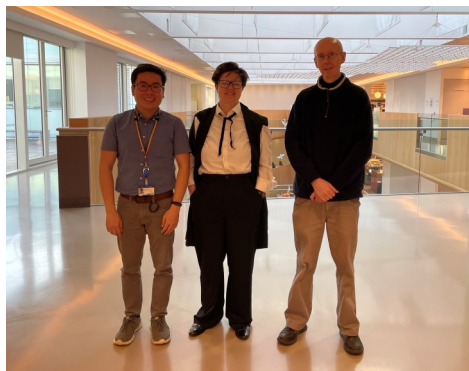


Preguntas y respuestas del equipo de investigación FOP de la Universidad de Oxford con el profesor Alex Bullock

Primavera 2022



En los últimos años, la financiación de la comunidad FOP ha
3 miembros del equipo a tiempo completo, incluidos dos miembros sénior del personal, la Dra. Ellie Williams y el Dr. Jong Fu Wong, y una doctora, la Srta. Liz Brown, que son administradas por mí. Aunque rojo, el profesor emérito Jim Triffitt también mantiene interés en el equipo. Ahora estamos en un estado de renovación como Ellie, Jong Fu y todos están dejando sus roles actuales para progresar en sus carreras. Ellie ha sido ascendida internamente a un puesto directivo, Jong Fu se marcha para ocupar un puesto en una empresa de biotecnología local, mientras que Liz es

a punto de completar su doctorado. Solo estamos anunciando para reclutar sus reemplazos. Todos están muy tristes por mudarse, pero están ansiosos por mantenerse en contacto y garantizar una entrega sin problemas a los nuevos reclutas.

¿Qué colaboraciones tienes alrededor del mundo?

La comunidad de investigación de FOP es un grupo pequeño y muy unido que se reúne regularmente y permite colaboraciones en todo el mundo. A continuación se enumeran ejemplos de nuestras colaboraciones por país.

Reino Unido: Richard Keen (ensayo clínico STOPFOP); Chris Jones/Swen Hoeld Institute of Cancer Research (inhibidores ACVR1 para FOP/DIPG); Varios genetistas clínicos (diagnóstico de FOP); AstraZeneca (ensayo clínico STOPFO); Charles Rivers Labs (inhibidores ACVR1 para FOP/DIPG)

Francia: la empresa de biotecnología Oncodesign (inhibidores ACVR1 para FOP)

Los países bajos: Gonzalo Sánchez-Duffhues y Peter ten Dijke (inhibidores de ACVR1 para FOP/DIPG); Marelise Eekhoff (ensayo clínico STOPFOP).

Alemania: Clemens Stockklauser (ensayo clínico STOPFOP); Petra Knaus (inhibidores ACVR1 para FOP)

España: Ángel Montero Carcaboso (Inhibidores de ACVR1 en modelos de ratones DIPG)

Canadá: Instituto de Ontario para la Investigación del Cáncer, M4K Pharma y Jerome Fortin (inhibidores de ACVR1 para FOP/DIPG)

Japón: Takenobu Katagiri (comprensión de las consecuencias funcionales de las variantes ACVR1 en FOP)

EE.UU: Eileen Shore (prueba de inhibidores de ACVR1 de M4K Pharma), Aris Economides/Regeneron (modelo de ratón FOP); Paul Yu (inhibidores de ACVR1 para FOP, ensayo clínico STOPFOP)



Actualización de investigación

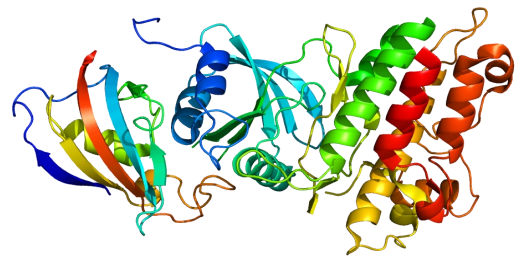
¿Cuál es su enfoque de investigación actual y qué significa eso para nosotros?

