

Rdzeniowy zanik mięśni – nowe terapie, nowe wyzwania

Spinal muscular atrophy – novel therapies, new challenges

Maria Jędrzejowska¹, Anna Kostera-Pruszczyk²

¹ Zespół Nerwowo-Mięśniowy Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa

² Klinika Neurologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

DOI:10.20966/chn.2017.52.400

STRESZCZENIE

Rdzeniowy zanik mięśni jest postępującą chorobą neurodegeneracyjną, w przebiegu której dochodzi do utraty motoneuronów rdzenia kręgowego, a w konsekwencji osłabienia i zaniku mięśni. Choroba charakteryzuje się bardzo dużą zmiennością przebiegu klinicznego – od letalnej formy wrodzonej po postać dorosłą, o średniej przeżycia jak w populacji ogólnej. Choroba związana jest z mutacjami genu *SMN1*. Liczba kopii bliźniaczo podobnego genu *SMN2* warunkuje nasilenie objawów klinicznych. Analizy ostatnich lat zaowocowały weryfikacją aktualnej klasyfikacji, poprawą standardów opieki, poznaniem przebiegu historii naturalnej choroby. W zderzeniu z nowymi badaniami nad podłożem molekularnym i patogenezą choroby możliwe stało się podjęcie prób terapeutycznych. Badania kliniczne wykazały skuteczność nusinersenu (antysensowny oligonukleotyd), i doprowadziły do rejestracji leku do leczenia SMA. Najlepsze efekty uzyskano u pacjentów, u których włączono leczenie w okresie przedobjawowym. Trwają badania nad kolejnymi substancjami, których działanie oparte jest o różnorodne strategie- począwszy od terapii genowej (AVXS101), przez mikromolekule modyfikujące składanie pre-mRNA *SMN2* (LMI070, RG7916), po neuroprotektory (Olesoxime) i wiele innych. W pracy dokonujemy przeglądu najnowszych danych dotyczących klasyfikacji, historii naturalnej, standardów opieki i prób terapeutycznych. Wczesne rozpoznanie i leczenie może zmienić historię naturalną choroby. Dlatego tak ważne wydaje się wczesne rozpoznanie, a w przyszłości być może wprowadzenie skriningu noworodkowego.

Słowa kluczowe: SMA 5q, białko *SMN*, terapia.

ABSTRACT

Spinal muscle atrophy (SMA) is a progressive neurodegenerative disease that results in the loss of motoneurons in the spinal cord and, consequently, in muscle weakness and atrophy. The disease is characterized by high variability of the clinical course – from the early neonatal form to the adult form, with the average survival as in the general population. The disease is caused by mutations in the *SMN1* gene. The number of copies of a similar *SMN2* gene determines the severity of clinical symptoms. Recent analyzes allowed to verify current classification, improve care standards, learn the natural history of SMA. Clinical studies showed the efficacy of nusinersen (an antisense oligonucleotide) and led to the registration of the drug for SMA treatment. The best results were seen in presymptomatic patients. Research is underway on substances that are based on a variety of strategies, from gene therapy (AVXS101) to *SMN2* pre-mRNA modulation micronucleus (LMI070, RG7916) to neuroprotectants (Olesoxime) and many others. We review the latest data on classification, natural history, care standards and therapeutic trials. Early diagnosis and treatment can change the natural history of the disease. That is why it is so important to have an early diagnosis and, perhaps, a neonatal screening in the future.

Keywords: SMA 5q, *SMN* protein, therapy.

WSTĘP

Rdzeniowy zanik mięśni jest grupą chorób, w przebiegu których dochodzi do utraty motoneuronów rdzenia kręgowego, a w konsekwencji osłabienia i zaniku mięśni. Najczęstszą postacią w tej grupie chorób jest dziedziczony autosomalnie recesywnie dosiebny dziecięcy i młodzieńczy rdzeniowy zanik mięśni, związany z mutacjami genu *SMN1* na chromosomie 5q (SMA 5q, a w dalszej części artykułu stosowany do tej postaci rdzeniowego zaniku mięśni będzie skrót SMA). W większości przypadków jest to ciężka, postępująca i nieuleczalna choroba, doprowadzająca do unieruchomienia i niewydolności oddechowej. Pomimo poprawy standardów opieki nadal stanowi ona jedną z najczęstszych przyczyn zgonów dzieci wśród chorób uwarunkowanych genetycznie. Jest to również najczęstsza

spośród chorób nerwowo-mięśniowych rozpoznawana w wieku niemowlęcym.

