoaren (GABA) gehiegizko birxurgapen presinaptikoa gertatuz. GABA neurotransmisore inhibitzaile nagusia da nerbio sisteman, inhibizio tonikoa eragiten duena eta ondorioz kitzikakortasun neuronala erregulatzen duena. Ataxia eragiten duen mekanismoa hau dela uste da^[14].

ASn GABA maila extrasinaptikoak gutxituak egongo dira, GABA_A hartzaille extrasinaptikoen eragin tonikoaren inhibizioa galtzen delarik, neuronen kitzikakortasunean eragin zuzena izanez (4.irudia^[14]). ASaren kasuan, GAT1 hartzailleak ez direnez UBE3A bidez ubikuitinizatzen hauen maila igotzen da, GABA mailak jaitsiz espazio sinaptikoan GABA_A hartzaille extrasinaptikoak gutxiago aktibatuko direlarik.



4.irudia– Angelman sindromeak eragindako GABA maila extrasinaptikoaren jaitsieraren mekanismoa. ASaren kasuan, GAT1 hartzailleak ez direnez ubikuitinizatzen eta hortaz degradatzen hauen maila igotzen da, GABA mailak jaitsiz espazio sinaptikoan GABA_A hartzaillea extrasinaptikoak gutxiago aktibatuko direlarik.^[14]

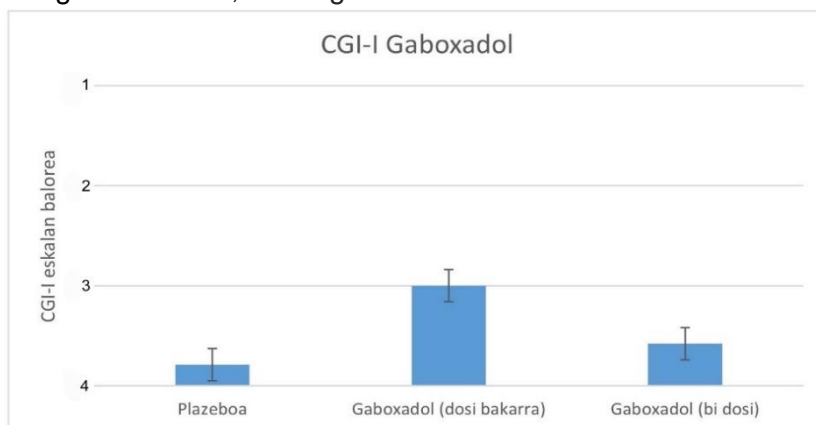
Gaboxadol-a GABA hartzaileen agonista ortosterikoa da. Bere egitura 5. irudian^[15] ikus daiteke. Hau oso selektiboa da GABA_A hartzaile extrasinaptikoekiko. Honi esker neuronen kitzikakortasun normala berreskuratu daitekeelarik, ASk eragindako ataxia arinduz eta mugimendu arazoetan hobekuntzak eraginez^[16].



5.irudia- Gaboxadolaren egitura molekularra^[15]

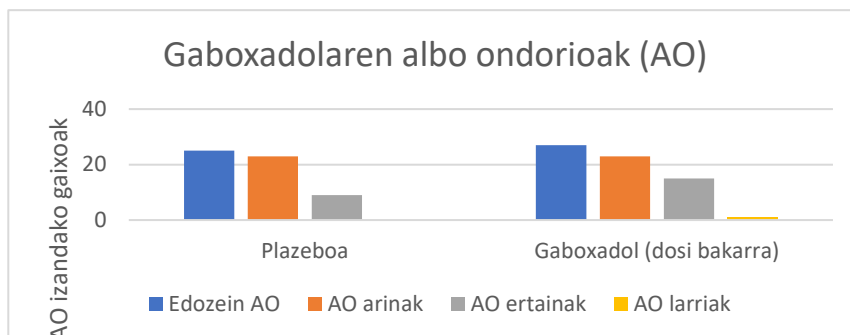
Farmakoaren eraginkortasuna frogatzeko entsegu kliniko bat aurkitzen da (*The STARS Phase 2 Study A Randomized Controlled Trial of Gaboxadol in Angelman Syndrome*^[14]), zeinaren ezaugarriak ondorengoak izan ziren: itsu bikoitza, plazebo kontrola eta esleitze aleatorioa. Entsegu honetan 88 gaixok hartu zuten parte, 78-k bukatu zutelarik. Ikerketak gaboxadola AS sintoma motoreak tratatzeko eraginkorra izan daitekeela ondorioztatu zuen. Gainera, ikerketa honen beste helburuetako bat gaboxadolak eragin ditzaken albo ondorioak bilatzea izan zen ere.

Hasteko, erabilgarritasuna egiazteko, CGI-I (*Clinical Global Impression- Improvement*) eta CGI-S (*Clinical Global Impression- Severity*) eskalak erabili ziren. CGI-S entsegu klinikoa hasi aurretik gaixoen egoera zehazten zuen 9 aspektutan (agitazioa, letargia, jarrera estereotipikoa, hiperaktibitatea, barre desegokia, mugikortasunean arazoak, antsietatea eta lo arazoak), hau abiapuntu moduan finkatuz. Bukatzean CGI-I balioak zehaztu ziren. CGI-I geroz eta gehiago hurbildu 1 baliora orduan eta hobekuntza handiagoa izan duela esan nahiko du. 3 taldetan banatu ziren gaixoak: plazeboa jasoko zutenak (27 gaixo), gaboxadol egunean behin jasoko zutenak (27 gaixo) eta gaboxadola egunean bitan jasoko zutenak (28 gaixo). 12 asteetara parametro berdinetan egin ziren neurketak CGI-I batezbestekoa zehaztuz karratu minimoen metodoa erabiliz. Plazeboaren kasuan CGI-I= 3,79; dosi bakarraren kasuan CGI-I= 3 eta bi dosien kasuan CGI-I= 3,58 izanik (6.irudia^[14]). Bi dosien kasuan emaitza ez ziren estatistikoki esanguratsua izan, beraz gaboxadola bi dositan hartzea baztertu zen.



6.irudia – “The STARS Phase 2 Study A Randomized Controlled Trial of Gaboxadol in Angelman Syndrome” entseguan emandako CGI-I emaitzak. Bertan gaboxadola dosi bakarrean ematean CGI-I eskalan hobekuntza ematen dela ikus daiteke.^[14]

Albo ondorioei dagokienez, 3 albo ondorio (AO) mota zehaztu ziren: arinak, ertainak eta larriak (7.irudia^[14]). Dosi bakarria hartu zuten kasuan soilik pertsona batek izan zuen albo ondorio larri bat. Plazeboek jasandako albo ondorioak dosi bakarrekoeekin alderatuz gero, soilik %5-ean igotzen da hauek pairatzeko aukera, segurtasun profil egoki bat azalduz.