Nuestro trabajo se puede describir en torno a las tres áreas siguientes:

- Diagnóstico: ayudar a los genetistas clínicos
- Tratamiento: el ensayo clínico STOPFOP
- Investigación: comprensión de cómo las variantes del gen ACVR1 desarrollan estrategias adicionales de tratamiento farmacológico para la FOP

Recientemente, nuestra investigación involucró el enlace con genetistas clínicos para ayudar con los diagnósticos de FOP o para investigar las similitudes genéticas entre las variantes encontradas en FOP y aquellas identificadas en algunos tipos de cáncer u otras condiciones. Se considera que todo el ADN está formado por cuatro letras (A, T, G, C) que representan diferentes constituyentes químicos (nucleótidos, también conocidos como bases) que forman cadenas de información. La copia de estas cartas en un orden específico. Todos los casos de FOP a

involucrando al menos una posición de letra. El código del ADN se traduce en una proteína, llamada alternativamente ACVR1 o ALK2, que contiene 509 partes químicas llamadas aminoácidos. Creemos que el 95% de los casos de FOP implican que la letra de ADN en la posición 617 cambie de "G" a "A", lo que da como resultado que la proteína ACVR1 cambie la posición de aminoácido 206 de "R" a "H" (es decir, la variante R206H). De vez en cuando, las personas presentan otros cambios en las letras del ADN en el gen ACVR1 que no se habían visto antes. Por ejemplo, en el pasado analizamos cambios en el ADN que dieron como resultado una variante L196P en la proteína ACVR1. Los nuevos cambios de letras pueden ocurrir por casualidad y pueden ser benignos sin efectos dañinos, o actuar de manera similar a la variante R206H conocida que da como resultado una actividad hiperactiva de la proteína ACVR1. Por lo tanto, Para establecer entre estas posibilidades, hacemos las proteínas variantes en células humanas en un plato en el laboratorio, les proporcionamos nutrientes y luego medimos qué tan activa es la proteína ACVR1 después de agregar un factor de crecimiento estimulante como la proteína activina. Si la nueva variante de la proteína ACVR1 se vuelve hiperactiva después de agregar la activina, entonces tenemos buena evidencia de que la nueva variante es causante de FOP y esto se transmite a los médicos y clínicos.



Un aspecto clave de nuestra investigación anterior fue el descubrimiento de saracatinib como molécula de fármaco candidata para el tratamiento de la FOP. ACVR1 pertenece a una clase de proteína conocida como proteína quinasa. Estas proteínas son máquinas moleculares que estampan otras proteínas con moléculas de fosfato como una forma de transferencia de mensajes. Saracatinib es un conocido inhibidor de la proteína quinasa desarrollado originalmente por AstraZeneca. Actúa como una llave en una cerradura. Se une directamente a la

proteína ACVR1 y apaga su actividad. Esto evita que se convierta en la proteína hiperactiva responsable de la formación ósea no deseada en la FOP. Es importante destacar que saracatinib detuvo con éxito el desarrollo de FOP en ratones, como lo demostró nuestro colaborador Paul Yu en Boston, EE.

ha demostrado ser seguro en ensayos clínicos de fase I y fase II. Esto nos permitió ganar una subvención de la UE para iniciar el ensayo clínico STOPFOP. Todavía nos reunimos semanalmente con el equipo clínico de STOPFOP para discutir su implementación continua, así como su financiación a largo plazo y desarrollo futuro.



Nuestra investigación en curso se centra en gran medida en la proteína ACVR1 y su papel en la causa de la FOP. Para funcionar, ACVR1 debe cambiar entre los estados ON y OFF. El interruptor ON ocurre cuando una proteína quinasa hermana, como ACVR2, une moléculas de fosfato (pequeños grupos químicos) a ACVR1. Las variantes ACVR1 que causan FOP parecen activarse más fácilmente. Estamos estudiando esto bioquímicamente y estructuralmente y podemos replicarlo en condiciones de "tubo de ensayo" en

el laboratorio. Parece comportarse como el juego infantil "Whack-a-mole", donde los fosfatos se pueden agregar en diferentes sitios alternativos. Por lo tanto, si eliminamos algunos de ellos, simplemente aparecen en otro lugar. No obstante, si podemos simplificar el patrón de fosfato, hay más posibilidades de que tomemos una instantánea de su estructura 3D para aprender cómo funciona con mayor precisión. Por ejemplo, ¿cómo los fosfatos agregados en ACVR1 le permiten agarrar las moléculas de proteína SMAD que luego transmiten instrucciones de ACVR1 para una mayor formación de hueso en esta parte del cuerpo?

