

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc437467>

Современные подходы к терапии спинальной мышечной атрофии

Е.М. Роденков^{1, 2}, Н.В. Кожемякина^{1, 2}, Ю.А. Зонис², П.М. Гершович^{1, 3}, Б.Ю. Лалаев¹¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация;² Отдел биологических исследований BIOCAD, Санкт-Петербург, Российская Федерация;³ Департамент разработки генотерапевтических препаратов BIOCAD, Санкт-Петербург, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, обусловленное наличием мутаций в гене *SMN1*, которые приводят к снижению уровня белка SMN. Снижение функциональной активности упомянутого белка способствует дегенерации моторных нейронов. Понимание молекулярно-генетической причины спинальной мышечной атрофии позволило разработать и начать применять в клинической практике препараты Нусинерсен, Онасемноген абепарвоек и Рисдиплам для терапии данного заболевания. Основные подходы к терапии СМА заключаются либо в модификации сплайсинга гена *SMN2*, который из-за точечной мутации в экзоне 7 не способен производить полноразмерный белок SMN, либо в вирусной доставке функциональной копии гена *SMN1*.

Одобрённые препараты отличаются особенностями применения, которые обусловлены, в частности, способом введения, побочными реакциями и ограничениями для использования, в том числе связанными с социально-экономическим бременем пациентов со СМА.

Разработка и применение отечественных продуктов для лечения СМА с сопоставимым клиническим эффектом и более низкой ценой позволило бы снизить затраты на лекарственную терапию тяжёлых форм заболевания.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия; СМА; *SMN1*; *SMN2*; Нусинерсен; Рисдиплам; Онасемноген абепарвоек.

Как цитировать:

Роденков Е.М., Кожемякина Н.В., Зонис Ю.А., Гершович П.М., Лалаев Б.Ю. Современные подходы к терапии спинальной мышечной атрофии // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 3. С. 189–204. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc437467>

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc437467>

Modern approaches to the treatment of spinal muscular atrophy

Evgeny M. Rodenkov^{1,2}, Natalya V. Kozhemyakina^{1,2}, Yulia A. Zonis², Pavel M. Gershovich^{1,3}, Boris Y. Lalaev¹

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russian Federation;

² Bioassay Division "BIOCAD", Saint Petersburg, Russian Federation;

³ Gene Therapy Development Department "BIOCAD", Saint Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Spinal muscular atrophy (SMA) is an autosomal recessive neurodegenerative disease. The cause of the disease is the presence of mutations in the *SMN1* gene, which leads to a decrease in the expression of the SMN protein. Decreased functional activity of the SMN protein contributes to the degeneration of motor neurons. Understanding the molecular genetic cause of spinal muscular atrophy made it possible to develop and start using Nusinersen, Onasemnogene Abeparovect and Risdiplam drugs in clinical practice for the treatment of this disease. The main approaches to the treatment of SMA are either modifying the splicing of the *SMN2* gene, which, due to a point mutation in exon 7, is unable to express the full-length SMN protein, or viral delivery of a functional copy of the *SMN1* gene.

Approved drugs differ in peculiarities of use, which are associated, in particular, with the route of administration, adverse reactions and restrictions of use, including restrictions associated with the socio-economic burden of patients with SMA.

The development and use of domestic products for the treatment of SMA with a comparable clinical effect and at a lower price would reduce the cost of drug therapy for severe forms of the disease.

Keywords: spinal muscular atrophy; SMA; *SMN1*; *SMN2*; Nusinersen; Risdiplam; Onasemnogene Abeparovect.

To cite this article:

Rodenkov EM, Kozhemyakina NV, Zonis YA, Gershovich PM, Lalaev BY. Modern approaches to the treatment of spinal muscular atrophy. *Genes & cells*. 2023;18(3):189–204. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc437467>

Received: 21.05.2023

Accepted: 29.07.2023

Published: 13.08.2023

ВВЕДЕНИЕ

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — это моногенное наследственное нейродегенеративное заболевание, которое является наиболее распространённой причиной детской смертности, связанной с наследственными заболеваниями. СМА возникает в результате недостатка функционального белка SMN (survival of motor neuron), вызванного мутациями в гене *SMN1*. Ген *SMN1* локализуется на 5-й хромосоме в локусе 5q13. Он состоит из 20 т.п.н. и включает 8 экзонов, однако экзон 2 разделяют на 2а и 2b [1, 2]. Существует гомологичный ген *SMN2*, отличающийся от гена *SMN1* точечной заменой цитозина на тимин в экзоне 7. Такая замена приводит к вырезанию экзона 7 во время сплайсинга мРНК гена *SMN2*, в результате чего происходит наработка белка SMNΔ7 [3, 4]. Различия в одном нуклеotide в гене *SMN2* по сравнению с геном *SMN1* усиливают сайты связывания для гетерогенной ядерной рибонуклеопротеиновой частицы A1 или A2 (heterogeneous ribonucleoprotein particle A1/A2, hnRNP A1 или hnRNP A2) в экзоне 7 и в нижележащем интронном сайленсере сплайсинга N1 (intronic splicing silencer N1, ISS N1) в пре-мРНК *SMN2* [5, 6]. Связывание hnRNP A1 (или hnRNP A2) ингибирует сайт сплайсинга с 5'-конца (5'-splice site, 5'-SS) для связывания U1 snRNP (U1 small nuclear ribonucleoprotein) в пре-мРНК *SMN2*, который находится вблизи последовательности ISS N1. В результате комплекс сплайсинга не распознаёт экзон 7, что приводит к его вырезанию из транскрипта пре-мРНК (рис. 1) [1, 5, 6].

Белок SMNΔ7 в отличие от полноразмерного белка SMN быстро разрушается. Предполагается, что пропуск экзона 7 приводит к более раннему распознаванию мотива из четырёх аминокислот Glu-Met-Leu-Ala (EMLA), кодируемого экзоном 8, что служит сигналом деградации [7].

Количество копий гена *SMN2* определяет тяжесть заболевания СМА, поскольку данный ген способен производить только около 10–15% (относительно *SMN1*) функционально активного белка SMN. Принято выделять 4 типа СМА. Клинические симптомы СМА 1-го типа (болезнь Верднига–Гоффмана) проявляются до 6 мес и характеризуются параличом мышц конечностей, а также мышц туловища, вовлечённых в дыхательную работу. Дети с СМА 1-го типа не могут самостоятельно сидеть, держать голову. Эти пациенты обычно имеют 2–3 копии гена *SMN2* и погибают в первые 2–3 года жизни. Иногда выделяют СМА 0-го типа (или типа 1а) с проявлением клинических симптомов в пренатальный период. Такие пациенты имеют одну копию гена *SMN2* и живут не более нескольких месяцев после рождения [3, 4, 8].

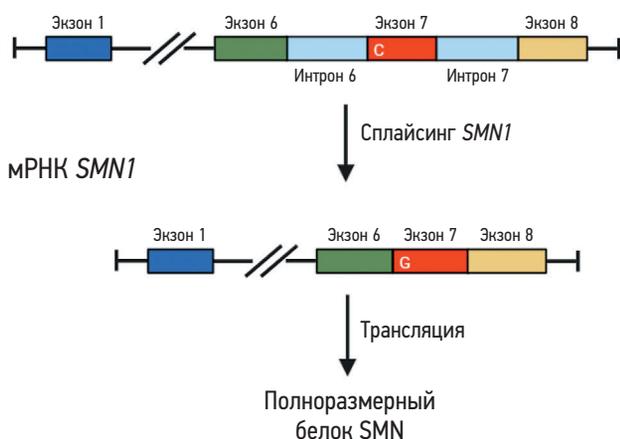
При СМА 2-го типа (промежуточная форма, или болезнь Дубовица) симптомы проявляются в период от 6 до 18 мес. Такие пациенты имеют 3 копии гена *SMN2*. Больные могут самостоятельно сидеть, но никогда не достигают способности самостоятельно ходить. Вероятность летального исхода зависит от степени вовлечённости в патологический процесс дыхательной мускулатуры [3, 8].

Симптомы СМА 3-го типа (болезнь Кугельберга–Веландера) проявляются после 18 мес. Пациенты имеют 3–4 копии гена *SMN2*, как правило, могут самостоятельно стоять и ходить, имеют нормальную продолжительность жизни [3, 8].

Спинальная мышечная атрофия 4-го типа — медленно прогрессирующее заболевание. Симптомы проявляются на втором или третьем десятке лет жизни и не влияют на её продолжительность. Больные имеют 4 копии гена *SMN2*, могут самостоятельно ходить, в некоторых случаях они испытывают лишь незначительную мышечную слабость [3, 8].

Следует отметить, что SMN — многофункциональный белок, выполняющий различные функции в клетке, и ген

Ген *SMN1*



Ген *SMN2*

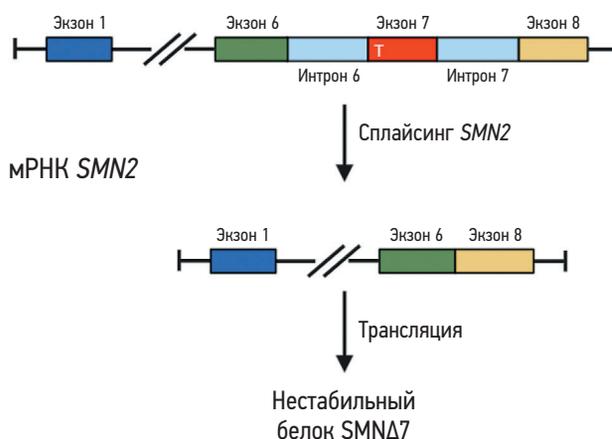


Рис. 1. Структура генов *SMN1* и *SMN2*.
Fig. 1. *SMN1* and *SMN2* genes structure.

SMN2 не способен полностью компенсировать утрату гена *SMN1*.

Цель данного обзора — систематизация и представление современных данных о причинах развития спинальной мышечной атрофии, о механизме действия инновационных препаратов для её лечения, а также обобщение результатов клинического применения этих препаратов.

ФУНКЦИИ БЕЛКА SMN

Уровень SMN особенно критичен для выживаемости моторных нейронов [9]. Белок SMN локализуется в ядре, цитоплазме, аксонах и нервно-мышечном соединении, где выполняет множество ключевых функций: участвует в процессинге РНК, регулирует динамику цитоскелета, участвует в репарации повреждённой ДНК. Первая идентифицированная и наиболее изученная его функция — участие в сборке snRNP-комплексов [10].