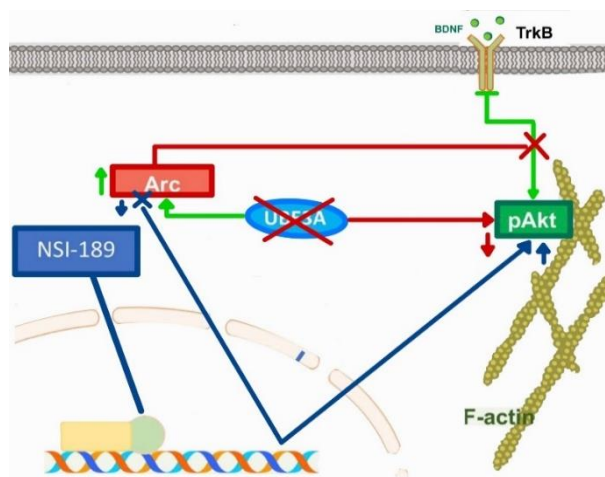
7.irudia – Entseguan azaldutako albo ondorioak. Urdina= edozein AO mota pairatu dutenak. Laranja= AO arinak pairatu dituztenak. Grisa= AO ertainak. Horia= AO larriak. Plazebo eta gaboxadol taldeen artean ematen den aldea minimoa dela ikusten da, segurtasun profil egoki bat azalduz.^[14]

Beraz, entsegu kliniko honek erakutsi du gaboxadolak baduela eragin positiboa ASren sintometan, CGI-la gehiago hurbiltzen da 1era eta honek hobekuntza adierazten du zehaztutako 9 aspektuetan, dosi bakarrean hartzean, segurtasun profil egokia adierazten duelarik.

3.3.2- NSI-189 fosfatoa

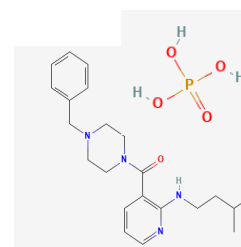
AS pairatzen duten gaixoen arazo kognitiboen eragilea plastikotasun sinaptikoan emandako eraldaketak izan daitezkeelaren hipotesia ere badago^[17]. Plastikotasun sinaptikoa sinapsia indartzeko edo ahultzeko gaitasuna da, indartzea ikasteko gaitasunaren eta memoriaren oinarrietako bat delarik. Honek AS duten gaixoen atzerapen intelektuala eta hitz egite falta azaldu ditzake.

Proteina zitoeskeletikoen eta hainbat kanal ionikoen/hartzaileen erregulazioan alterazioen ondorioz, TrkB-Akt eta Arc bideetan bereziki, AS duten gaixoen plastikotasun sinaptikoan akatsak dituzte. UBE3Aak Arc-ren ubikuitinazioa burutzen du, hau degradatuz, honek TrkBren seinalizazioa blokeatzen du, beharrezkoa dena dendriten zitoeskeletoaren aktiniazioa burutzeko pAkt bidez. UBE3A faltaren ondorioz Arc mailak igotzen dira, honek TrkB hartzailearen seinalea blokeatzen duelarik eta pAkt mailak jaitsiz (8.irudia^[17]). Honek guztiak morfologia sinaptikoan eragin zuzena du, dendriten heldutze falta egongo delarik eta ondorioz epe luzeko potentziazioa (LTP ingelesez, *Long-Term potentiation*) kaltetuz. LTP plastikotasun sinaptikoaren barne dagoen fenomenoetako bat da. Honek sinapsia indartzen du, ikasketa gaitasunerako eta memoriarako beharrezkoa dena.



8.irudia– TrkB-Akt bidearen alterazioa eta NSI-189ren eragina. UBE3A faltak Arc igoera eta Akt aktibitatearen jaitsiera eragiten duela ikusten da: TrkB hartzailearen seinalea inhibituz. Honek plastikotasun sinaptikoan eraginez. NSI-189 fosfatoak Arc eta TrkB-Akt bideetan eragina duten geneen transkripzio eta translazioa eragiten ditu, Arc mailak jaitsiz eta Akt bidea aktibatuz^[17]

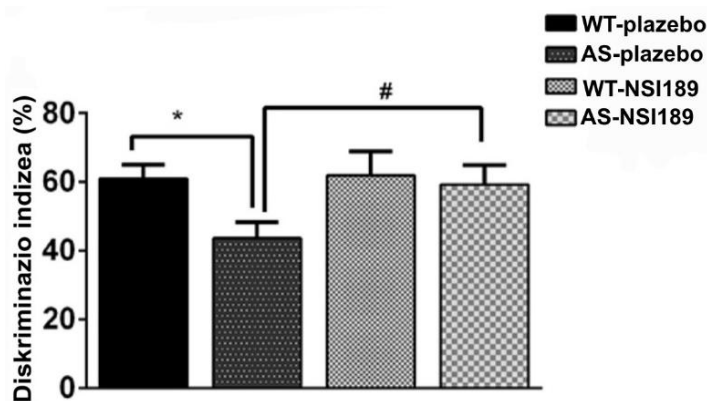
NSI-189 fosfatoa garapenean dagoen molekula bat da. Bere egitura 9.irudian ikus daiteke^[18]. Honek eragina du Arc eta TrkB-Akt bideetan eragina duten geneen transkripzio eta itzulpenean, Arc mailak jaitsiz eta TrkB-Akt bidea aktibatuz 8.irudian^[17] ikus daitekeen moduan. Honela elastikotasun sinaptikoan emandako kalteak berreskuratzen direlarik.



9.irudia– NSI-189 egitura.
[18]

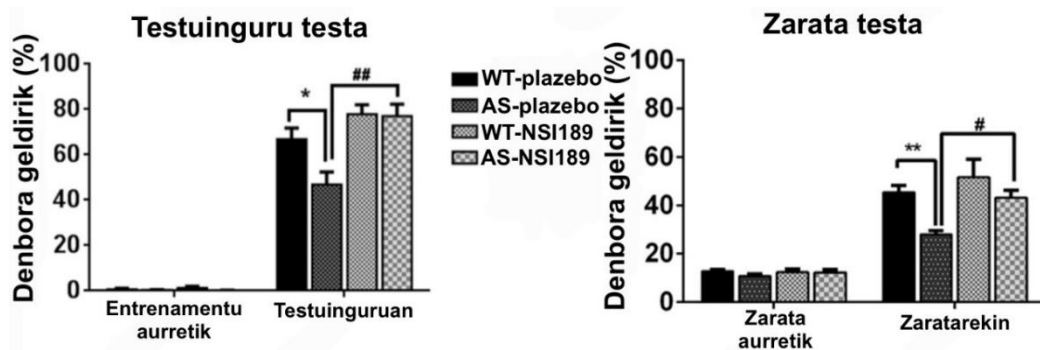
Farmako hau eraginkorra dela frogatzeko saguekin egin zen ikerketa. Honetarako Ube3a^{mat-/pat+} zuten saguak (AS saguak, ASren fenotipo batzuk aurkezten dituztenak) eta sagu basatiak/kontrol (WT ingelesez, *Wild Type*) erabili ziren. Hauek 2-4 hilabeteetako adina zuten. Bai WT zein AS saguak plazeboarekin eta NSI-189 fosfatoarekin tratatu ziren, lau talde desberdin izanik: WT-plazebo, WT-NSI-189, AS-plazebo eta AS-NSI-189. Erabilgarritasuna frogatzeko hainbat jarrera analisi desberdin egin zitzaizkien^[17]:

- **Objektu berriaren ezagutzea:** Denbora luzeko eta motzeko memoria neurtzeko erabiltzen den proba da. Probaren bitartez diskriminazio indizearen ehuneko kalkulatzen delarik = $T_{berria} / (T_{berria} + T_{zaharra}) \times 100\%$. 7 egunez plazeboarekin edo NSI-189 fosfato 30mg/kg-rekin injektatu ziren saguak sistematikoki. Azkeneko injektzioaren ondoren froga egin zen. Tratatu gabeko eta AS zuten saguetan indizea txikiagoa zen, memoria gutxiago azalduz. NSI-189 fosfatoarekin tratatutakoak aldiz, indize altuagoa izan zuten ia osasuntsuen maila berdinerara helduz, memorian hobekuntza nabaria izan zutela erakutsiz (10.irudia^[17]). Estatistikoki esanguratsuak izan ziren lorturiko emaitzak.