Usando el conocimiento de AC, una llave inglesa que puede atascar la construcción A y ahora tiene 50 n de forma iterativa para mejorar los objetivos c, una parte diferente de t saracatinib en la estrategia STOPFOP podría convertirlo en una de las proteínas del interruptor ACVR1 ON/OFF, así que con suerte lo hará. Este será uno de los miembros del equipo de trabajo que se contratará



¿Cuáles son sus g significativos?



regular el interruptor ON/OFF ACVR1 (es decir, pueden actuar para bloquearlo más, o facilitar su activación). Durante los próximos 3 años nuestro objetivo es (i) completar el ensayo clínico STOPFOP; y (ii) tener una estructura 3D para el estado ON activo de ACVR1 para aprender más sobre su mecanismo.

Si hubiera una sola pieza de información que le gustaría saber que mejoraría el éxito potencial de su investigación, ¿cuál sería?

Nos gustaría obtener más información estructural en 3D que muestre cómo actúan nuestros precursores de fármacos tipo llave inglesa para bloquear el interruptor ACVR1 ON. Armados con esta información, los químicos sabrían cómo modificar mejor los precursores de drogas para mejorar sus propiedades (similar a un cerrajero afinando una llave).

Actualización de recaudación de fondos

¿Cómo se gasta el dinero recaudado por FOP Friends with FOP France?



Todo el dinero generosamente donado a la investigación de FOP en la Universidad de Oxford se gasta en investigación. Alrededor del 80 % del dinero se gasta en personal, mientras que el 20 % se gasta en las materias primas necesarias para realizar experimentos (anticuerpos, productos químicos, material de plástico, kits de purificación de ADN y proteínas, nutrientes para células en crecimiento, etc.). Quizás el 1% se gasta en asistencia a conferencias científicas donde los resultados de la investigación se informan a otros científicos y médicos.

Si FOP Friends encontrara £1,000,000, ¿qué podríamos lograr?

Tal cifra podría usarse para desarrollar aún más el ensayo clínico STOPFOP. Por ejemplo, para realizar experimentos de seguridad (estudios de toxicología) para comprobar la idoneidad de saracatinib para su uso en niños. Alternativamente, si la idea clave para la inhibición de ACVR1 resultara manejable, este dinero probablemente nos permitiría desarrollarla lo suficiente para un estudio de prueba de concepto en ratones, que sería un paso necesario antes de considerar cualquier uso en humanos.

¿Hay otros roles que le gustaría agregar al equipo, si el dinero no fuera un problema?



Basado en la experiencia actual, diría roles complementarios relacionados con la química médica. Esto nos permitiría diseñar nuevas moléculas dentro del equipo y explorar rápidamente su eficacia para bloquear el interruptor ACVR1 ON/OFF.

¿La investigación es escalable, es decir, podría aumentar de 3 a 6 empleados en función del tamaño del laboratorio? Si hubiera 10 personas, ¿el tratamiento tomaría una décima parte del tiempo?



Ciertamente, la vacuna de la Universidad de Oxford/AstraZeneca contra el Covid muestra lo que se puede hacer. De acuerdo con los estereotipos, la investigación científica a menudo se asocia con momentos eureka, así como con contratiempos comunes en el camino. Los momentos eureka nos mantienen motivados para continuar y superar todos los contratiempos; por lo general, abren un camino hacia adelante donde el recurso de personal adicional es beneficioso para explotarlo. Buscamos validar aún más nuestra llave para la inhibición de ACVR1 para darnos confianza de que esto califica como un momento eureka. En este próximo punto eureka potencial, el equipo necesitaría recursos químicos adicionales. Bajo este evento, el tiempo para un tratamiento probablemente sería

más o menos proporcional al número de empleados, aunque sigue siendo un viaje largo y difícil. Es probable que se necesite un recurso de química en un laboratorio separado del nuestro, ya que es un conjunto de habilidades que nos falta. Sin embargo, tenemos una serie de socios de colaboración química cuando es necesario.

¿Hay subvenciones disponibles que podamos solicitar para ayudar a financiar a un nuevo miembro del personal?