Сборка snRNP-комплексов

В сплайсинге пре-мРНК принимают участие малые ядерные РНК (small nuclear RNA, snRNA), которые в комплексе с белками образуют малые ядерные рибонуклеопротеиновые комплексы (snRNP). Сборка snRNP-комплексов — одна из важнейших функций белка SMN [11, 12].

Все snRNP имеют общий состав: семь белков Sm (smith proteins) — D1, D2, F, E, G, D3, B, образующих кольцо (ядро) вокруг snRNA. Сборка snRNP-комплексов — многоступенчатый процесс, в котором на данный момент принято выделять ранний и поздний этапы [13, 14].

На раннем этапе сборки (рис. 2) проходит подготовка Sm-белков к началу сборки snRNP-ядра при помощи комплекса протеин-аргинин-метилтрансферазы 5

(protein arginine methyltransferase 5, PRMT5), состоящего из PRMT, WD45 (белок, необходимый для образования комплекса PRMT5) и pICln (белок, связывающий Sm-белки с комплексом PRMT5) [15]. Сперва комплекс pICln с Sm D1/D2 связывается с PRMT5, после чего метилируется белок Sm D1 и присоединяется Sm F/E/G с образованием гексамерного комплекса pICln/D1(met)/D2/F/E/G (комплекс 6S). Комплекс 6S вытесняется молекулами pICln, pICln/D1/D2 или pICln/D3/B.

Параллельно с образованием комплекса 6S белки Sm D3/B захватываются pICln и связываются с PRMT5 для последующего метилирования Sm D3 и Sm B. Связь Sm-белков с pICln препятствует связыванию с любыми РНК. Высвобождение Sm D3(met)/B(met) с pICln, по-видимому, происходит подобно вытеснению гексамерного комплекса 6S [13, 15].

На позднем этапе (рис. 3) основная роль отводится комплексу SMN, состоящему из белка SMN, Gemin2-8 и unrip-белков [14]. Вспомогательный комплекс SMN определяет специфичность сборки snRNP на целевых snRNA. Белки Sm не способны участвовать в специфической сборке snRNP-комплексов, так как могут связываться с рибосомными РНК (5S и 5,8S) и транспортными РНК [13, 16, 17]. Для образования гептамерного кольца Sm достаточно коротких олигонуклеотидов со специфичным сайтом связывания PuAUUUNUGPu [14].

При взаимодействии S6 с SMN-комплексом С-концевой домен белка Gemin2 связывает Sm D1(met)/D2, а N-концевой домен связывает Sm F/E/G [14, 18]. Такое связывание обеспечивает стягивание кольца Sm между белками D1 и G и способствует высвобождению pICln. N-концевой домен Gemin2 может блокировать сайт связывания Sm-белков (A126 — Sm E; U127 — Sm G; U128 — Sm D3; U129 — Sm B; G130 — Sm D1; U131 — Sm D2; G132 — Sm F), что предотвращает завершение

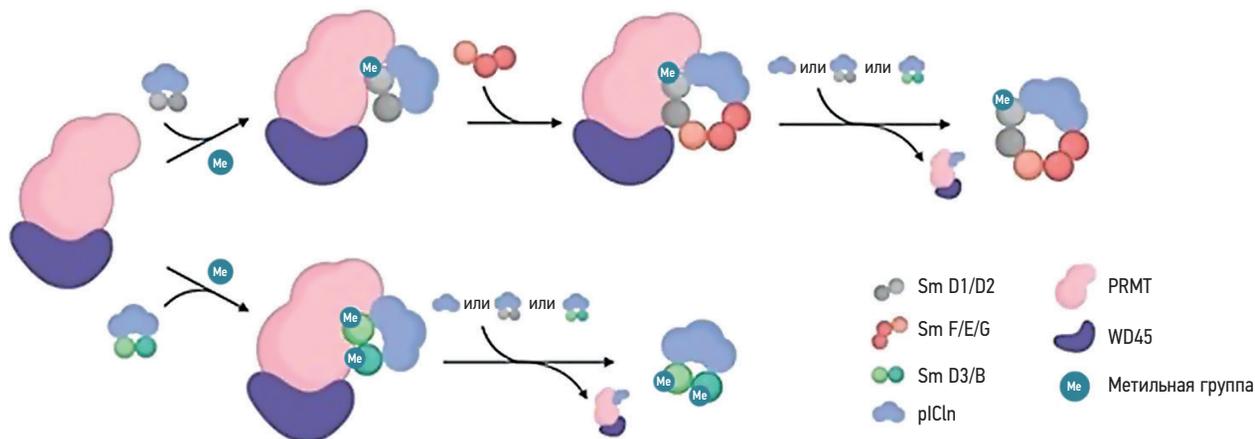


Рис. 2. Ранний этап сборки snRNP-комплекса. Sm — smith proteins (D1, D2, F, E, G, D3, B), pICln — chloride ion current inducer protein, PRMT — protein arginine methyltransferase, WD45 — protein with trp-asp (W-D) repeat, Me — methyl group.

Fig. 2. Early stage of snRNP complex assembly. Sm — smith proteins (D1, D2, F, E, G, D3, B), pICln — chloride ion current inducer protein, PRMT — protein arginine methyltransferase, WD45 — protein with trp-asp (W-D) repeat, Me — methyl group.

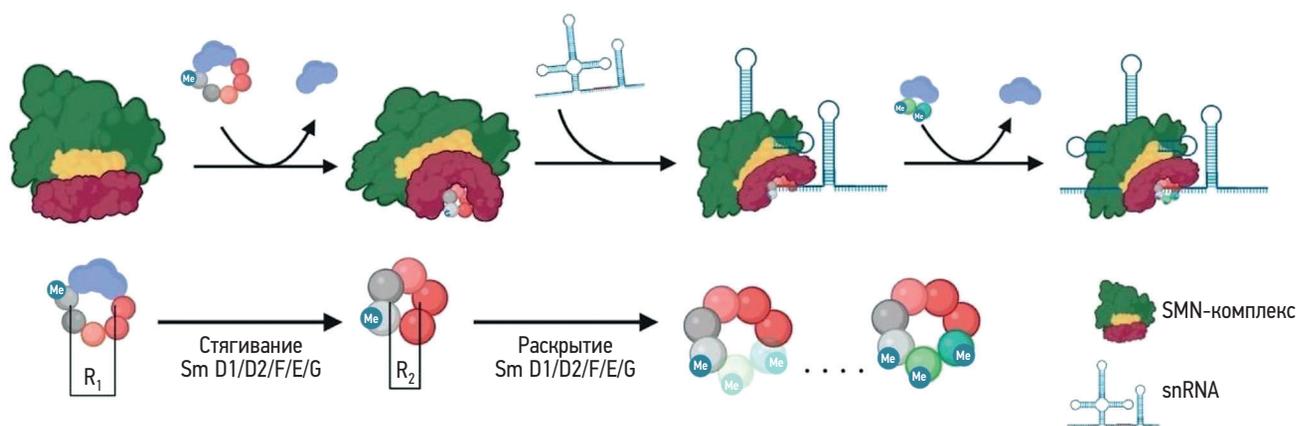


Рис. 3. Поздний этап сборки snRNP-комплекса. Sm — smith proteins, SMN — survival motor neuron protein, snRNA — small nuclear RNA.

Fig. 3. Late stage of snRNP-complex assembly. Sm — smith proteins, SMN — survival motor neuron protein, snRNA — small nuclear RNA.

сборки гептамерного кольца Sm-белков на неспецифических РНК [19]. Взаимодействие со специфичной snRNA идёт по принципу отрицательной обратной связи, т.е. уменьшение стягивания пентамера Sm позволяет раскрыть D1(met)/D2/F/E/G для присоединения Sm D3(met)/B(met) [14]. Присоединение происходит через взаимодействие RG-хвостов Sm D3(met)/B(met) с Tudor-доменом SMN-белка [18].

По завершении сборки SMN-комплекс может диссоциировать, если далее snRNP не транслоцируется в ядро [14]. При недостатке белка SMN происходит снижение общего количества snRNP-комплексов.

Транслокация snRNP к тельцам Кахаля

Белок SMN участвует в локальном транспорте транскриптов РНК, в том числе транспорте snRNP-комплексов к ядру [20]. Собранные snRNP-комплексы направляются в ядро к тельцам Кахаля (Cajal bodies, CBs), где завершается биогенез snRNP. Тельца Кахаля состоят из белков коилина, SMN, а также малых ядрышковых рибонуклеопротеинов, специфичных для CBs (Cajal body-specific RNP, scaRNPs), которые участвуют в 2'-O-метиловании и псевдоуридилации snRNA [21–23].

Завершение процессинга регулируется взаимодействием белка коилина с SMN- и Sm-белками посредством RG-участка С-концевого домена и через С-концевой домен соответственно. Специфичность такого взаимодействия зависит от степени фосфорилирования С-концевого домена коилина. Гиперфосфорилированный коилин предпочтительно связывает белки Sm, а взаимодействие коилин–SMN усиливается за счёт дефосфорилирования коилина. Взаимодействие гиперфосфорилированного коилина позволяет привести к диссоциации комплекса SMN, что необходимо для завершения биогенеза РНК [24].

Регуляция SMN-зависимых процессов

Наличие нескольких функциональных доменов, например богатого лизином домена, Tudor-домена, богатого пролином домена позволяет SMN взаимодействовать с различными белками, в том числе участвующими в важнейших клеточных процессах [10].

Снижение продукции SMN приводит к снижению уровня SETX (senataxin) и нарушению локализации SETX с SMN в субъядерных тельцах. В результате происходит увеличение R-петель, что приводит к накоплению двуцепочечных разрывов (double-strand breaks, DSB) [25, 26]. В неделящихся клетках, например моторных нейронах, восстановление DSB идёт преимущественно по направлению негомологичного соединения концов (non-homologous end-joining, NHEJ) повреждённых цепей [25]. В репарации DBS по пути NHEJ участвует белок DNA-ПКс, уровень которого снижается при нарушении продукции SMN. Невозможность использовать NHEJ-пути репарации DBS в неделящихся клетках приводит к значительному накоплению DSB и является одной из основных причин гибели клеток при СМА [25].