10.irudia– Objektu berriaren ezagutzearen probaren emaitzak. Epe luzeko eta motzeko memoria neurtzen da froga honetan. WT-plazebo eta AS-plazebo artean eta AS-plazebo eta AS-NSI189 artean emaitza esanguratsuak eman ziren.^[17]

- **Beldurrari egokitzea:** Ikaste eta memoria neurtzeko erabiltzen den proba da hau. Saguak beldur egokitze kaiolan entrenatzen dira, bertan zarata-deskarga ziklo bat ematen da. Entrenamenduaren ondorengo egunean saguak kaiola berdinen sartzen dira eta 5 minutuz geldirik dagoen denbora neurtzen da (testuinguru testa). Ondoren entrenamendurako erabilitako kaiola eraldatu egiten da eta 5 minutuz geldirik dagoen denbora neurtu ondoren, zarata egiten da (deskargarik eman gabe) eta geldirik dagoen denbora neurtzen da minutu batez (zarata testa). Kasu honetan saguak plazeboarekin eta NSI-189 fosfatoarekin (30mg/kg, injekzio intraperitoneala) injektatu ziren 14 egunez. 15. egunean testuinguru testa egin zitzaion eta 16. egunean zarata testa. AS zuten eta plazeboa jaso zuten saguak denbora gutxiagoz gelditzen ziren geldirik (ikaste eta memoria funtzio kaltetuak azalduz), baina NSI-189 fosfatoarekin trataturiko saguak denbora gehiagoz gelditzen ziren geldirik (11.irudia^[16]). Zarataren ondoren deskarga zetorrela gogoratzen zuten eta gelditu egiten ziren deskarga jasotzeko, beraz memorian hobekuntza azaltzen zuten ia osasuntsuen maila lortuz. Estatistikoki esanguratsuak izan ziren emaitzak.



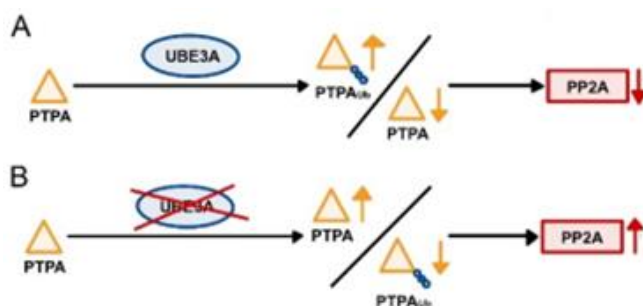
11.irudia– Beldurrari egokitzearen probaren emaitzak. Bertan ikaste eta memoria neurtzen dira. Emaitza esanguratsuak lortu ziren eta trataturiko AS saguek hobekuntza nabaria erakutsi zuten memorian eta ikasketa gaitasunean.^[17]

Segurtasunari dagokionez, NSI-189 fosfato 40mg/egun eta 80mg/egun erabilirik, I eta II faseko entsegu klinikoak egin dira jada gizakietan depresioa eta disfuntzio kognitiboaren tratamendu moduan erabiltzeko^[19]. Bertan segurtasun profil egoki bat zuela erakutsi zen.

Ikerketak egiaztatu zuen NSI-189 fosfatoak ASan kalteturik dauden TrkB-Akt eta Arc bideetan eragina zuela, LTP egokia berreskuratuz. Emaitzek memorian eta ikasketa gaitasunean hobekuntzak azaldu zituzten, hau oso erabilgarria izan liteke ASren atzerapen intelektuala tratatzeko.

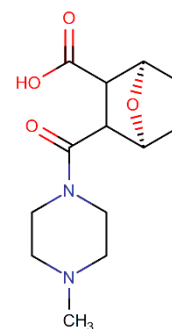
3.3.3- LB-100

ASn ematen den UBE3A disfuntzio horrek hipokanpoan eta burmuinean ematen den UBE3A-PTPA-PP2A bidean ere badu eragina. Izan ere, UBE3Aak PTPA (fosfotirosil fosfatasa aktibatzailea) ubikuitinizatzen du honen eragina erregulatuz. PTPAak PP2A (proteina fosfatasa 2A) holoentzimaren produkzioa bultzatzen du hau fosforilatuz. PP2Aak dendriten mozketara eragiten du (*pruning*) eta beraz transmisio sinaptikoan du eragina^[20]. Beraz, AS duten gaixoen kasuan, PTPA mailak handiturik egongo dira, hau ez delako ubikuitinizatzen, PP2A produkzioa bultzatuz eta kortex motoreko dendriten morfologian eta sinapsian eragin zuzena izanez (12.irudia). Honek ASren arazo motoreak eragingo dituelarik.



12.irudia – UBE3A-PTPA-PP2A bidea, UBE3Aak PTPA (fosfotirosil fosfatasa aktibatzailea) ubikuitinizatzen du eragina erregulatuz, PTPAak PP2A (proteina fosfatasa 2A) holoentzimaren produkzioa bultzatzen du hau fosforilatuz eta honek dendriten morfologian eragiten du. (A) osasuntsua, (B) Angelman sindromea pairatzen duen gaixoa.

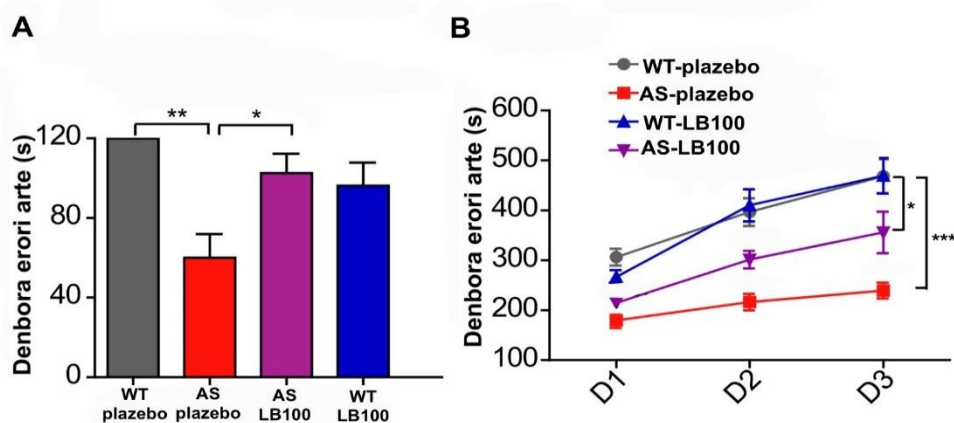
LB-100 proteina fosfatasa 2Aren inhibitzailea da. Bere egitura 13.irudian ikus daiteke^[21]. PP2A inhibitzean dendriten morfologia egokia berreskuratzen da, sinapsi egokia emanez. Gainera, pisu molekular baxuko molekula denez, erraz zeharkatzen du hesi hematoentzefalikoa, hipokanpo eta burmuinera erraz heltzen delarik.