Od momentu identyfikacji genu *SMN1*, związanego z patogenezą choroby, trwają intensywne prace nad pogłębieniem znajomości podłoża molekularnego i patogenezы choroby, historią naturalną oraz próbami leczenia [1]. Niedawno sukcesem zakończyły się badania prowadzące do rejestracji pierwszego leku do leczenia SMA – antysensownego oligonukleotydu- nusinersenu. Trwają prace, nad jak się wydaje, również potencjalnie skutecznymi substancjami, o różnym mechanizmie działania (m. in. terapia genowa, zmiana składania *SMN2*, neuroprotektory). Pozytywne wyniki wstępnych badań dają nadzieję na ich skuteczność, a tym samym na zmianę historii naturalnej tej ciężkiej i nieuleczalnej choroby, stawiając nas przed nowy-

mi wyzwaniem. W pracy staramy się przedstawić aktualną wiedzę na temat patogenezы SMA, klasyfikacji, historii naturalnej oraz aktualnych prób leczenia.

KLASYFIKACJA SMA

Aktualną klasyfikację choroby przedstawiono w tabeli I. Rozszerza ona klasyczną klasyfikację wg Munsata (SMA1, 2 i 3) o dwie dodatkowe formy – SMA0 z początkiem objawów w okresie prenatalnym oraz postać dorosły – SMA4 [2]. SMA0 to postać bardzo rzadka, z objawami w okresie życia płodowego i złym rokowaniem [3]. Słabe ruchy dziecka notowane są przez matki już w okresie prenatalnym. Po urodzeniu stwierdza się wiotkość, arefleksję, całkowity lub niemal całkowity brak ruchów czynnych, często artrogrypozę. W pierwszych minutach-dniach życia rozwija się niewydolność oddechowa. Choroba związana jest ze skrajnym niedoborem białka *SMN*. Po przeciwnej stronie osi ciężkości zachorowania znajduje się postać dorosłych – SMA4, z początkiem objawów zwykle w 3 dekadzie życia [4]. Charakteryzuje się powoli postępującym osłabieniem mięśni proksymalnych, głównie czworogłowych, z dobrym rokowaniem co do życia i zachowaną wydolnością oddechową. Nowością w aktualnej klasyfikacji jest podział postaci pierwszej i trzeciej na podtypy a, b, c, w zależności od wieku wystąpienia pierwszych objawów [5]. Wiąże się to z obserwacją, że wcześniejszy początek decyduje zwykle o cięższym przebiegu choroby. Wydaje się, że wprowadzony podział stanowi wypadkową pomiędzy zbyt ogólnym podziałem na formy podstawowe i zbyt szczegółowym i trudnym w codziennej praktyce podziałem wg Dubowitza (1.1-1.9, 2.1-2.9, 3.1-3.9, 4). Należy jednocześnie pamiętać, że fenotyp SMA stanowi kontinuum od formy wrodzonej, po postaci dorosłe, a nawet przypadki asymptomatyczne [6]. Tym samym w obrębie każdej z form będziemy obserwowali przypadki o łagodniejszym i cięższym przebiegu, a także te z pogranicza – nie dające się zakwalifikować jednoznacznie do żadnej z podstawowych grup.