Дефицит белка SMN приводит к нарушению регуляции экспрессии и локализации микро-РНК семейства 183 (miRNA-183) в нейрональных клетках у пациентов со СМА. Предполагается, что в результате снижения содержания SMN происходит неправильный сплайсинг мРНК генов, важных для биогенеза miRNA-183 [27].

Накопление miRNA-183 нарушает активность пути mTOR, поскольку эта микро-РНК способна связываться с 3'-нетранслируемыми областями (3'-untranslated region, 3'UTR) транскрипта *mTOR*, что приводит к снижению экспрессии гена. Нарушение экспрессии *mTOR* в свою очередь приводит к снижению уровня фосфорилированной киназы белка S6 (p-S6K) и соответственно — уровня фосфорилированного белка S6 (p-S6). Снижение уровня p-S6 может приводить к нарушению

процессов трансляции, так как этот белок входит в состав рибосомы 40S [28]. По литературным данным, снижение продукции белка mTOR может приводить к нарушению развития аксонов. Такой эффект подтверждается тем, что нокадаун генов *mirNA-183* приводит к восстановлению уровня фосфорилирования белков пути mTOR, а также к улучшению двигательных функций у мышей со СМА [27, 28].

Регуляция полимеризации актина

Важнейший клеточный механизм, обеспечивающий регуляцию подвижности моторных нейронов, роста нейритов, стабильности синаптических связей — это полимеризация G-актина в F-актин. Взаимодействие с актином осуществляется посредством прямого фосфорилирования RhoA-ассоциированной киназой (Rho-associated protein kinase, ROCK) белков профилина2а (profilin2a), фосфатазы легкой цепи миозина (myosin light-chain phosphatase, myosin-LCPase), миозина-2 [29–31] или путём фосфорилирования Lim киназы (LIMK), фосфорилирующей белок кофилин (рис. 4) [29, 31, 32].

При нормальном уровне белка SMN обеспечивается необходимое соотношение фосфорилированных белков миозина 2 и кофилина, ответственных за количество филаментов и циркуляцию G-актина. В клетках нервной системы белок профилин2а связывает мономерный глобулярный G-актин, тем самым регулируя его полимеризацию в филаментный F-актин. Активность профилина2а контролирует белок SMN, поскольку он связывается с профилином2а через поли-L-пролиновую область

(poly-L-proline, PLP) и блокирует сайт фосфорилирования для ROCK (рис. 4, а) [29, 33, 34].

При снижении продукции SMN-белка (рис. 4, б) активируется актин-связывающий белок профилин2а путём его фосфорилирования ROCK [29, 31, 33]. Гиперфосфорилирование профилина2а и одновременно гипофосфорилированное состояние кофилина, myosin-LCPase, миозина-2 приводит к увеличению содержания связанного G-актина и к снижению количества актиновых филаментов, в результате чего нарушается регуляция подвижности и роста нейритов [30, 31]. Такое влияние SMN-белка было показано на клетках линии U87MG после нокадауна *SMN1* с помощью shRNA и клетках пациентов со СМА, которые демонстрировали сниженную подвижность [30].

Снижение уровня SMN особенно критично для выживания моторных нейронов, однако причины такой избирательности до сих пор плохо изучены. Следует отметить, что SMN — многофункциональный белок, он необходим для всех типов клеток и тканей (рис. 5). Например, SMN в комплексе с Gemin2 участвует в гомологичной репарации DSB (способ репарации, характерный для делящихся клеток) [35]. Снижение уровня SMN-белка приводит к нарушению регуляции миогенеза и нарушению биогенеза митохондрий в скелетных мышцах, особенно у пациентов со СМА 1-го типа [36]. Также SMN-белок может оказывать влияние на убиквитин-протеасомную систему, т.е. на путь деградации белков, что может приводить к нарушениям двигательной функции. Такой эффект был показан на мышечных моделях с тяжёлыми формами СМА [37, 38].

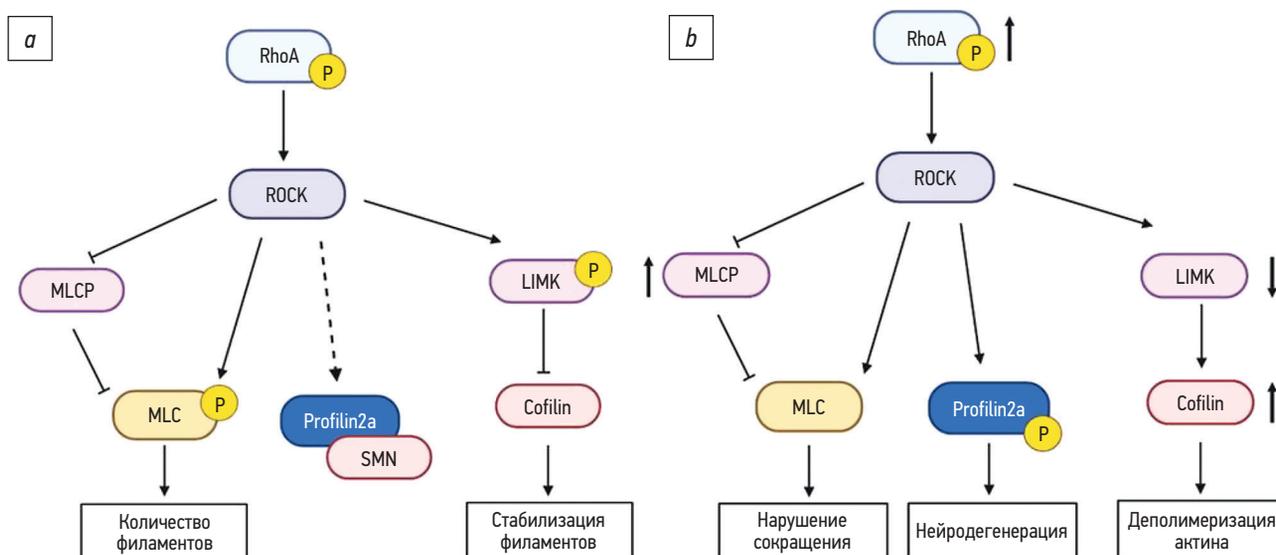


Рис. 4. Путь ROCK: *a* — при нормальной продукции белка SMN; *b* — при снижении уровня белка SMN. RhoA — Ras homolog family member A, ROCK — Rho-associated protein kinase, LIMK — Lim kinase, MLCP — myosin light chain phosphatase, MLC — myosin light chain, SMN — survival motor neuron protein.

Fig. 4. The ROCK: *a* — in normal production of the SMN protein; *b* — in SMN protein deficiency. RhoA — Ras homolog family member A, ROCK — Rho-associated protein kinase, LIMK — Lim kinase, MLCP — myosin light chain phosphatase, MLC — myosin light chain, SMN — survival motor neuron protein.

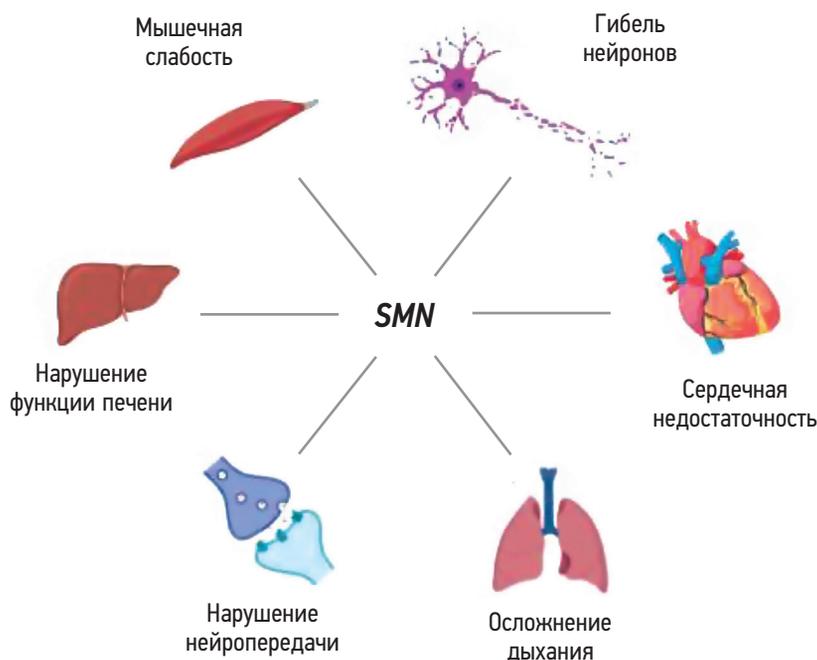


Рис. 5. Следствие снижения уровня SMN-белка.
Fig. 5. Consequence of a decrease of the level of SMN protein.

В ранних исследованиях СМА внимание в основном уделялось влиянию гибели моторных нейронов на процесс течения заболевания. Однако при более пристальном изучении функций SMN-белка можно сделать вывод, что потеря SMN — системное нарушение, которое приводит к дисфункции вегетативной нервной системы, печени, поджелудочной железы и кишечника, врождённым порокам сердца, а также к метаболическим нарушениям [39].

ТЕРАПИЯ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

Установление связи между СМА и белком SMN определило стратегию терапии данного заболевания. Современные терапевтические подходы направлены на увеличение продукции функционально активного белка SMN. На сегодняшний день Минздравом Российской Федерации, Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) одобрено три лекарственных препарата для лечения СМА: Нусинерсен (Spinraza) («Биоген Нидерландз Б.В.», Нидерланды); Онасемноген абепарвовек (Zolgensma) (Novartis International AG, Швейцария); Рисдиплам (Evrysdi) («Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария) [40].

Стратегия терапии СМА заключается в увеличении уровня функционально активного белка SMN путём

модификации сплайсинга гена *SMN2* (Нусинерсен, Рисдиплам) или с помощью вирусной доставки гена *SMN1* (Онасемноген абепарвовек).

Нусинерсен — первый одобренный препарат для лечения СМА, представляет собой модифицированный 2'-O-метоксиэтил (2'MOE) антисмысловый олигонуклеотид, который предназначен для интратекального введения (инъекции в спинномозговой канал). Препарат ингибирует ISS N1, что приводит к улучшению связывания U1 snRNP и энхансерных факторов сплайсинга и, как следствие, к распознаванию экзона 7 и включению его в транскрипт (рис. 6) [3].