13.irudia– LB-100 egitura^[21]

Bere eraginkortasuna frogatzeko saguekin egin zen ikerketa: “*UBE3A-mediated PTPA ubiquitination and degradation regulate PP2A activity and dendritic spine morphology*”^[20]. Bertan jaiotza ondoko 14. astetik aurrera LB-100 1mg/kg injektatu zitzaizaien saguei bi egunetan behin. Kasu honetan ere lau talde experimental erabili ziren= WT-plazebo, WT-LB100, AS-plazebo eta AS-LB100. Bi jarrera analisi egin ziren:

- *Alanbrean zintzilik*: honi esker muskuluen indarra neurtu daiteke. Proban sagua alanbrean zintzilik dagoen denbora neurtzen da. Jaiotza ondoko 14. astean hasi ziren saguak injektatzen eta 30. astean egin zen froga. AS saguak denbora gehiagoz eutsi ziren alanbrean tratatu gabekoekin alderatuz gero, muskuluen indarrean hobekuntza erakutsiz, *14.irudian*^[20] (A) ikus daitekeen moduan. Estatistikoki esanguratsuak izan ziren lorturiko emaitzak.
- *Rotarod*: froga honetan oreka motorea eta gaitasun motorea neurtu daitezke. Saguak zilindro batean kokatzen dira eta biratzen hasten da. Zilindroa denbora pasa ahala azeleratuz joango da. Saguak zilindrotik erori gabe ematen duten denbora neurtzen da. Kasu honetan ere jaiotza ondoko 14. astean hasi ziren saguak injektatzen eta 30. astean egin zen froga. Froga 3 aldiz errepikatu zen (D1, D2 eta D3), 15 minutuko tartearekin frogan artean. Bertan ikusi zen trataturik zeuden saguak denbora gehiagoz eusten zirela zilindroaren gainean, oreka eta gaitasun motore hobekuntza erakutsiz, *14.irudian*^[20] (B) ikus daitekeen moduan. Estatistikoki esanguratsuak izan ziren emaitzak lortu ziren ere.



14.irudia– LB-100rekin egindako frogan emaitzak. Bi frogetan trataturiko AS saguek hobekuntza erakusten dute. (A) alanbrean zintzilik, indar muskularra neurtzeko. (B) rotarod, oreka eta gaitasun motorea neurtzeko. Bi kasuetan esanguratsuak diren emaitzak agertzen dira.^[20]

Farmako honen segurtasuna frogaturik dago jada. Izan ere, antitumoral gisa ere joka dezake eta lehenengo faseko entsegu klinikoak egin dira gizakietan: “*Safety, tolerability, and preliminary activity of LB-100, an inhibitor of protein phosphatase 2A, in patients with relapsed solid tumors: an open-label, dose-escalation, first-in-human, phase 1 trial*”^[22]. Bertan segurtasun profil egoki bat zuela erakutsi zen.

Ikerketak egiaztatu zuen LB-100k PP2A inhibitzen duela eta kortex motorearen dendriten morfologia egokia berreskuratzen dela sinapsi egokia ahalbidetuz. Honela ASren arazo motoreak tratatzen direlarik.

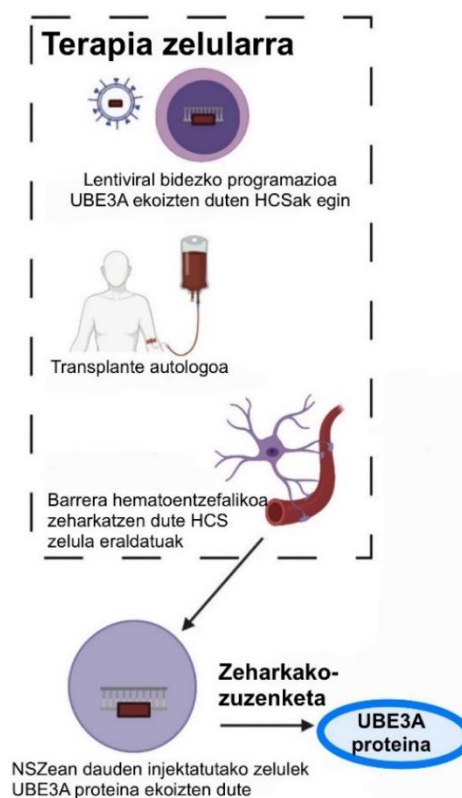
3.4- Terapia genikoak

Terapia genikoaren bidez gene akastuna ordezkatzeta edo osatzea posible da. ASren kasuan hau erabilgarria da, izan ere UBE3A gene akastunak eragiten baitu gaixotasuna.

Hainbat estrategia desberdin aurkitzen dira garapenean gaur egun. Horien artean gene ordezkapena eta aitaren aleloaren isiltzearen inhibizioa dira aurreraturik daudenak. Terapia hauetan epe kritikoa izan behar da kontuan, izan ere, badaude ikerketak^[23] non erakusten den AS ez bada tratatzen jaio ondorengo asteetan badirela berreskuratu ezin daitezkeen gaitasunak.

3.4.1- Terapia zelular bidezko gene ordezkapena

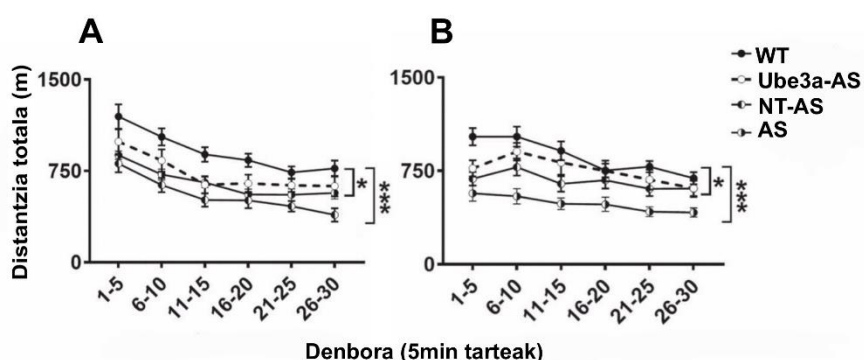
Terapia zelular bidezko gene ordezkapena ama zelula hematopoietiko (HSC, ingelesez *hematopoietic stem cells*) autologoekin egiten da. Hasteko pazienteari odola ateratzen zaio ama zelulak lortzeko. HSC zelulei *lentiviral* bektore baten bidez *ex vivo* UBE3A genearen kopia normal bat txertatzen zaie. Ondoren, zelula horiekin transfusioa egiten zaio berriro pazienteari. HSC zelula eraldatuak hesi hematoentzefalikoa gurutzatzeko gai direnez NSZera iritsiko dira eta bertan UBE3A jariatuko dute. *Zeharkako-zuzenketa* ematen da, hau da, eraldatutako zelulek jariatutako proteinak neurona akatsdunek jasoko dituzte, funtzionamendu egoki bat lortuko dutelarik^[24] (*15.irudia*^[25]).