EPIDEMIOLOGIA

Największe jak dotąd badania nad epidemiologią SMA przeprowadzono w USA, na wieloetnicznej grupie 68478 osób [7]. Wykazały one częstość nosicielstwa SMA w populacji ogólnej 1:54 osoby oraz zapadalność około 1 na 11 tysięcy urodzeń. Obserwowano duże różnice częstości nosicielstwa w zależności od rasy – najwyższą w rasie kaukaskiej (2,02%), najniższą wśród Afroamerykanów (0,98%). Pozostaje to w zgodzie z nowo opublikowanymi badaniami nad epidemiologią SMA w Europie prowadzonymi w okresie 2011-2015, wskazującymi na częstość zachorowania około 1 na 3900 do 1 na 16000 [8]. W Polsce w tym okresie zdiagnozowano 240 przypadków SMA (w samym 2015 roku- 54 chorych), co odpowiada częstości zachorowania około 1: 8300 urodzeń (12: 10⁵). Polskie badania zakończone w 2010 roku wskazywały na częstość nosicielstwa 1:35 oraz zachorowalność 1: 9320 w skali kraju i 1 na 7127 w Warszawie, co sugerowało że część pacjentów wciąż pozostaje bez właściwej diagnozy [9].

HISTORIA NATURALNA

Rdzeniowy zanik mięśni charakteryzuje się szerokim spektrum wieku zachorowania, nasilenia objawów, ciężkości przebiegu i występujących powikłań. Tym samym historia naturalna choroby jest bardzo zróżnicowana. Przebieg choroby zależy też do pewnego stopnia od jakości opieki, profilaktyki- przede wszystkim fizjoterapii i leczenia powikłań. Prowadzone w ostatnich latach badania umożliwiają jednak wysnuć pewnych wniosków i zależności. W postaci SMA1 wcześniejszy wiek wystąpienia objawów związany jest z gorszym rokowaniem i krótszym okresem przeżycia (dzieci z postacią 1b żyją krócej niż z 1c). Wśród dzieci z SMA1 liczba kopii genu *SMN2* stanowi silny biomarker – krzywa przeżycia jest krótsza u chorych z 2 kopiami *SMN2*. Mediana wieku przeżycia lub wieku wprowadzenia sztucznej wentylacji (>16 godzin na dobę) wynosi 13,5 miesiąca [10]. Okres ten skraca się do 10,5 miesiąca dla dzieci z 2 kopiami *SMN2*. Trzeba jednak dodać, że dane te pochodzą z ośrodka, w którym stosowano leczenie proaktywne (przedobjawowe mechaniczne oczyszczanie dróg oddechowych za pomocą asystora kaszlu, NIV, żywienie przez sondę lub PEG). Starsze publikacje oraz prace z ośrodków, w którym prowadzono jedynie leczenie paliatywne, wskazują na medianę przeżycia około 6–7 miesięcy dla SMA1 [11, 12]. Według badań australijskich szansa przeżycia 1, 2, 4 i 10 lat dla dzieci z SMA1 wynosi odpowiednio 40%, 25%, 6% i 0% [13]. Polsko-niemieckie badania z 2002 roku wskazywały z kolei, że około 10% pacjentów z SMA1 dożywa 5. roku życia [14]. Wsparcie oddechu i odżywienia wydłuża okres przeżycia o miesiące i lata, ale za cenę pełnej zależności od gastrostomii oraz NIV/IV, przy braku poprawy funkcji motorycznych [15]. Rokowanie co do czasu przeżycia dla pacjentów z postacią 2 jest znacznie lepsze. Około 93% chorych dożywa 25 roku życia, a około 52% – 40 roku życia. Krzywa przeżycia dla pacjentów z formą 3 i 4 wydaje się nie odbiegać od przeciętnej w populacji. W przeciwieństwie do pacjentów z postacią ostrą, chorzy z formami przewlekłymi mogą nabywać nowe umiejętności ruchowe. U pacjentów niechodzących poprawa funkcjonalna następuje zwykle do 4-5 roku życia, w okresie między 5 i 15 rokiem życia obserwuje się często pogorszenie, po którym następuje stabilizacja funkcji ruchowych [16]. Dla pacjentów chodzących najtrudniejszy wydaje się wiek dojrzewania (skoku wzrostowego), w którym wielu chorych traci zdolność samodzielnego chodzenia. Prawdopodobieństwo zachowania zdolności samodzielnego chodzenia po 10, 20 i 40 latach trwania choroby wynosi odpowiednio 73%, 44% i 34% dla grupy 3a oraz 97%, 89% i 67% dla grupy 3b [17].