Онасемноген абепарвовек — второй одобренный препарат для лечения СМА. Механизм его действия основан на доставке функционального гена *SMN1* рекомбинантным вектором на основе аденоассоциированного вируса 9-го серотипа. Трансген доставляется в клетки-мишени в виде самокомплементарной молекулы ДНК. Экспрессия трансгена управляется конститутивным гибридным промотором β-актина цыплёнка с цитомегаловирусным энхансером, что приводит к непрерывной и устойчивой выработке полноразмерного и функционально активного белка SMN [31].

Рисдиплам — третий одобренный препарат для лечения СМА. Он является производным пиридазина, стабилизирующим неспаренный аденин в соединении 5'-SS сайта связывания с U1 snRNP. Положительно заряженная пиперазиновая часть Рисдиплама связывается с рибозо-фосфатным остовом U1 snRNP, а пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он вставляется между C8 и C9, образуя

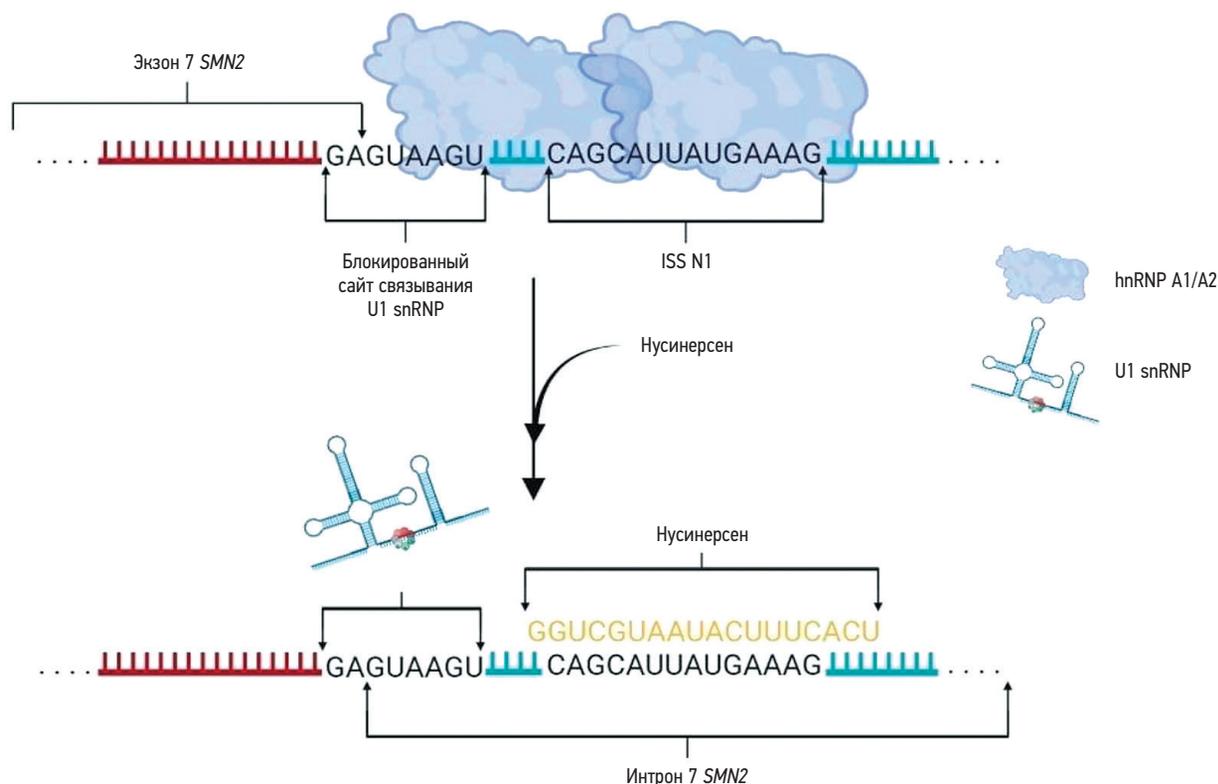


Рис. 6. Механизм действия Нусинерсена. SMN2 — survival of motor neuron 2 gene, ISS N1 — intronic splicing silencer N1, U1 snRNP — U1 small nuclear ribonucleoprotein, hnRNP A1/A2 — heterogeneous ribonucleoprotein particle.

Fig. 6. Nusinersen mechanism of action SMN2 — survival of motor neuron 2 gene, ISS N1 — intronic splicing silencer N1, U1 snRNP — U1 small nuclear ribonucleoprotein, hnRNP A1/A2 — heterogeneous ribonucleoprotein particle.

прямую водородную связь с аденином 5'-SS сайта экзона 7 SMN2, что способствует включению данного экзона в транскрипт SMN2 (рис. 7) [41].

Следует отметить, что помимо усиления 5'-SS экзона 7 гена SMN2, Рисдиплам активно взаимодействует с энхансером экзонного сплайсинга (exonic splicing enhancer, ESE), с которым связаны два активатора сплайсинга — Tra2-β и hnRNP G, способствующие включению экзона 7 [42]. В присутствии Рисдиплама связывание Tra2-β с ESE не изменяется, в то время как hnRNP G — частично вытесняется. Предполагается, что молекула Рисдиплама реорганизует позиционирование hnRNP G на экзоне 7, что может привести к рекрутированию других сплайсинговых энхансеров [43].

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

Нусинерсен

В открытом исследовании безопасности и переносимости Нусинерсена (NCT01494701, NCT01780246) участвовали 28 пациентов в возрасте от 2 до 14 лет со СМА

2-го или 3-го типа. Однократное интратекальное введение Нусинерсена было переносимым, частота нежелательных явлений, связанных с люмбальной пункцией, у детей, больных СМА, была аналогична ранее проводившимся исследованиям и в основном ограничивалась головной болью, болью в спине [44]. Уже в более длительных исследованиях фазы 1/2 (NCT01703988, NCT02052791), в которых пациенты получали несколько доз препарата (до 12 мг) на 1-, 29-, 85-й дни (в исследовании NCT01703988) и на 1-, 169-, 351- и 533-й дни — в расширенном исследовании NCT02052791, было показано, что лечение в течение трёх лет приводит к улучшению двигательных функций [45]. Результаты открытого исследования 2-й фазы (NCT01839656), в котором вводили Нусинерсен 20 младенцам со СМА 1-го типа в возрасте от 3 нед до 6 мес с 2/3 копиями SMN2, показали приемлемую безопасность и переносимость, соответствующую предполагаемому механизму действия, и обнадеживающую клиническую эффективность: 15 из 20 детей были живы, у 13 участников неврологическое состояние по шкале HINE-2 (Hammersmith Infant Neurological Examination) постоянно улучшалось: с исходного среднего значения 1,46 до 11,86 на 1135-й день (максимальный балл, который ребёнок может получить по HINE-2, составляет 26) [46, 47].

На основе исследований 1-й и 2-й фазы были проведены рандомизированные контролируемые

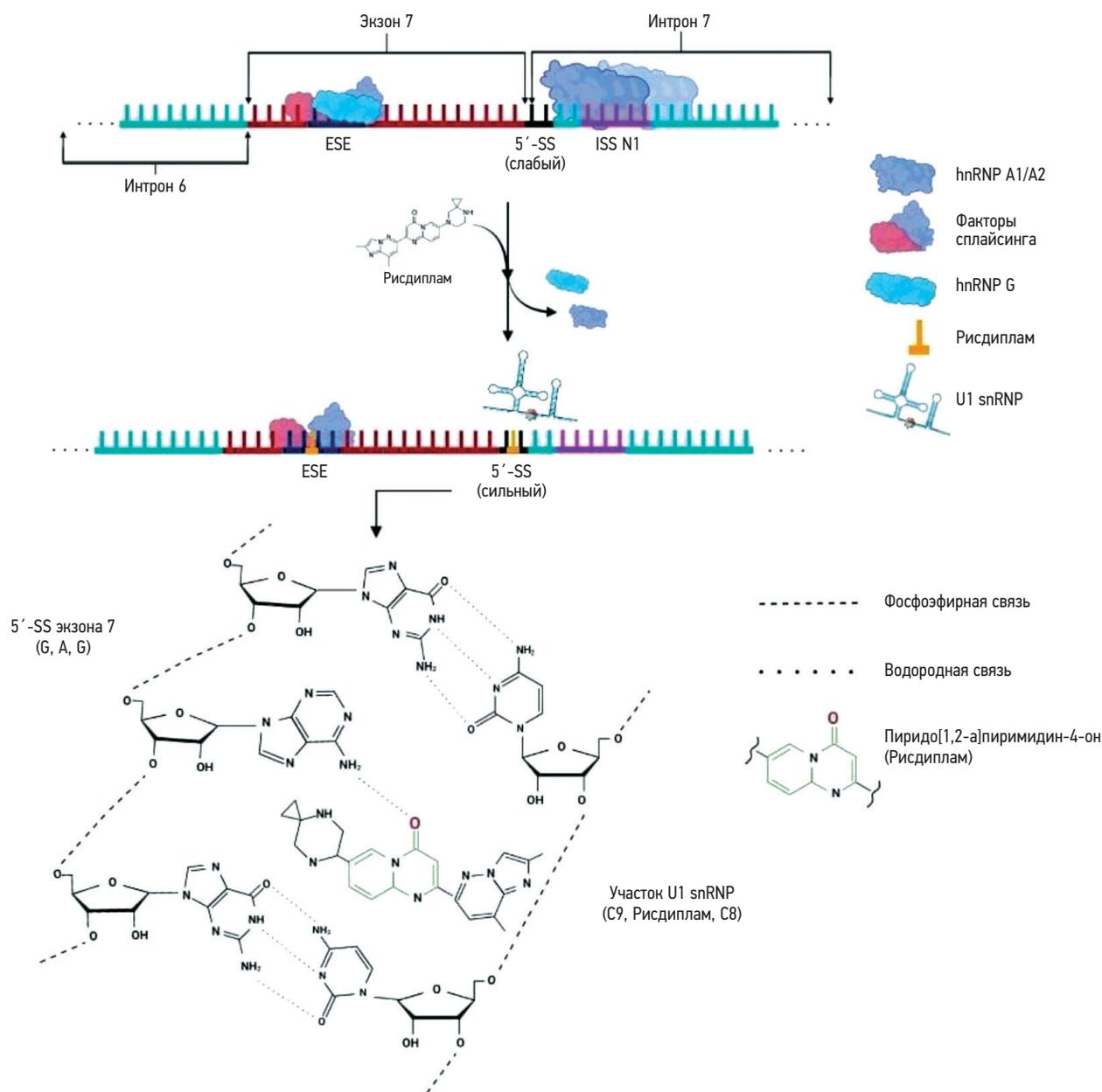


Рис. 7. Механизм действия Рисдипилама. ESE — exonic splicing enhancer, 5'-SS — splice site, hnRNP — heterogeneous ribonucleoprotein particle, U1 snRNP — U1 small nuclear ribonucleoprotein, ISS N1 — intronic splicing silencer N1.