15.irudia– Lentiviral bektorearen bidezko gene ordezkapena. Ama zelula hematopoietikoei (HSC) lentiviral bektore baten bidez UBE3A genearen kopia normal bat txertatzen zaie, zelula hauek berriro pazienteari transplantatzen zaizkio bueltan. HSC zelula eraldatuak NSZera iristen dira eta bertan UBE3A jariatuko dute zeharkako-zuzenketa emanez.^[25]

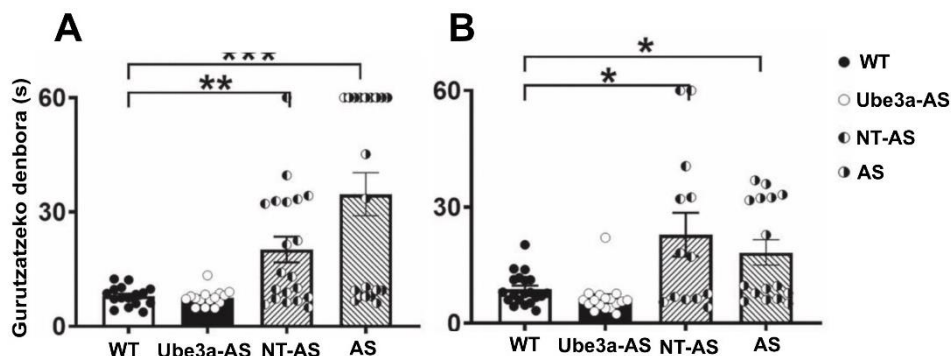
Estrategia hau bideragarria zela egiaztatzeko “*Functional rescue in an Angelman syndrome model following treatment with lentivector transduced hematopoietic stem cells*” ikerketa egin zen^[24]. Bertan saguekin egin ziren frogak, baina erabilitako ama zelulak giza CD34+ zelulak izan ziren. Erantzun immunerik ez agertzeko, IL2rg⁻ sagu immunodeprimituak erabili ziren. Lau sagu talde erabili ziren ikerketan: WT saguak (osasuntsuak eta immunodeprimituak), AS saguak (Ube3a^{mat-/pat+} eta immunodeprimituak), NT-AS saguak (Ube3a^{mat-/pat+}, immunodeprimituak eta eraldatu gabeko CD34+ transplantatua jaso dutenak) eta Ube3a-AS (Ube3a^{mat-/pat+}, immunodeprimituak eta bektore bidezko eraldatutako CD34+ transplantatua jaso dutenak) erabili ziren. Esperimentuak bi aldiz errepikatu ziren, lehenik sagu jaio berrietan eta ondoren sagu helduetan. Honela terapiaren eraginkortasuna ikusi ahal izan zuten bizitzan zehar. Hainbat esperimendu egin ziren:

- *Mugimendua zelai irekian*: esperimendu honekin mugimendu aktibitatea neurtu daiteke. Saguak kaiola huts batean kokatzen ziren. Bertan 30 minutuz mugitzen ziren distantzia neurtzen zen. Bai jaioberrien eta bai helduen kasuan, Ube3a-AS saguek ez zuten ia alderik erakutsi WT saguekin. NT-AS eta AS saguek ASren sintomak erakutsi zituzten eta denbora gutxiagoz mugitzen ziren, 16.irudian^[24] ikus daitekeen moduan. Esanguratsuak ziren emaitzak lortu ziren.



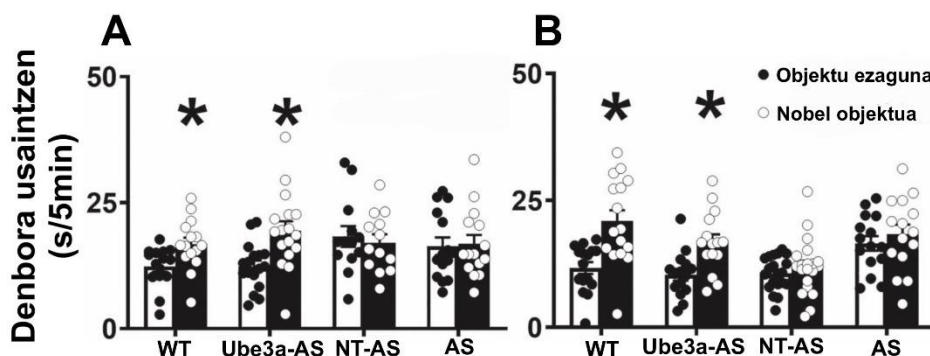
16.irudia– Mugimendua zelai irekian frogaren emaitzak. Mugimendu aktibitatea neurtzeko erabilgarria da frogak. (A) jaioberrietan, (B) helduetan. Bi kasuetan trataturiko saguek hobekuntza erakutsi zuten tratatu gabekoekin alderatuz gero. Emaitza esanguratsuak lortu ziren. ^[24]

- *Oreka-barran ibiltzea*: kasu honetan oreka eta koordinazio maila neurtu daiteke. Saguak barraren alde batean kokatzen dira eta beste alderaino igarotzen pasatzen duten denbora neurtzen da, geroz eta denbora gutxiago behar orduan eta oreka eta koordinazio hobea izango dutelarik. Bai jaioberrien eta bai helduen kasuan, Ube3a-AS saguek ez zuten ia alderik erakutsi WT saguekin. NT-AS eta AS saguek ASren sintomak erakutsi zituzten eta denbora gehiago behar zuten, 17.irudian^[24] ikus daitekeen moduan.



17.irudia– Oreka-barran ibiltzea frogaren emaitzak. Oreka eta koordinazio maila neurtzen dira bertan. (A) jaioberrietan, (B) helduetan. Bi kasuetan trataturiko saguek hobekuntza erakutsi zuten tratatu gabekoekin alderatuz gero. Emaitza esanguratsuak lortu ziren. [23]

- **Objektu berriaren ezagutzea:** Denbora luzeko eta motzeko memoria neurtzeko erabiltzen den proba da. Aurretik azaldu da proba hau nola burutzen den. Kasu honetan diskriminazio indizearen ordean, denbora usaintzen (segundo/5min) erabili zen. Bai jaioberrien eta bai helduen kasuan, Ube3a-AS saguek denbora gutxiago ematen zuten objektu berria usaintzen, WT saguen antzera, memoria berreskuratzea azalduz. NT-AS eta AS saguek antzeko denbora eman zuten bi objektuak usaintzen, memoria gutxiago azalduz (18.irudia^[24]).



18.irudia– Objektu berria ezagutzea frogaren emaitzak. Epe luzeko eta motzeko memoria neurtzen dira bertan. (A) jaioberrietan, (B) helduetan. Bi kasuetan trataturiko saguek hobekuntza erakutsi zuten tratatu gabekoekin alderatuz gero. Emaitza esanguratsuak lortu ziren. [24]

Jaioberrien kasuan transplantetik 8 aste pasatzean eta helduetan 6 asteetara, WT eta Ube3a-AS taldeen artean ez zen ia alde lokomotorerik ez kognitiborik nabari, berreskurapen egoki bat azalduz. Hau garrantzitsua da, helduak ere epe kritikoaren ondoren tratatuak izan daitezkeelako. Gainera, tratamendu iraunkorra izango litzateke AS tratatzeko. Segurtasunari dagokionez, *lentiviral* bektorearen bidezko HSC zelulen gene ordezkapena erabiltzen duten beste hainbat gaixotasun genikorekin egin dira entsegu klinikoak^{[26] [27] [28]}. Bertan segurua dela ikusi da, hala ere ASrekin entsegu klinikoak egitea gomendatzen da segurua dela ziurtatzeko.