El gobierno u otros financiadores generalmente requerían que las subvenciones fueran redactadas por los científicos. No tengo conocimiento de subvenciones abiertas a familias o pequeñas organizaciones benéficas, como FOP Friends, que financiarían directamente puestos de personal en laboratorios de investigación. Puede haber pequeños fondos disponibles para apoyar actividades de caridad en la comunidad, como lo ejemplifica la Lotería Nacional. Esperamos que la petición al parlamento para la financiación de FOP pueda ser útil para todas las futuras subvenciones de FOP.

STOPFOP



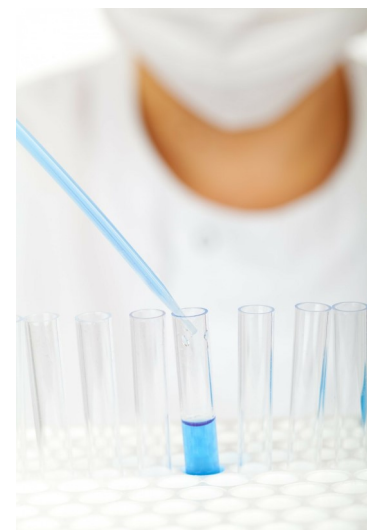
para la prueba de StopFOP?

El ensayo STOPFOP ha estado activo durante todo el período de la pandemia y está abiertamente operando en toda Europa. Ha habido retrasos inevitables a medida que los hospitales y las agencias reguladoras experimentaron cierres intermitentes de todas las actividades fuera del trabajo de Covid-19. Los sitios que están actualmente abiertos en Amsterdam y Garmisch, Alemania. Esperamos que Dr. Arnd Keen pueda abrir el sitio de Londres este verano. En general, esperamos que el trabajo de prueba se desarrolle durante los próximos dos años y medio.

sobre los efectos secundarios del medicamento StopFOP?

Saracatinib se ha utilizado en múltiples ensayos clínicos proporcionando un excelente conocimiento de la dosis tolerada. Estamos usando una dosis relativamente baja del medicamento del estudio "saracatinib" como tratamiento preventivo para la FOP con el objetivo de minimizar los efectos secundarios tanto como sea posible. Con esta dosis baja, esperamos que el principal efecto secundario sea ocasionalmente leve.

irritación gastrointestinal (es decir, dolor de estómago o heces sueltas). Parte del objetivo del estudio es monitorear estos indicadores de seguridad para aprender cómo se puede manejar la FOP de manera segura en el futuro. En dosis altas del fármaco (por ejemplo, el doble), el medicamento puede reducir el recuento sanguíneo de una persona. Por lo tanto, es importante que los pacientes sigan la dosificación prescrita y este consejo general se aplica a cualquier condición y cualquier medicamento (muy poco fármaco podría ser ineficaz, mientras que demasiado fármaco puede ser perjudicial).



¿Prevé (basado en el modo de acción) potencial para tratamientos combinados en el futuro con otros tratamientos en desarrollo?



Sería fantástico ver más de un medicamento aprobado como seguro y eficaz para su uso en FOP. En este caso, se podrían usar dos medicamentos en combinación (tomando ambos juntos), o secuencialmente, por ejemplo, podría pasar 3 meses tomando un medicamento y luego pasar 3 meses tomando un medicamento diferente (y luego volver a cambiar y repetir el ciclo). Un enfoque combinado aumentaría el riesgo de efectos secundarios, ya que experimentaría los efectos secundarios diferentes.

efectos de dos drogas diferentes juntas. Por lo tanto, este enfoque, si es posible en el futuro, no necesariamente se convertirá en el estándar de atención a largo plazo, pero podría usarse potencialmente por períodos cortos, por ejemplo, alrededor de una cirugía dental. El enfoque secuencial tiene la ventaja de que cualquier conjunto específico de efectos secundarios de un medicamento sería temporal, lo que permitiría que el cuerpo se recupere. Como analogía, sería similar a tomar períodos más cortos de una dieta alta en proteínas o alta en carbohidratos y cambiar entre ellos en lugar de ceñirse a uno solo.

Vivir con FOP

¿Tiene opiniones sobre la vacuna Covid y el nuevo medicamento oral antiviral que se administra a personas vulnerables (pacientes con cáncer)? ¿Se puede usar solo una vez que un paciente ha dado positivo, o ofrece alguna protección como lo haría una vacuna oral?