Fig. 7. Risdipilam mechanism of action. ESE — exonic splicing enhancer, 5'-SS — splice site, hnRNP — heterogeneous ribonucleoprotein particle, U1 snRNP — U1 small nuclear ribonucleoprotein, ISS N1 — intronic splicing silencer N1.

клинические исследования 3-й фазы — ENDEAR и CHERISH (NCT02193074 и NCT02292537 соответственно). В исследовании ENDEAR принимал участие 121 пациент со СМА 1-го типа. На 1-, 15-, 29-, 64-, 183- и 302-й дни исследования 80 пациентов получали препарат в дозе 12 мг, а 41 пациент — плацебо с той же кратностью. В результате 51% участников из основной группы по сравнению с группой плацебо продемонстрировали улучшение моторного развития. Пациенты, получившие препарат в более раннем возрасте, с большей вероятностью выживали и демонстрировали улучшение двигательной функции [48]. К концу эксперимента умерли 16% в группе

Нусинерсена и 39% — в контрольной группе. В исследовании CHERISH принимали участие 126 пациентов со СМА 2-го типа (с более поздним проявлением симптомов). На 1-, 29-, 85- и 274-й дни исследования 84 пациента получали Нусинерсен по 12 мг, 42 пациента — плацебо с той же кратностью. К 15-му месяцу исследования 57% участников испытываемой группы против 26% контрольной группы продемонстрировали значительное улучшение моторных функций — не менее чем на 3 балла по шкале HFMSE (Hammersmith Functional Motor Scale Expanded). Пациенты в количестве 21 человек, не попавшие в исследование ENDEAR, CHERISH, с менее четко определёнными

клиническими симптомами СМА, участвовали в исследовании EMBRACE, результаты которого подтвердили опыт CHERISH и ENDEAR [40, 49].

В настоящее время 229 детей из всех вышеописанных исследований Нусинерсена участвуют в крупнейшем расширенном исследовании SHINE (NCT02594124) [40].

Следует отметить, что также проводили исследование NURTURE (NCT02386553) на младенцах с предсимптоматическим проявлением СМА (2–3 копии *SMN2*) с целью выявления профилактического потенциала Нусинерсена. Все участники достигли способности сидеть без поддержки, 92% смогли ходить с посторонней помощью, 88% имели возможность ходить самостоятельно. Улучшение моторных функций сохранялось в среднем в течение трёх лет наблюдения. Однако из-за отсутствия контрольной группы эти результаты могут быть переоценены [50].

Онасемноген абепарвовек

Первая фаза клинического исследования (START, NCT03421977) началась в 2014 году и продолжалась 5 лет. В исследовании принимали участие 15 пациентов со СМА 1-го типа с двумя копиями *SMN2*. В результате была подобрана терапевтическая доза $2,0 \times 10^{14}$ вг/кг (вирусных геномов на килограмм тела). При такой дозировке 11 из 12 пациентов (остальным вводилась более низкая доза препарата) смогли сидеть без посторонней помощи, говорить и принимать перорально пищу, а 2 пациента к 20 мес смогли ходить самостоятельно [51].

Вдохновляющие результаты по улучшению моторных функций у пациентов позволили ускорить клинические исследования до 3-й фазы STR1VE-US, STR1VE-EU, STR1VE-AP и SPR1NT (NCT03306277, NCT03461289, NCT03837184 и NCT03505099) [40]. В исследованиях STR1VE-US и STR1VE-EU принимали участие 22 и 32 пациента соответственно с симптомами СМА 1-го типа с одной или двумя копиями *SMN2* [52, 53]. В исследовании SPR1NT участвовали 30 пациентов со СМА 1-го типа с 2/3 копиями *SMN2* в предсимптоматическом состоянии [54]. В результате проведения STR1VE-US и STR1VE-EU 44 и 59% пациентов соответственно смогли сидеть без посторонней помощи в течение 10 с через 18 мес. Несмотря на улучшение моторного развития у пациентов в процессе проведения STR1VE-US и STR1VE-EU по сравнению с контрольной группой, в исследованиях зафиксировано два летальных исхода. Кроме того, один пациент нуждался в постоянной вентиляции лёгких, а 61% пациентов из STR1VE-EU — в постоянной поддержке дыхания. Результаты STR1VE-AP не опубликованы [40, 52, 53].

В исследовании SPR1NT 71% пациентов с двумя копиями *SMN2* могли сидеть без посторонней помощи в течение 30 с и 53% пациента с тремя копиями *SMN2* могли сидеть самостоятельно. На протяжении всего исследования SPR1NT у 57% диагностировали побочные эффекты, связанные с применением препарата, такие

как пневмония, дыхательная недостаточность, гипотония, гепатотоксичность [54].

Рисдиплам

Клинические испытания Рисдиплама начались с исследований FIREFISH (NCT02913482) и SUNFISH (NCT02908685), в которых оценивали безопасность и эффективность препарата у 41 пациента со СМА 1-го типа с двумя копиями *SMN2* и у 180 пациентов со СМА 2-го и 3-го типа соответственно [55, 56]. На данный момент в исследовании FIREFISH показано, что спустя 24 мес 59% пациентов могут сидеть самостоятельно в течение 5 с, также 90% демонстрируют улучшение моторных функций. В исследовании SUNFISH оценивали пациентов в возрасте от 2 до 25 лет. Результаты показали увеличение моторных функций по сравнению с контрольной группой (плацебо). В настоящее время исследования продолжаются [40, 55, 56].

С 2017 года ведутся исследования JEWELFISH (NCT03032172) и RAINBOWFISH (NCT03779334), в которых оценивают эффективность у пациентов со СМА 1–3-го типа (в возрасте от 6 мес до 60 лет) и пациентов со СМА 1-го типа с предсимптомным состоянием в возрасте до 6 нед соответственно. Исследование продолжается, промежуточные результаты не опубликованы [31].

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

Современные лекарственные препараты для лечения СМА показали свою клиническую эффективность, однако у инновационных препаратов существуют серьёзные ограничения и недостатки.

Препарат Нусинерсен предназначен для многократного интратекального введения (непосредственно в спинномозговую жидкость) каждые 4 мес. Такой способ сопровождается специфическими побочными эффектами: респираторные проблемы, боли в спине, головные боли. Имеются также ограниченные данные по использованию препарата у пациентов со СМА разных типов и возрастов. Серьёзным ограничением интратекального введения Нусинерсена является то, что препарат может распространяться только по ЦНС. Он не способен воздействовать на продукцию SMN в периферических органах, функциональность которых может сильно влиять на тяжесть заболевания, поскольку недостаток белка SMN может приводить к нарушению работы дыхательной и скелетной мускулатуры, дисфункции печени, поджелудочной железы [57, 58].

Для препарата Онасемноген абепарвовек требуется однократное внутривенное введение, однако сложно

говорить о достаточности такого способа применения, поскольку отсутствуют данные долгосрочных исследований (NCT04042025 — начато 10 февраля 2020 года). В результате системного распространения препарата по организму эписомальная ДНК *SMN1* может со временем терять эффективность в делящихся клетках, что приведёт к снижению терапевтического эффекта в периферических органах, оказывающих значительное влияние на развитие заболевания. Препарат также оказывает серьёзное токсическое действие на печень, сердце, провоцирует тромботическую микроангиопатию, тромбоцитопению [40, 58, 59].

Рисдиплам противопоказан пациентам с нарушениями функции печени средней и тяжёлой степени. Данный препарат не показал таких значительных улучшений моторных функций, которые описаны при применении его аналогов (Нусинерсен и Онасемноген абепарвовек) [40].

При терапии СМА не менее важным ограничением является дороговизна лечения. Пациенты с этим заболеванием нуждаются в медицинской и социальной помощи, требующей высоких затрат со стороны государства, благотворительных фондов. При оценке экономического бремени заболевания учитывают прямые медицинские затраты (на диагностику, лечение, реабилитацию), прямые немедицинские затраты (выплата пенсий и пособий) и непрямые затраты (недополученный валовый внутренний продукт). Основная доля затрат приходится на лекарственную терапию СМА и составляет более 50% от общих затрат [60, 61].

В России компанией BIOCAD разрабатывается отечественный препарат next-in-class ANB4 для лечения СМА 1-го типа на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса 9-го серотипа [62]. Предполагается, что он будет значительно дешевле аналогичного препарата (Онасемноген абепарвовек). Более низкая цена препарата в сочетании с предполагаемыми сопоставимыми показателями эффективности и безопасности позволила бы снизить затраты на лекарственную терапию. Высвободившиеся средства могут быть перераспределены между основными сметами затрат, например в пользу прямых медицинских затрат, связанных с реабилитационными мероприятиями или стационарным лечением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глубокое понимание причины возникновения и развития спинальной мышечной атрофии позволило определить стратегию терапии, которая направлена на восстановление продукции функционально активного белка SMN посредством модификации сплайсинга мРНК гена *SMN2* или вирусной доставки копий функционального гена *SMN1*. Препараты Нусинерсен, Онасемноген абепарвовек и Рисдиплам позволили добиться значительного улучшения моторных функций пациентов со спинальной

мышечной атрофией и в настоящее время используются на территории Российской Федерации.

На сегодняшний день одним из важнейших остаётся вопрос о снижении стоимости лечения спинальной мышечной атрофии. Разработка отечественных продуктов с терапевтическим эффектом и механизмом действия, аналогичным уже одобренным препаратам, позволила бы снизить социально-экономическое бремя пациентов с данным заболеванием и, возможно, расширить исследования по терапии пациентов с менее тяжёлыми формами спинальной мышечной атрофии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Не указан.