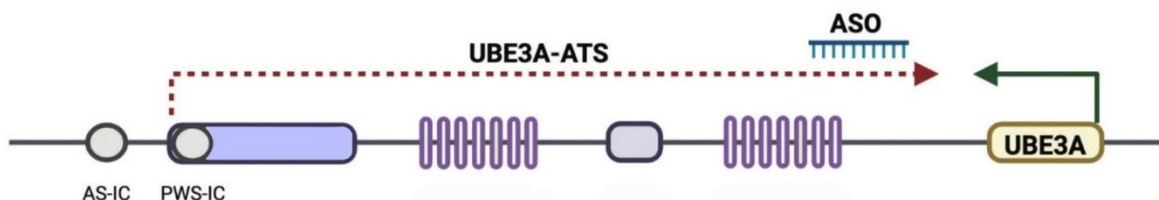
3.4.2- Antisense oligonukleotidoen bidezko terapia

AS kalteturik dagoen 15q11-q13 eskualde kromosomikoak eragiten du, neuronetan inpronta genetikoaren bidez erregulatzen dena. Amarengandik heredatutako aleloa espresatzen da soilik eta aitarena isildurik dago normalean, baina ASn amarena ez da espresatzen edo kalteturik dago. UBE3A-ATSaren transkripzioaren eraginez isiltzen da aitaren aleloa. PWS-IC (*Prader-Willi syndrome imprinting center*) gunetik antisense norabidean UBE3A kodetze eskualderaino doa, UBE3A genearen espresioa isilaraziz 19.irudian^[25] ikus daitekeen moduan.



19.irudia– Aitaren aleloaren isiltzea 15q11-q13 eskualdean. UBE3A-ATS transkriptasa PWS-IC gunetik antisense norabidean UBE3A kodetze eskualderaino doa, UBE3A genearen espresioa isilaraziz. ^[25]

AS tratatzeko beste estrategietako bat aitarengandik jasotako aleloa espresatzea eragitean datza. Hau lortzeko antisense oligonukleotidoak (ASO) eraginkorrak izan daitezke. ASOak UBE3-ATSaren alde distalera lotzean ASO/ARN hibridoa sorten da. RNasa H-k degradatu egiten du hibridoa UBE3A-ATSaren transkripzioa geldituz, aitaren UBE3A espresioa handiagotuz, 20.irudian^[25] ikus daitekeen moduan.



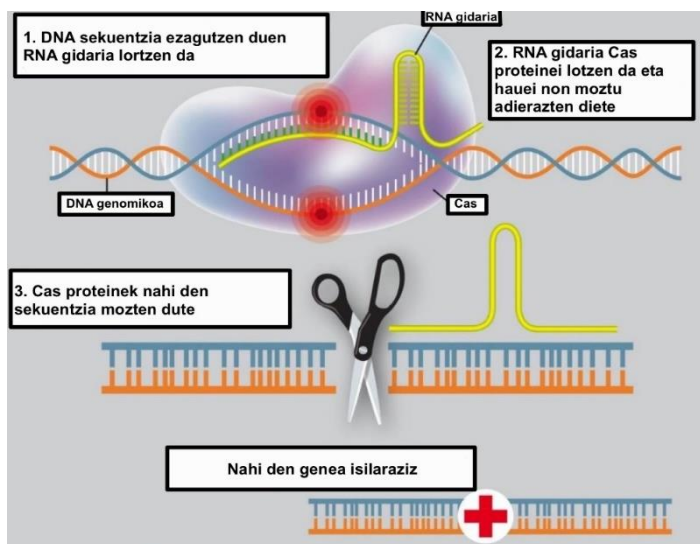
20.irudia– Antisense oligonukleotidoa UBE3A-ATSaren alde distalera lotzen da ASO/ARN hibridoa sortuz. RNasa H-ren bitartez hau degradatzen da. UBE3A-ATS transkripziorik ez dagoenez aitaren UBE3A espresatzen da. ^[25]

Gaur egun aurreratuenerik dagoen ASOa GTX-102a da. Hau entsegu klinikoaren 1/2 fasean aurkitzen da: “*A Study of the Safety and Tolerability of GTX-102 in Children With Angelman Syndrome (KIK-AS)*” ^[29]. Honetan goranzko dosiak (3,3mg-tik 36mg-raino) administratu zaizkie AS pairatzen duten gaixoei teka barneko injekzio bidez hilabetero. CGI-I eskalan +2,4 egin dute paziente guztiek, aurrerapenak hizkeran eta mugikortasunean emanez. Entseguaren behin-betiko emaitzak 2023ko urtarrilaren 24erako espero dira.

Segurtasunari dagokionez, albo ondorio larri bera izan dute paziente guztiek. Dosi altuetan teka barneko injekzioa eman den gunean gertatutako inflamazioak beheko adarretako ahultasuna sortzen du. Hala ere, hau desagertu egin da paziente guztietan eta mugikortasunean aurrerapenak agertzen dira berdin azken dositik 3/5 hilabeteetara.

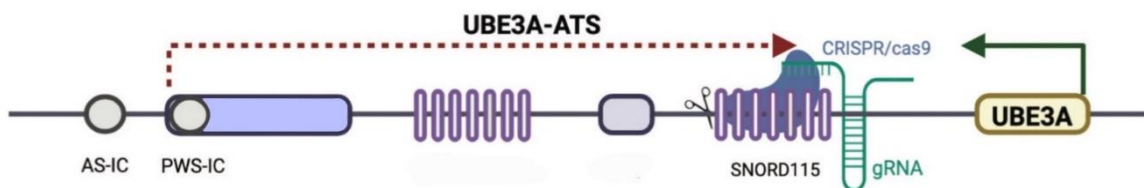
3.4.3- Cas9/CRISPR gen terapia

Cas9/CRISPR bidezko gene terapia aitaren aleloaren isiltzea saihestean datza ere. CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) bakterietan agertzen diren DNA sekuentzia errepikariak dira. Sekuentzia hauek bakteria eraso duten birusen DNA zatiak ditu, hauei esker bakteriak birusak detekta ditzake haien DNA mozteko. Tresna honetaz baliatuz edozein zelulako material genetiko zatiak moztu eta itsasi daitezke, geneak inaktibatu edo eraldatzea ahalbidetuz. Eraldatu nahi den sekuentzia ezagutzen duen ARN gidaria Cas proteinei lotzen da. Cas proteinak DNA mozten du ARN gidariak adierazitako tokian, honela genea isilduz edo beste DNA zati bat txertatuz hau eraldatzeko. Prozesua 21.irudian^[30] ikus daiteke. Prozesua merkea eta erraza da gainera.