Es probable que sus médicos especialistas en FOP sean los más indicados para asesorar sobre el estado de las vacunas y los nuevos métodos de administración (p. ej., aerosol nasal) que pueden ayudar a que sean más seguras para alguien con FOP. Los medicamentos antivirales (por ejemplo, de la clase de inhibidores de la proteasa) serían muy recomendables para cualquier persona en un grupo vulnerable, como la comunidad FOP, pero estos solo deben tomarse después de un diagnóstico con Covid-19 (y tan pronto como sea posible).

¿Es común que la médula ósea se vea afectada después de un brote?

Esto está fuera de nuestra experiencia específica. Se sabe que un trasplante de médula ósea no puede curar la FOP. La inmunosupresión asociada con esto puede amortiguar temporalmente la actividad de los brotes de FOP solamente.

¿Hay alguna indicación o investigación sobre la dieta? ¿Alguna dieta tiene un mejor efecto en alguien con FOP, por ejemplo, menos proteína?

Probablemente todo el mundo esté al tanto de historias ocasionales en los medios que pronuncian los beneficios de los antioxidantes u otros químicos en ciertos alimentos. En su mayor parte, estos están presentes en niveles bajos que no serían equivalentes a ningún tipo de medicamento. Suponemos que una dieta equilibrada es lo mejor. En otras palabras, el consejo para alguien con FOP es el mismo que para cualquier otro miembro de su familia.

Del mismo modo, la investigación realizada por el Dr. Paul Yu en Harvard sugiere que el ejercicio manejable también es beneficioso.



Una invitación...

W

día para conocer al equipo, ver el laboratorio, etc.?



Todos son bienvenidos a visitar el laboratorio y, de hecho, varias familias lo han hecho en el pasado. Debido a la pandemia, es probable que sea más fácil organizar visitas para familias individuales en lugar de un día de puertas abiertas masivo. Por supuesto, podemos ver cómo esto cambia con el tiempo.

Las consultas se pueden realizar a alex.bullock@cmd.ox.ac.uk

La Dra. Ellie Williams también llevará su sala de escape basada en la ciencia a la Conferencia y reunión familiar de FOP Friends UK en el Radisson Blu Airport Hotel, Manchester el sábado 21 de mayo.

La sala de escape está diseñada para brindar la experiencia de nuestro laboratorio con una variedad de escenas fotorrealistas.



Equipo de investigación de FOP de la Universidad de Oxford

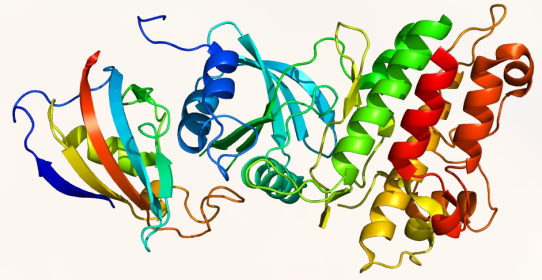
Actualización de investigación de FOP de la Dra. Ellie Williams

Primavera 2022



Introducción

FOP es causada por un pequeño cambio en una sola proteína en su cuerpo. Esta proteína se conoce como ACVR1 (o, a veces, ALK2). Normalmente, esta proteína participa en la formación de hueso en los lugares correctos en los momentos correctos y en respuesta a las señales correctas del resto del cuerpo. La mutación FOP hace que ACVR1 responda a las señales equivocadas en los momentos equivocados, provocando la formación de hueso en los lugares equivocados.



La forma en que funciona ACVR1 es agregando lo que llamamos un fosfato enciéndelo. SMAD1 luego activa otros procesos que finalmente conducen a la formación de hueso. Esto es como agregar un sello a una carta que permitiría enviarla con ACVR1 actuando como la máquina de estampar. En FOP, este mecanismo de estampado se activa no solo por las señales habituales que se utilizan para generar hueso, sino también por otras señales que suelen estar involucradas en la división celular y no en la formación de hueso. Esta diafonía es un importante contribuyente a la FOP.



Uno de los principales enfoques de nuestro trabajo ha sido tratar de encontrar algo que pueda usarse como un "inhibidor" de ACVR1, algo que se una al sitio de unión principal de ACVR1 y evite que estampa su señal de activación en SMAD1 y, con suerte, se detenga. la señal errónea de 'hacer hueso' se transmita antes de que pueda llegar al punto de realmente hacer hueso.