Конфликт интересов. Авторы исследования Е.М. Роденков, Н.В. Кожемякина, Ю.А. Зонис, П.М. Гершович являются сотрудниками компании BIOCAD.

Вклад авторов. Е.М. Роденков — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста; Н.В. Кожемякина — сбор и анализ литературных источников, подготовка, написание текста и редактирование статьи; Ю.А. Зонис — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, подготовка, написание текста и редактирование статьи; П.М. Гершович — анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; Б.Ю. Лалаев — сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. Not specified.

Competing interests. The authors of the study E.M. Rodenkov, N.V. Kozhemyakina, Y.A. Zonis, P.M. Gershovich are employees of the BIOCAD company.

Authors' contribution. E.M. Rodenkov — literature review, collection and analysis of literary sources, preparation and writing of the text of the article; N.V. Kozhemyakina — collection and analysis of literary sources, preparation, writing of the text and editing the article; Yu.A. Zonis — literature review, collection and analysis of literary sources, preparation, writing of the text and editing the article; P.M. Gershovich — analysis of literary sources, writing the text and editing the article; B.Y. Lalaev — collection and analysis of literary sources, preparation and writing of the text of the article. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. www.omim.org [Internet]. Survival of motor neuron 1; SMN1 [дата обращения: 08.07.2023]. Доступ по ссылке: <https://www.omim.org/entry/600354>
2. Butchbach M.E.R. Genomic variability in the survival motor neuron genes (SMN1 and SMN2): implications for spinal muscular atrophy phenotype and therapeutics development // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 15. P. 7896. doi: 10.3390/ijms22157896
3. Talbot K., Tizzano E.F. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era // *Gene Ther*. 2017. Vol. 24, N 9. P. 529–533. doi: 10.1038/gt.2017.52
4. Al-Zaidy S.A., Mendell J.R. From clinical trials to clinical practice: practical considerations for gene replacement therapy in SMA type1 // *Pediatr Neurol*. 2013. Vol. 100. P. 3–11. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007
5. Coque E., Raoul C., Bowerman M. ROCK inhibition as a therapy for spinal muscular atrophy: understanding the repercussions on multiple cellular targets // *Front Neurosci*. 2014. Vol. 8. P. 271. doi: 10.3389/fnins.2014.00271
6. Walter L.M., Franz P., Lindner R., et al. Profilin2a-phosphorylation as a regulatory mechanism for actin dynamics // *FASEB J*. 2020. Vol. 34, N 2. P. 2147–2160. doi: 10.1096/fj.201901883R
7. Cho S., Dreyfuss G. A degron created by SMN2 exon 7 skipping is a principal contributor to spinal muscular atrophy severity // *Genes Dev*. 2010. Vol. 24, N 5. P. 438–442. doi: 10.1101/gad.1884910
8. <http://www.dnalab.ru/> [интернет]. Центр молекулярной генетики [дата обращения: 19.04.2023]. Доступ по ссылке: <http://www.dnalab.ru/diseases-diagnostics/spinal-muscular-atrophy>
9. Rodriguez-Muela N., Litterman N.K., Norabuena E.M., et al. Single-cell analysis of SMN reveals its broader role in neuromuscular disease // *Cell Rep*. 2017. Vol. 18, N 6. P. 1484–1498. doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.035
10. Chaytow H., Huang Y.T., Gillingwater T.H., Faller K.M.E. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis // *Cell Mol Life Sci*. 2018. Vol. 75, N 21. P. 3877–3894. doi: 10.1007/s00018-018-2849-1
11. Li D.K., Tisdale S., Lotti F., Pellizzoni L. SMN control of RNP assembly: from post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease // *Semin Cell Dev Biol*. 2014. Vol. 32. P. 22–29. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.04.026
12. Stewart M. Nuclear export of mRNA // *Trends Biochem Sci*. 2010. Vol. 35, N 11. P. 609–617. doi: 10.1016/j.tibs.2010.07.001
13. Raker V.A., Plessel G., Lührmann R. The snRNP core assembly pathway: identification of stable core protein heteromeric complexes and an snRNP subcore particle in vitro // *EMBO J*. 1996. Vol. 15, N 9. P. 2256–2269.
14. Yi H., Mu L., Shen C., et al. Negative cooperativity between Gemin2 and RNA provides insights into RNA selection and the SMN complex's release in snRNP assembly // *Nucleic Acids Res*. 2020. Vol. 48, N 2. P. 895–911. doi: 10.1093/nar/gkz1135
15. Neuenkirchen N., Englbrecht C., Ohmer J., et al. Reconstitution of the human U snRNP assembly machinery reveals stepwise Sm protein organization // *EMBO J*. 2015. Vol. 34, N 14. P. 1925–1941. doi: 10.15252/embj.201490350
16. Raker V.A., Hartmuth K., Kastner B., Lührmann R. Spliceosomal U snRNP core assembly: Sm proteins assemble onto an Sm site RNA nonanucleotide in a specific and thermodynamically stable manner // *Mol Cell Biol*. 1999. Vol. 19, N 10. P. 6554–6565. doi: 10.1128/MCB.19.10.6554
17. Pellizzoni L., Yong J., Dreyfuss G. Essential role for the SMN complex in the specificity of snRNP assembly // *Science*. 2002. Vol. 298, N 5599. P. 1775–1779. doi: 10.1126/science.1074962
18. Zhang R., So B.R., Li P., et al. Structure of a key intermediate of the SMN complex reveals Gemin2's crucial function in snRNP assembly // *Cell*. 2011. Vol. 146, N 3. P. 384–395. doi: 10.1016/j.cell.2011.06.043
19. Weber G., Trowitzsch S., Kastner B., et al. Functional organization of the Sm core in the crystal structure of human U1 snRNP // *EMBO J*. 2010. Vol. 29, N 24. P. 4172–4184. doi: 10.1038/emboj.2010.295
20. Rage F., Boulisfane N., Rihan K., et al. Genome-wide identification of mRNAs associated with the protein SMN whose depletion decreases their axonal localization // *RNA*. 2013. Vol. 19, N 12. P. 1755–1766. doi: 10.1261/rna.040204.113
21. Lafarga M., Tapia O., Romero A.M., Berciano M.T. Cajal bodies in neurons // *RNA Biol*. 2017. Vol. 14, N 6. P. 712–725. doi: 10.1080/15476286.2016.1231360
22. Meier U.T. RNA modification in Cajal bodies // *RNA Biol*. 2017. Vol. 14, N 6. P. 693–700. doi: 10.1080/15476286.2016.1249091
23. Hebert M.D., Szymczyk P.W., Shpargel K.B., Matera A.G. Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the spinal muscular atrophy protein // *Genes Dev*. 2001. Vol. 15, N 20. P. 2720–2729. doi: 10.1101/gad.908401
24. Toyota C.G., Davis M.D., Cosman A.M., Hebert M.D. Coilin phosphorylation mediates interaction with SMN and SmB' // *Chromosoma*. 2010. Vol. 119, N 2. P. 205–215. doi: 10.1007/s00412-009-0249-x
25. Kannan A., Bhatia K., Branzei D., Gangwani L. Combined deficiency of Senataxin and DNA-PKcs causes DNA damage accumulation and neurodegeneration in spinal muscular atrophy // *Nucleic Acids Res*. 2018. Vol. 46, N 16. P. 8326–8346. doi: 10.1093/nar/gky641
26. Sharma A., Singh K., Almasan A. Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage // *Methods Mol Biol*. 2012. Vol. 920. P. 613–626. doi: 10.1007/978-1-61779-998-3_40
27. Kye M.J., Niederst E.D., Wertz M.H., et al. SMN regulates axonal local translation via miR-183/mTOR pathway // *Hum Mol Genet*. 2014. Vol. 23, N 23. P. 6318–6331. doi: 10.1093/hmg/ddu350
28. Querfurth H., Lee H.K. Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration // *Mol Neurodegener*. 2021. Vol. 16, N 1. P. 44. doi: 10.1186/s13024-021-00428-5
29. Nölle A., Zeug A., van Bergeijk J., et al. The spinal muscular atrophy disease protein SMN is linked to the Rho-kinase pathway via profilin // *Hum Mol Genet*. 2011. Vol. 20, N 24. P. 4865–4878. doi: 10.1093/hmg/ddr425
30. Caraballo-Miralles V., Cardona-Rossinyol A., Garcera A., et al. SMN deficiency attenuates migration of U87MG astrogloma cells through the activation of RhoA // *Mol Cell Neurosci*. 2012. Vol. 49, N 3. P. 282–289. doi: 10.1016/j.mcn.2011.12.003
31. Hensel N., Claus P. The actin cytoskeleton in SMA and ALS: how does it contribute to motoneuron degeneration? // *Neuroscientist*. 2018. Vol. 24, N 1. P. 54–72. doi: 10.1177/1073858417705059
32. Tanna A.P., Johnson M. Rho kinase inhibitors as a novel treatment for glaucoma and ocular hypertension // *Ophthalmology*. 2018. Vol. 125, N 11. P. 1741–1756. doi: 10.1016/j.optha.2018.04.040

33. Coque E., Raoul C., Bowerman M. ROCK inhibition as a therapy for spinal muscular atrophy: understanding the repercussions on multiple cellular targets // *Front Neurosci.* 2014. Vol. 8. P. 271. doi: 10.3389/fnins.2014.00271

34. Walter L.M., Franz P., Lindner R., et al. Profilin2a-phosphorylation as a regulatory mechanism for actin dynamics // *FASEB J.* 2020. Vol. 34, N 2. P. 2147–2160. doi: 10.1096/fj.201901883R

35. Godin S.K., Sullivan M.R., Bernstein K.A. Novel insights into RAD51 activity and regulation during homologous recombination and DNA replication // *Biochem Cell Biol.* 2016. Vol. 94, N 5. P. 407–418. doi: 10.1139/bcb-2016-0012

36. Ripolone M., Ronchi D., Violano R., et al. Impaired muscle mitochondrial biogenesis and myogenesis in spinal muscular atrophy // *JAMA Neurol.* 2015. Vol. 72, N 6. P. 666–675. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.0178