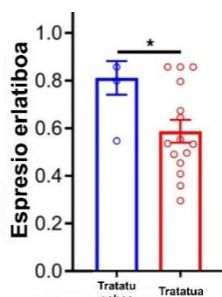
21.irudia– Cas9/CRISPR tresnaren funtzionamendua. (1) Eraldatu nahi den DNA sekuentzia ezagutzen duen proteina lortzen da. (2) Eraldatu nahi den sekuentzia ezagutzen duen ARN gidaria Cas proteinei lotzen da. (3) Cas proteinek DNA mozten du ARN gidariak adierazitako tokian, honela genea isilduz edo beste DNA zati bat txertatuz hau eraldatzeko. ^[30]

CRISPR/Cas9 AS tratatzeko erabilgarria izan daiteke, UBE3A-ATS kodetzen duten geneak blokeatuz, aitaren UBE3A espresatzea lor daitekeelako. SNORD115 geneak blokeatzean lortu ziren emaitzarik hoberenak. RNA gidariak (Spjw33) eta Cas9 entzimak administratzeko birus adeno-elkartuak (AAV) erabili ziren bektore moduan^[31]. 22.irudian^[25] ikus daiteke CRISPR/Cas9 nola aplika daiteken AS tratatzeko.



22.irudia– CRISPR/Cas9 bidezko UBE3A-ATS inhibizioa. AAV bidez Spjw33 RNA gidaria eta Cas9 injektatzen dira. Hauek SNORD115 geneetara lotzen dira, zeinenak UBE3A-ATS kodetzen duten, hauek isilaraziz. UBE3A-ATS ez espresatuz eta aitaren UBE3A espresatuz. ^[25]

Teknika hau eraginkorra dela frogatzeko saguekin “Cas9 gene therapy for Angelman syndrome traps Ube3a-ATS long non-coding RNA”^[31] entsegu preklinikoa egin zen. Bertan aurretik azaldutako jarrera analisiak egin ziren (rotarod, zelai irekia, beldurrari egokitzea...). Frogetan hobekuntza ikusi zen eta emaitza esanguratsuak lortu ziren, erabilgarritasuna frogatuz.



Saguen kortex zatietan, qPCR bat egin zen Ube3a-ATS espezifikoak ziren hasleak erabiliz. Ube3a-ATS espresio erlatiboa %28 batean jaitsi zen CASPR/Cas9 bidez trataturiko saguetan 23.irudian^[31] ikus daitekeen moduan, eraginkortasuna erakutsiz.

23.irudia– qPCR teknika eta espezifikoak diren primerrak erabiliz kortexean Ube3a-ATS espresio erlatiboa trataturiko saguetan eta tratatu gabekoetan. Traturikoe Ube3a-ATS %28 espresio gutxiago adierazten dute, CRISPR/Cas9 terapia eraginkorra dela adieraziz.^[31]

Terapia hau ezin daiteke oraindik gizakiekin erabili hainbat arrazoiengatik. Saguen eta gizakien DNA sekuentzia oso desberdinaenez saguetan erabilgarria den RNA gidaria eraldatu egin beharko litzateke gizakietan erabili ahal izateko. Gainera, ikerketa gehiago behar dira segurua dela baieztatzeko. Izan ere, Cas9-ak helburu diren geneak soilik erasotzen dituela ziurtatu behar da. Hala ere, terapia bideragarria eta behin-betikoa izan liteke AS pairatzen duten gaixoentzako ikertzen jarraituz gero.

Laburbilduz, entsegu klinikoetan hiru farmakoek eraginkortasun erakutsi dute AS hainbat sintoma tratatzeko. Gaboxadolak inhibizio tonikoaren berreskurapena eraginez arazo motoreak arintzen ditu. NSI-189 fosfatoak, aldiz, Arc eta Akt bide metabolikoei eragiten die arazo kognitiboak arinduz eta azkenenik, LB-100ak PP2A inhibituz sinapsi egokiaren berreskurapena eragiten du arazo motoreak arinduz. Terapia genikoari dagokionez, terapia zelularra fase preklinikoan aurkitzen da saguetan eta zeharkako-zuzenketa bidez UBE3A ekoiztea lortzen da neuronetan. Antisense oligonukleotidoak 1/2 fasea klinikoan eta Cas9/CRISPR fase preklinikoan saguekin aurkitzen dira. Hauek aitaren UBE3A espresioaren berreskurapena eragiten dute. 3.taulan laburbildurik azaltzen dira lan honetan jasotako terapia guztiak. Hauen ekintza mekanismoa laburki azaltzen delarik eta zein fase klinikotan aurkitzen diren.

3.taula – Deskribatutako terapia desberdinak eta hauen mekanismoak eta aurkitzen diren fase klinikoa.

Terapia	Mekanismoa	Fase klinikoa
Gaboxadol ^[14]	GABA agonista ortosterikoa → Inhibizio tonikoaren berreskurapena	3. fasea
NSI-189 fosfatao ^[17]	Arc eta Akt bideen metabolismoan eraginez plastikotasun sinpatikoaren berreskurapena	2. fasea
LB-100 ^[20]	PP2Aren inhibitzailea → sinapsi egokiaren berreskurapena	1. fasea
Terapia zelularra ^[24]	HCS autologo eraldatuen bidezko zeharkako-zuzenketa	Preklinikoa (<i>in vivo</i> saguekin)
Antisense oligonukleotidoak (GTX-102) ^[25]	UBE3A-ATSren transkripzioa inhibitu → Aitaren UBE3A espresioaren berreskurapena	1/2 fasea
Cas9/CRISPR ^{[25] [31]}	UBE3A kodetze eskualdearen mutagenesia → Aitaren UBE3A espresioaren berreskurapena	Preklinikoa (<i>in vivo</i> saguekin)

4.- ONDORIOAK

Gaur egun, Angelman sindromea tratatzeko estrategia tratamendu sintomatikoan oinarritzen da, beraz, arazoa errotik konpondu ordez adabakiak jartzen dira soilik. Hori dela eta ikerlariek ASri eragiten dizkieten bide metabolikoak ikertzeko apustu sendoa egin dute, hauei eragiten dieten farmakoei esker tratamendu eraginkor bat bilatu nahian. Hainbat farmakorekin entsegu klinikoak egin dira jada gizakietan eta eraginkortasuna azaltzeaz gain, seguruak direla baieztatu da. Farmako hauek erabilgarriak izango dira datozen urteotan AS duten gaixoentzat eta bizi kalitatea modu nabarmenean hobetuko diete. Baina hauek ez dute UBE3A sintesia berreskuratzen eta gaixoak bizi osoan zehar egon beharko dira tratamendua jasotzen.

Behin-betiko tratamendu bat lortzeko terapia genikoa da beharrezkoa, UBE3A sintesia berreskuratuz amaren aleloan genea konponduz edo aitaren aleloaren espresioa ahalbidetuz. Hau erakargarriagoa da farmakoen erabilera baino, izan ere guztiz senda liteke AS duen gaixoa. Antisense oligonukleotidoekin jada entsegu klinikoak martxan daude gizakiekin eta datozen urteetan hauen erabilera onar daiteke. CRISPR/Cas9 terapia ere oso erakargarria da DNA sekuentziak nahi diren moduan eraldatuz gaixotasun geniko ugari tratatu ahal izango direlako. Hala ere, ASrentzako gizakietan tratamendua lortzeko oraindik gehiago ikertu behar da, RNA gidari aproposa bilatzeko eta epe luzean duen segurtasun profila zehazteko.

Beraz, terapia genikoak garatzen eta onartzen diren bitartean, ASn kalteturik dauden bide metabolikoetan eragiten duten farmakoen erabilera konbinatua terapia psikomotorrekin eta logopediarekin izan daiteke AS tratatzeko behin-behineko tratamendurik eraginkorrena.