Una complicación de tratar de encontrar un inhibidor que se una al sitio principal de ACVR1 es encontrar algo que detenga o inhiba el funcionamiento de ACVR1 pero que no afecte a ninguna de las proteínas muy similares que existen en su cuerpo. Estas otras proteínas son responsables de cosas como la formación de músculos y el crecimiento celular normal, por lo que es muy importante ser selectivo.

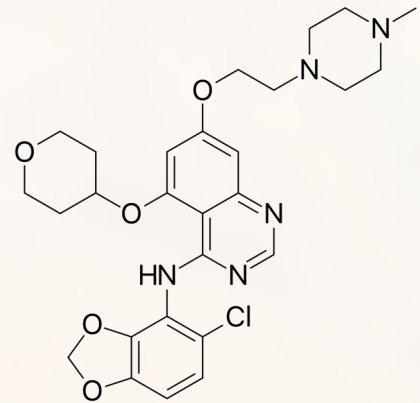
Hemos estado analizando y probando cientos de inhibidores para tratar de encontrar aquellos que podrían convertirse en medicamentos seguros. Muy a menudo, los inhibidores que analizamos en el laboratorio parecen ser muy efectivos para detener ACVR1 de forma selectiva, pero pueden tener efectos secundarios cuando los toma una persona. Necesitan modificaciones para que sean lo suficientemente seguros para que un paciente los tome como medicamento.



Este puede ser un paso muy difícil y, a veces, incluso imposible, por lo que encontrar varias opciones que puedan desarrollarse y hacerse seguras nos da la mejor oportunidad de éxito para los pacientes con FOP.

Saracatinib:

Sin embargo, hemos tomado otro enfoque para buscar un inhibidor que pueda funcionar contra la FOP. Muchos inhibidores son desarrollados por compañías y pasan por una serie de etapas de pruebas para asegurarse de que sean seguros y efectivos. Un ensayo de fase 1 es donde un medicamento potencial se prueba en voluntarios sanos para ver si es seguro antes de llevarlo a un ensayo de fase 2 en un pequeño grupo de pacientes para ver si realmente funciona. Algunos medicamentos pasan la fase 1 (son seguros) pero fallan en la fase 2, lo que podría significar que la hipótesis terapéutica a menudo era incorrecta debido a la falta de comprensión de la enfermedad.



Parte de nuestro trabajo analizó la selección de una biblioteca de estos "medicamentos clínicos" que demostraron ser seguros pero que no funcionaron para su indicación original. Como parte de esto, identificamos un inhibidor llamado 'saracatinib' que mostró muy buenos datos de seguridad pero no ayudó en el cáncer al que se dirigía originalmente.

Saracatinib se diseñó originalmente para inhibir dos proteínas llamadas Src y Abl, que pertenecen a la misma familia de proteínas que ACVR1. También como inhibidor de Src y Abl, saracatinib también se unió a ACVR1 y justificó una mayor investigación. Observamos exactamente qué tan bien se unía y qué sucedió cuando agregó Saracatinib a las células que usamos para modelar FOP en el laboratorio. Todo esto parecía muy prometedor para detener la señalización aberrante observada en la FOP en una escala de una sola célula, por lo que trabajamos con un colaborador para probar el saracatinib en ratones utilizados para modelar la FOP. Esto también brindó resultados prometedores para detener la formación de hueso que se produce en circunstancias en las que, de otro modo, se vería crecimiento óseo con FOP.

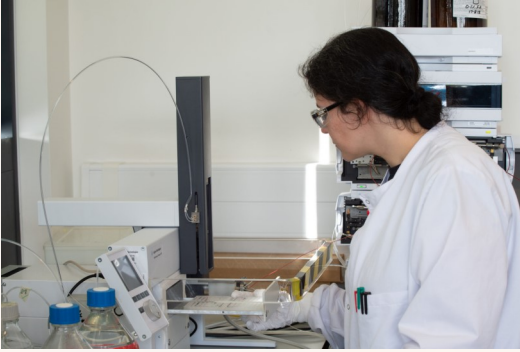
Crucialmente, esto significa que este es un inhibidor que parece detener la formación de hueso FOP en nuestros experimentos que ya ha demostrado ser seguro cuando lo toman las personas. Esto significa que saracatinib podría pasar directamente a los ensayos de fase 2 en pacientes con FOP para ver si realmente funciona en el tratamiento de la afección.



todo esto, el ensayo STOPFOP comenzó a principios de 2020, buscando probar si atinib era capaz de tratar la FOP en pacientes.