37. Wishart T.M., Mutsaers C.A., Riessland M., et al. Dysregulation of ubiquitin homeostasis and β -catenin signaling promote spinal muscular atrophy // *J Clin Invest.* 2014. Vol. 124, N 4. P. 1821–1834. doi: 10.1172/JCI71318

38. Powis R.A., Karyka E., Boyd P., et al. Systemic restoration of UBA1 ameliorates disease in spinal muscular atrophy // *JCI Insight.* 2016. Vol. 1, N 11. P. 87908. doi: 10.1172/jci.insight.87908

39. Shababi M., Lorson C.L., Rudnik-Schöneborn S.S. Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease? // *J Anat.* 2014. Vol. 224, N 1. P. 15–28. doi: 10.1111/joa.12083

40. Reilly A., Chehade L., Kothary R. Curing SMA: are we there yet? // *Gene Ther.* 2023. Vol. 30, N 1-2. P. 8–17. doi: 10.1038/s41434-022-00349-y

41. Campagne S., Boigner S., Rüdisser S., et al. Structural basis of a small molecule targeting RNA for a specific splicing correction // *Nat Chem Biol.* 2019. Vol. 15, N 12. P. 1191–1198. doi: 10.1038/s41589-019-0384-5

42. Singh R.N., Singh N.N. Mechanism of splicing regulation of spinal muscular atrophy genes // *Adv Neurobiol.* 2018. Vol. 20. P. 31–61. doi: 10.1007/978-3-319-89689-2_2

43. Sivaramakrishnan M., McCarthy K.D., Campagne S., et al. Binding to SMN2 pre-mRNA-protein complex elicits specificity for small molecule splicing modifiers // *Nat Commun.* 2017. Vol. 8, N 1. P. 1476. doi: 10.1038/s41467-017-01559-4

44. Haché M., Swoboda K.J., Sethna N., et al. Intrathecal injections in children with spinal muscular atrophy: nusinersen clinical trial experience // *J Child Neurol.* 2016. Vol. 31, N 7. P. 899–906. doi: 10.1177/0883073815627882

45. Darras B.T., Chiriboga C.A., Iannaccone S.T., et al. Nusinersen in later-onset spinal muscular atrophy: long-term results from the phase 1/2 studies // *Neurology.* 2019. Vol. 92, N 21. P. e2492–e2506. doi: 10.1212/WNL.0000000000007527

46. Finkel R.S., Chiriboga C.A., Vajsar J., et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study // *Lancet.* 2016. Vol. 388, N 10063. P. 3017–3026. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31408-8

47. Finkel R.S., Chiriboga C.A., Vajsar J., et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: final report of a phase 2, open-label, multicentre, dose-escalation study // *Lancet Child Adolesc Health.* 2021. Vol. 5, N 7. P. 491–500. doi: 10.1016/S2352-4642(21)00100-0

48. Finkel R.S., Mercuri E., Darras B.T., et al. Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy // *N Engl J Med.* 2017. Vol. 377, N 18. P. 1723–1732. doi: 10.1056/NEJMoa1702752

49. Mercuri E., Darras B.T., Chiriboga C.A. et al. Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy // *N Engl J Med.* 2018. Vol. 378, N 7. P. 625–635. doi: 10.1056/NEJMoa1710504

50. De Vivo D.C., Bertini E., Swoboda K.J., et al. Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study // *Neuromuscul Disord.* 2019. Vol. 29, N 11. P. 842–856. doi: 10.1016/j.nmd.2019.09.007

51. Mendell J.R., Al-Zaidy S.A., Lehman K.J., et al. Five-year extension results of the phase 1 START trial of onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy // *JAMA Neurol.* 2021. Vol. 78, N 7. P. 834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1272

52. Day J.W., Finkel R.S., Chiriboga C.A., et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STR1VE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial // *Lancet Neurol.* 2021. Vol. 20, N 4. P. 284–293. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00001-6

53. Mercuri E., Muntoni F., Baranello G., et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STR1VE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial // *Lancet Neurol.* 2021. Vol. 20, N 10. P. 832–841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9

54. Strauss K.A., Swoboda K.J., Farrar M.A., et al. Onasemnogene abeparvovec gene-replacement therapy (GRT) in presymptomatic spinal muscular atrophy (SMA): SPR1NT study update // *Neurological Sciences.* 2019. Vol. 405. P. 268–269. doi: 10.1016/j.jns.2019.10.1317

55. Darras B.T., Masson R., Mazurkiewicz-Betdzińska M., et al. Risdiplam-treated infants with type 1 spinal muscular atrophy versus historical controls // *N Engl J Med.* 2021. Vol. 385, N 5. P. 427–435. doi: 10.1056/NEJMoa2102047

56. Mercuri E., Deconinck N., Mazzone E.S., et al. Safety and efficacy of once-daily risdiplam in type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SUNFISH part 2): a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled trial // *Lancet Neurol.* 2022. Vol. 21, N 1. P. 42–52. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00367-7

57. Hua Y., Sahashi K., Rigo F., et al. Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model // *Nature.* 2011. Vol. 478, N 7367. P. 123–126. doi: 10.1038/nature10485

58. Chaytow H., Faller K.M.E., Huang Y.T., Gillingwater T.H. Spinal muscular atrophy: from approved therapies to future therapeutic targets for personalized medicine // *Cell Rep Med.* 2021. Vol. 2, N 7. P. 100346. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100346

59. Van Alstyne M., Tattoli I., Delestrée N., et al. Gain of toxic function by long-term AAV9-mediated SMN overexpression in the sensorimotor circuit // *Nat Neurosci.* 2021. Vol. 24, N 7. P. 930–940. doi: 10.1038/s41593-021-00827-3

60. Колбин А.С., Влодавец Д.В., Курылев А.А., и др. Анализ социально-экономического бремени спинальной мышечной атрофии в Российской Федерации // *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020. Т. 13, № 4. С. 337–354. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.068

61. Колбин А.С., Курылев А.А., Балыкина Ю.Е., и др. Фармакоэкономическая оценка лекарственного препарата рисдиплам у пациентов со спинальной мышечной атрофией //

Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2021. Т. 14, № 3. С. 299–310. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.101

REFERENCES

1. www.omim.org [Internet]. *Survival of motor neuron 1; SMN1* [cited 8 July 2023]. Available from: <https://www.omim.org/entry/600354>
2. Butchbach MER. Genomic variability in the survival motor neuron genes (SMN1 and SMN2): implications for spinal muscular atrophy phenotype and therapeutics development. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15):7896. doi: 10.3390/ijms22157896
3. Talbot K, Tizzano EF. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era. *Gene Ther.* 2017;24(9):529–533. doi: 10.1038/gt.2017.52
4. Al-Zaidy SA, Mendell JR. From clinical trials to clinical practice: practical considerations for gene replacement therapy in SMA type1. *Pediatr Neurol.* 2013;100:3–11. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007
5. Brooks AN, Aspden JL, Podgornaia AI, et al. Identification and experimental validation of splicing regulatory elements in *Drosophila melanogaster* reveals functionally conserved splicing enhancers in metazoans. *RNA.* 2011;17(10):1884–1894. doi: 10.1261/rna.2696311
6. Singh NN, Howell MD, Androphy EJ, Singh RN. How the discovery of ISS-N1 led to the first medical therapy for spinal muscular atrophy. *Gene Ther.* 2017;24(9):520–526. doi: 10.1038/gt.2017.34
7. Cho S, Dreyfuss G. A decon created by SMN2 exon 7 skipping is a principal contributor to spinal muscular atrophy severity. *Genes Dev.* 2010;24(5):438–442. doi: 10.1101/gad.1884910
8. <http://www.dnalab.ru/> [Internet]. *Center for Molecular Genetics* [cited 19 April 2023]. Available from: <http://www.dnalab.ru/diseases-diagnostics/spinal-muscular-atrophy> (In Russ).
9. Rodriguez-Muela N, Litterman NK, Norabuena EM, et al. Single-cell analysis of SMN reveals its broader role in neuromuscular disease. *Cell Rep.* 2017;18(6):1484–1498. doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.035
10. Chaytow H, Huang YT, Gillingwater TH, Faller KME. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(21):3877–3894. doi: 10.1007/s00018-018-2849-1
11. Li DK, Tisdale S, Lotti F, Pellizzoni L. SMN control of RNP assembly: from post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease. *Semin Cell Dev Biol.* 2014;32:22–29. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.04.026
12. Stewart M. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem Sci.* 2010;35(11):609–617. doi: 10.1016/j.tibs.2010.07.001
13. Raker VA, Plessel G, Lührmann R. The snRNP core assembly pathway: identification of stable core protein heteromeric complexes and an snRNP subcore particle in vitro. *EMBO J.* 1996;15(9):2256–2269.
14. Yi H, Mu L, Shen C, et al. Negative cooperativity between Gemin2 and RNA provides insights into RNA selection and the SMN complex's release in snRNP assembly. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(2):895–911. doi: 10.1093/nar/gkz1135
15. Neuenkirchen N, Englbrecht C, Ohmer J, et al. Reconstitution of the human U snRNP assembly machinery reveals stepwise Sm protein organization. *EMBO J.* 2015;34(14):1925–1941. doi: 10.15252/embj.201490350
16. Raker VA, Hartmuth K, Kastner B, Lührmann R. Spliceosomal U snRNP core assembly: Sm proteins assemble onto an Sm site RNA nonanucleotide in a specific and thermodynamically stable manner. *Mol Cell Biol.* 1999;19(10):6554–6565. doi: 10.1128/MCB.19.10.6554
17. Pellizzoni L, Yong J, Dreyfuss G. Essential role for the SMN complex in the specificity of snRNP assembly. *Science.* 2002;298(5599):1775–1779. doi: 10.1126/science.1074962
18. Zhang R, So BR, Li P, et al. Structure of a key intermediate of the SMN complex reveals Gemin2's crucial function in snRNP assembly. *Cell.* 2011;146(3):384–395. doi: 10.1016/j.cell.2011.06.043
19. Weber G, Trowitzsch S, Kastner B, et al. Functional organization of the Sm core in the crystal structure of human U1 snRNP. *EMBO J.* 2010;29(24):4172–4184. doi: 10.1038/emboj.2010.295
20. Rage F, Boulisfane N, Rihan K, et al. Genome-wide identification of mRNAs associated with the protein SMN whose depletion decreases their axonal localization. *RNA.* 2013;19(12):1755–1766. doi: 10.1261/rna.040204.113
21. Lafarga M, Tapia O, Romero AM, Berciano MT. Cajal bodies in neurons. *RNA Biol.* 2017;14(6):712–725. doi: 10.1080/15476286.2016.1231360
22. Meier UT. RNA modification in Cajal bodies. *RNA Biol.* 2017;14(6):693–700. doi: 10.1080/15476286.2016.1249091
23. Hebert MD, Szymczyk PW, Shpargel KB, Matera AG. Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the spinal muscular atrophy protein. *Genes Dev.* 2001;15(20):2720–2729. doi: 10.1101/gad.908401
24. Toyota CG, Davis MD, Cosman AM, Hebert MD. Coilin phosphorylation mediates interaction with SMN and SmB'. *Chromosoma.* 2010;119(2):205–215. doi: 10.1007/s00412-009-0249-x
25. Kannan A, Bhatia K, Branzei D, Gangwani L. Combined deficiency of Senataxin and DNA-PKcs causes DNA damage accumulation and neurodegeneration in spinal muscular atrophy. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(16):8326–8346. doi: 10.1093/nar/gky641
26. Sharma A, Singh K, Almasan A. Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage. *Methods Mol Biol.* 2012;920:613–626. doi: 10.1007/978-1-61779-998-3_40
27. Kye MJ, Niederst ED, Wertz MH, et al. SMN regulates axonal local translation via miR-183/mTOR pathway. *Hum Mol Genet.* 2014;23(23):6318–6331. doi: 10.1093/hmg/ddu350
28. Querfurth H, Lee HK. Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration. *Mol Neurodegener.* 2021;16(1):44. doi: 10.1186/s13024-021-00428-5
29. Nölle A, Zeug A, van Bergeijk J, et al. The spinal muscular atrophy disease protein SMN is linked to the Rho-kinase pathway via profiling. *Hum Mol Genet.* 2011;20(24):4865–4878. doi: 10.1093/hmg/ddr425
30. Caraballo-Miralles V, Cardona-Rossinyol A, Garcera A, et al. SMN deficiency attenuates migration of U87MG astrogloma cells through the activation of RhoA. *Mol Cell Neurosci.* 2012;49(3):282–289. doi: 10.1016/j.mcN2011.12.003