5.- BIBLIOGRAFIA

- [1] Margolis SS, Sell GL, Zbinden MA, Bird LM. Angelman syndrome. *Neurotherapeutics* [Internet]. 2015;12(3):641–50. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1007/s13311-015-0361-y>
- [2] Pelc K, Cheron G, Dan B. Behavior and neuropsychiatric manifestations in Angelman syndrome. *Neuropsychiatr Dis Treat* [Internet]. 2008;4(3):577–84. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.2147/ndt.s2749>
- [3] Duis J, Nespeca M, Summers J, Bird L, Bindels-de Heus KGCB, Valstar MJ, et al. A multidisciplinary approach and consensus statement to establish standards of care for Angelman syndrome. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2022;10(3):e1843. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1002/mgg3.1843>
- [4] D’Arcy P, Wang X, Linder S. Deubiquitinase inhibition as a cancer therapeutic strategy. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2015;147:32–54. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.11.002>
- [5] Elgersma Y, Sonzogni M. UBE3A reinstatement as a disease-modifying therapy for Angelman syndrome. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. 2021;63(7):802–7. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.14831>
- [6] Buiting K, Williams C, Horsthemke B. Angelman syndrome — insights into a rare neurogenetic disorder. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2016;12(10):584–93. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2016.133>
- [7] Calculator SN. Use and acceptance of AAC systems by children with Angelman syndrome. *J Appl Res Intellect Disabil* [Internet]. 2013;26(6):557–67. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1111/jar.12048>
- [8] Vojta V. Alteraciones motoras cerebrales infantiles: diagnóstico y tratamiento precoz. Madrid: Morata. 2005.
- [9] Imamura S, Sakuma K, Takahashi T. Estudio de seguimiento de niños con trastornos de coordinación cerebral (CCD, Vojta). *Dev Brain* 1983. 1983;5:311–4.
- [10] Métayer L. Reeducción cerebromotriz del niño pequeño: educación terapéutica. Barcelona: Masson; 1995.
- [11] Harris SR, Roxborough L. Efficacy and effectiveness of physical therapy in enhancing postural control in children with cerebral palsy. *Neural Plast* [Internet]. 2005;12(2–3):229–43; discussion 263-72. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1155/NP.2005.229>
- [12] Feters L, Kluzik J. The effects of neurodevelopmental treatment versus practice on the reaching of children with spastic cerebral palsy. *Phys Ther* [Internet]. 1996;76(4):346–58. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1093/ptj/76.4.346>

- [13] Perfetti C. El ejercicio terapéutico cognoscitivo para la reeducación motora del hemipléjico adulto. Edika Med. 1999;
- [14] Bird LM, Ochoa-Lubinoff C, Tan W-H, Heimer G, Melmed RD, Rakhit A, et al. The STARS phase 2 study: A randomized controlled trial of gaboxadol in Angelman syndrome. *Neurology* [Internet]. 2021;96(7):e1024–35. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000011409>
- [15] Gaboxadol. [2022ko apirilaren 14ean kontsultatua]; Eskuragarri: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06554>
- [16] Egawa K, Kitagawa K, Inoue K, Takayama M, Takayama C, Saitoh S, et al. Decreased tonic inhibition in cerebellar granule cells causes motor dysfunction in a mouse model of Angelman syndrome. *Sci Transl Med* [Internet]. 2012;4(163):163ra157. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3004655>
- [17] Liu Y, Johe K, Sun J, Hao X, Wang Y, Bi X, et al. Enhancement of synaptic plasticity and reversal of impairments in motor and cognitive functions in a mouse model of Angelman Syndrome by a small neurogenic molecule, NSI-189. *Neuropharmacology* [Internet]. 2019;144:337–44. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.10.038>
- [18] PubChem. NSI-189 phosphate [Internet]. Nih.gov. [2022ko apirilaren 19an kontsultatua]. Eskuragarri: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/50922680>
- [19] Johe KK, Kay G, Kumar S, Burdick KE, McIntyre RS, Papakostas GI, et al. NSI-189 phosphate, a novel neurogenic compound, selectively benefits moderately depressed patients: A post-hoc analysis of a phase 2 study of major depressive disorder. *Ann Clin Psychiatry*. 2020;32(3):182–96.
- [20] Wang J, Lou S-S, Wang T, Wu R-J, Li G, Zhao M, et al. UBE3A-mediated PTPA ubiquitination and degradation regulate PP2A activity and dendritic spine morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2019;116(25):12500–5. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1820131116>
- [21] LB-100. [2022ko maiatzaren 2an kontsultatua]; Eskuragarri: <https://go.drugbank.com/drugs/DB15412>
- [22] Chung V, Mansfield AS, Braiteh F, Richards D, Durivage H, Ungerleider RS, et al. Safety, tolerability, and preliminary activity of LB-100, an inhibitor of protein phosphatase 2A, in patients with relapsed solid tumors: An open-label, dose escalation, first-in-human, phase I trial. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017;23(13):3277–84. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2299>
- [23] Silva-Santos S, van Woerden GM, Bruinsma CF, Mientjes E, Jolfaei MA, Distel B, et al. Ube3a reinstatement identifies distinct developmental windows in a murine Angelman

- syndrome model. *J Clin Invest* [Internet]. 2015;125(5):2069–76. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI80554>
- [24]** Adhikari A, Copping NA, Beegle J, Cameron DL, Deng P, O’Geen H, et al. Functional rescue in an Angelman syndrome model following treatment with lentivector transduced hematopoietic stem cells. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2021;30(12):1067–83. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddab104>
- [25]** Markati T, Duis J, Servais L. Therapies in preclinical and clinical development for Angelman syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* [Internet]. 2021;30(7):709–20. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1080/13543784.2021.1939674>
- [26]** Biffi A, Montini E, Lorioli L, Cesani M, Fumagalli F, Plati T, et al. Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy Benefits metachromatic Leukodystrophy. *Science*. 2013;341:853–5.
- [27]** Eichler F, Duncan C, Musolino PL, Orchard PJ, De Oliveira S, Thrasher AJ, et al. Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral Adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med*. 2017;377:1630–8.
- [28]** Beegle J, Hendrix K, Maciel H, Nolta JA, Anderson JS. Improvement of motor and behavioral activity in Sandhoff mice transplanted with human CD34+ cells transduced with a HexA/HexB expressing lentiviral vector. *J Gene Med* [Internet]. 2020;22(9):e3205. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1002/jgm.3205>
- [29]** National Library of Medicine (U.S.). (2020, otsaila -). *A Study of the Safety and Tolerability of GTX-102 in Children With Angelman Syndrome (KIK-AS)*. Identifikatzailea NCT04259281. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04259281>
- [30]** Así funciona CRISPR, la revolucionaria herramienta de edición de ADN [Internet]. Agencia SINC. [2022ko maiatzaren 12an kontsultatua]. Eskuragarri: <https://www.agenciasinc.es/Visual/Infografias/Asi-funciona-CRISPR-la-revolucionaria-herramienta-de-edicion-de-ADN>
- [31]** Wolter JM, Mao H, Fragola G, Simon JM, Krantz JL, Bazick HO, et al. Cas9 gene therapy for Angelman syndrome traps Ube3a-ATS long non-coding RNA. *Nature* [Internet]. 2020;587(7833):281–4. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2835-2>