Se espera que dure 3 años; sin embargo, debido a la pandemia ha habido retrasos o no se espera que los resultados del ensayo se publiquen hasta dentro de algunos años más.

Un segundo sitio de unión:

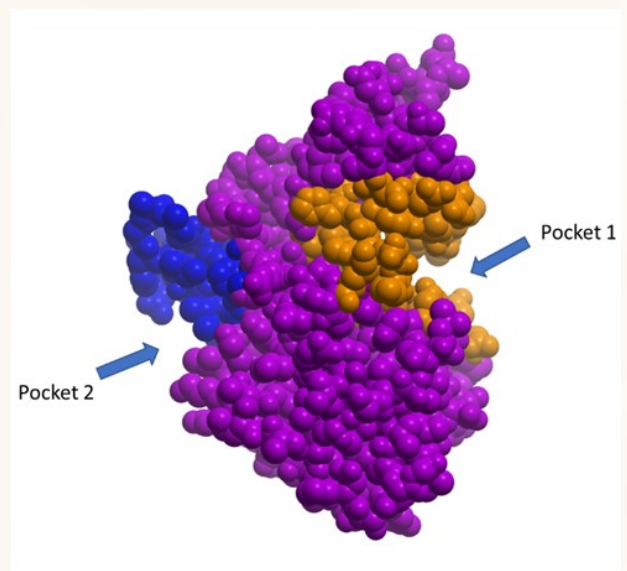


Mientras tanto, en el laboratorio hemos estado planeando nuestros próximos pasos para ver si podemos hacer algo aún mejor. La tasa de fracaso en la elaboración de un nuevo medicamento supera el 90%. Por lo tanto, hemos estado buscando alternativas y nuevos enfoques para tratar la FOP.

Una opción que hemos estado explorando recientemente es ver si podemos encontrar un segundo sitio de unión en algún otro lugar de la proteína que nos permita encontrar un inhibidor que se una mejor a ACVR1 que

a las otras proteínas. La idea es encontrar un segundo sitio único para ACVR1, con otras proteínas que carezcan completamente de este segundo bolsillo o donde el segundo bolsillo tenga una forma tan radicalmente diferente que cualquier inhibidor que encontremos para ACVR1 no encaje dentro de ninguna otra proteína. Este segundo sitio forma nuestro sitio de encuadernación con llave. Las moléculas que se unen aquí evitarían que la proteína ACVR1 se encienda.

Un desafío es que el segundo bolsillo no está bien estudiado en absoluto, ya que no es la parte clave del mecanismo de estampado, por lo que encontrar un punto de partida básico es uno de los grandes problemas a abordar. Una forma en que hemos estado analizando esto es a través de un método llamado "detección de fragmentos". En lugar de tomar moléculas grandes y ver cuáles se ajustan más exactamente o cuáles no, tomamos moléculas muy pequeñas y vemos si se unen a alguna parte del segundo sitio. Por sí solos no se unirán tan fuerte o específicamente, pero estos pequeños fragmentos nos dan un punto de partida para construir algo más grande y mejor. Este enfoque de pieza de rompecabezas significa que no necesitamos buscar a través de miles de compuestos grandes en busca de algo que quepa en todos los rincones y pliegues del segundo bolsillo, sino que podemos buscar en un espacio mucho más pequeño.



La Figura muestra un modelo estructural 3D del dominio quinasa ACVR1. Cada pequeña esfera representa un átomo en la molécula de proteína.

número de bloques de construcción que encajarán dentro de estos espacios mucho más fácilmente. Luego podemos considerar unirlos o construir a partir de ellos para hacer una molécula más compleja y útil que podría funcionar para desactivar ACVR1 y no cualquier otra proteína.

Después de probar más de cien fragmentos, encontramos varios que se unen en varios lugares a lo largo de la proteína y, de ellos, uno se une en el segundo bolsillo. Esto nos da un punto de partida para construir y tratar de convertir este fragmento en un inhibidor fuerte.

Con dos enfoques para desarrollar nuevos inhibidores contra ACVR1, podemos aprender más sobre cómo la mutación causa FOP y comprender mejor cómo podemos usar eso para probar y desarrollar nuevos medicamentos.