31. Hensel N, Claus P. The actin cytoskeleton in SMA and ALS: how does it contribute to motoneuron degeneration? *Neuroscientist*. 2018;24(1):54–72. doi: 10.1177/1073858417705059
32. Tanna AP, Johnson M. Rho kinase inhibitors as a novel treatment for glaucoma and ocular hypertension. *Ophthalmology*. 2018;125(11):1741–1756. doi: 10.1016/j.optha.2018.04.040
33. Coque E, Raoul C, Bowerman M. ROCK inhibition as a therapy for spinal muscular atrophy: understanding the repercussions on multiple cellular targets. *Front Neurosci*. 2014;8:271. doi: 10.3389/fnins.2014.00271
34. Walter LM, Franz P, Lindner R, et al. Profilin2a-phosphorylation as a regulatory mechanism for actin dynamics. *FASEB J*. 2020;34(2):2147–2160. doi: 10.1096/fj.201901883R
35. Godin SK, Sullivan MR, Bernstein KA. Novel insights into RAD51 activity and regulation during homologous recombination and DNA replication. *Biochem Cell Biol*. 2016;94(5):407–418. doi: 10.1139/bcb-2016-0012
36. Ripolone M, Ronchi D, Violano R, et al. Impaired muscle mitochondrial biogenesis and myogenesis in spinal muscular atrophy. *JAMA Neurol*. 2015;72(6):666–675. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.0178
37. Wishart TM, Mutsaers CA, Riessland M, et al. Dysregulation of ubiquitin homeostasis and β -catenin signaling promote spinal muscular atrophy. *J Clin Invest*. 2014;124(4):1821–1834. doi: 10.1172/JCI71318
38. Powis RA, Karyka E, Boyd P, et al. Systemic restoration of UBA1 ameliorates disease in spinal muscular atrophy. *JCI Insight*. 2016;1(11):87908. doi: 10.1172/jci.insight.87908
39. Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schöneborn SS. Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat*. 2014;224(1):15–28. doi: 10.1111/joa.12083
40. Reilly A, Chehade L, Kothary R. Curing SMA: are we there yet? *Gene Ther*. 2023;30(1-2):8–17. doi: 10.1038/s41434-022-00349-y
41. Campagne S, Boigner S, Rüdiger S, et al. Structural basis of a small molecule targeting RNA for a specific splicing correction. *Nat Chem Biol*. 2019;15(12):1191–1198. doi: 10.1038/s41589-019-0384-5
42. Singh RN, Singh NN. Mechanism of splicing regulation of spinal muscular atrophy genes. *Adv Neurobiol*. 2018;20:31–61. doi: 10.1007/978-3-319-89689-2_2
43. Sivaramakrishnan M, McCarthy KD, Campagne S, et al. Binding to SMN2 pre-mRNA-protein complex elicits specificity for small molecule splicing modifiers. *Nat Commun*. 2017;8(1):1476. doi: 10.1038/s41467-017-01559-4
44. Haché M, Swoboda KJ, Sethna N, et al. Intrathecal injections in children with spinal muscular atrophy: nusinersen clinical trial experience. *J Child Neurol*. 2016;31(7):899–906. doi: 10.1177/0883073815627882
45. Darras BT, Chiriboga CA, Iannaccone ST, et al. Nusinersen in later-onset spinal muscular atrophy: long-term results from the phase 1/2 studies. *Neurology*. 2019;92(21):e2492–e2506. doi: 10.1212/WNL.0000000000007527
46. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet*. 2016;388(10063):3017–3026. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31408-8
47. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: final report of a phase 2, open-label, multicentre, dose-escalation study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2021;5(7):491–500. doi: 10.1016/S2352-4642(21)00100-0
48. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, et al. Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377(18):1723–1732. doi: 10.1056/NEJMoa1702752
49. Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA, et al. Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy. *N Engl J Med*. 2018;378(7):625–635. doi: 10.1056/NEJMoa1710504
50. De Vivo DC, Bertini E, Swoboda KJ, et al. Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: Interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study. *Neuromuscul Disord*. 2019;29(11):842–856. doi: 10.1016/j.nmd.2019.09.007
51. Mendell JR, Al-Zaidy SA, Lehman KJ, et al. Five-year extension results of the phase 1 start trial of onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy. *JAMA Neurol*. 2021;78(7):834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1272
52. Day JW, Finkel RS, Chiriboga CA, et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STR1VE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2021;20(4):284–293. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00001-6
53. Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STR1VE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2021;20(10):832–841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9
54. Strauss KA, Swoboda KJ, Farrar MA, et al. Onasemnogene abeparvovec gene-replacement therapy (GRT) in presymptomatic spinal muscular atrophy (SMA): SPR1NT study update. *Neurological Sciences*. 2019;405:268–269. doi: 10.1016/j.jns.2019.10.1317
55. Darras BT, Masson R, Mazurkiewicz-Beldzińska M, et al. Risdiplam-treated infants with type 1 spinal muscular atrophy versus historical controls. *N Engl J Med*. 2021;385(5):427–435. doi: 10.1056/NEJMoa2102047
56. Mercuri E, Deconinck N, Mazzone ES, et al. Safety and efficacy of once-daily risdiplam in type 2 and non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SUNFISH part 2): a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*. 2022;21(1):42–52. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00367-7
57. Hua Y, Sahashi K, Rigo F, et al. Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model. *Nature*. 2011;478(7367):123–126. doi: 10.1038/nature10485
58. Chaytow H, Faller KME, Huang YT, Gillingwater TH. Spinal muscular atrophy: from approved therapies to future therapeutic targets for personalized medicine. *Cell Rep Med*. 2021;2(7):100346. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100346
59. Van Alstyne M, Tattoli I, Delestrée N, et al. Gain of toxic function by long-term AAV9-mediated SMN overexpression in the sensorimotor circuit. *Nat Neurosci*. 2021;24(7):930–940. doi: 10.1038/s41593-021-00827-3
60. Kolbin AS, Vlodayets DV, Kurylev AA, et al. The social-economic burden of spinal muscular atrophy in Russia. *Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(4):337–354. (In Russ). doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.068
61. Kolbin AS, Kurylev AA, Balykina YuE, et al. Health economic evaluation of risdiplam in patients with spinal muscular

atrophy. *Farmakoeconomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2021;14(3):299–310. (In Russ). doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.101

62. <https://ct.biocad.ru/> [Internet]. BIOCAD clinical trials [cited 20 July 2023]. Available from: <https://ct.biocad.ru/nozology/amb-004-1bluebell> (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

* **Роденков Евгений Михайлович**, аспирант;
адрес: Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова, д. 14;
ORCID: 0009-0007-7295-2405;
e-mail: rodenkov.evgenij@pharminnotech.com

Кожемякина Наталья Владимировна, к.б.н.;
ORCID: 0009-0002-5951-4973;
e-mail: kozhemyakina@biocad.ru

Зонис Юлия Александровна;
ORCID: 0009-0003-6537-3705;
e-mail: zonis@biocad.ru

Гершович Павел Михайлович, к.б.н.;
ORCID: 0000-0002-1202-6721;
e-mail: gershovich@biocad.ru

Лалаев Борис Юрьевич, к.х.н.;
ORCID: 0000-0002-5714-2443;
eLibrary SPIN: 4030-3540;
e-mail: boris.lalaev@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Evgeny M. Rodenkov**, PhD, Student;
address: 14 Professor Popov street, Saint Petersburg 197376,
Russian Federation;
ORCID: 0009-0007-7295-24055;
e-mail: rodenkov.evgenij@pharminnotech.com

Natalya V. Kozhemyakina, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: 0009-0002-5951-4973;
e-mail: kozhemyakina@biocad.ru

Yulia A. Zonis;
ORCID: 0009-0003-6537-3705;
e-mail: zonis@biocad.ru

Pavel M. Gershovich, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: 0000-0002-1202-6721;
e-mail: gershovich@biocad.ru

Boris Y. Lalaev, Cand. Sci. (Chem.);
ORCID: 0000-0002-5714-2443;
eLibrary SPIN: 4030-3540;
e-mail: boris.lalaev@pharminnotech.com