STANDARDY OPIEKI

Postępujące osłabienie siły mięśniowej, obserwowane w SMA, skutkuje wystąpieniem szeregu powikłań ze strony układu oddechowego (upośledzony odruch kaszlu, niewydolność oddechowa), pokarmowego (refluks żołądkowo-przełykowy, zaburzenia połykania, niedożywienie-otyłość), kostno-szkieletowego (skolioza, przykurcze stawowe, zwłknięcie stawów biodrowych) i wielu innych. Jakość opieki i profilaktyka powikłań zdecydowanie wydłużają okres przeżycia oraz poprawiają jakość

funkcjonowania pacjentów. Z tego powodu tak istotne wydaje się wprowadzenie jednolitych kryteriów opieki w SMA na całym świecie. Pierwsze standardy opieki zostały opracowane przez międzynarodową grupę specjalistów w dziedzinie SMA i opublikowane w 2007 roku [18]. W bieżącym roku ukazała się nowelizacja wytycznych postępowania [19]. Zalecenia obejmują szereg zagadnień (klasyfikacja i historia naturalna, diagnostyka i genetyka, postępowanie u pacjentów nowo zdiagnozowanych, opieka pulmonologiczna, szczepienia, antybiotykoterapia, opieka gastroenterologiczna, opieka ortopedyczna i fizjoterapia, objawy ze strony innych narządów, problemy etyczne i opieka paliatywna), których dokładne omówienie wykracza za ramy artykułu. Poniżej przedstawiono najważniejsze zalecenia.

DIAGNOSTYKA

W chwili obecnie diagnostyka rdzeniowego zaniku mięśni opiera się o badanie genetyczne. Złotym standardem jest badanie ilościowe z równoległą oceną liczby kopii genu *SMN1* i *SMN2*. Stosowane dotąd badanie w kierunku delekcji eksonu 7 genu *SMN1* stanowi niezbędne minimum. W przypadku zachowanej jednej kopii *SMN1* u pacjenta z podejrzeniem SMA, wskazana jest diagnostyka w kierunku mutacji punktowych. Brak mutacji punktowej nie wyklucza SMA zależnego od *SMN1* (mutacje intronowe). W przypadkach, w których nie stwierdzono mutacji genu *SMN1* zaleca się ponowną analizę fenotypu oraz badania elektrofizjologiczne. Ocena liczby kopii genu *SMN2* jako czynnika prognostycznego jest kontrowersyjna, np. 3 kopie genu *SMN2* stwierdza się zarówno pacjentów z postacią 1 jak i 3.

POSTĘPOWANIE U PACJENTÓW NOWO ZDIAGNOZOWANYCH

Rozmowę powinien przeprowadzić neurolog dziecięcy lub genetyk kliniczny. W trakcie pierwszej wizyty należy rodzicom wyjaśnić patogenezę procesu chorobowego, klasyfikację SMA i postawione rozpoznanie kliniczne, omówić wstępne prognozy. Lekarz powinien przedstawić wielodyscyplinarne potrzeby pacjenta i konieczność udziału różnych specjalistów w dalszej opiece nad dzieckiem, w tym: neurologa dziecięcego/specjalisty chorób nerwowo-mięśniowych, genetyka klinicznego, pulmonologa, gastroenterologa, dietetyka, ortopedy, fizjoterapeuty.

Lekarz powinien poinformować o działających organizacjach pacjenckich i grupach wsparcia (<http://www.fsma.pl/>, <http://www.treat-nmd.eu/care/sma/family-guide-translations/>; Polski Rejestr Pacjentów z Chorobami Nerwowo-Mięśniowymi <http://neurologia1.wum.edu.pl/node/115>), prowadzonych próbach lekowych lub przekierować do odpowiednich stron internetowych (www.clinicaltrials.gov). Lekarz POZ (pediatra, lekarz rodzinny) powinien być w pełni poinformowany o wielodyscyplinarnych potrzebach pacjenta i pełnić rolę koordynującą w dalszej opiece. Cennym źródłem informacji nt. opieki nad pacjentem z SMA1 jest poradnik „Z SMA 1 na co dzień: Vademecum opieki nad dzieckiem z najcięższą postacią rdzeniowego zaniku mięśni” pod redakcją Chiary Mastella i Giancarlo Ottonello (<https://drive.google.com/file/d/0B4wCxOzd->

[dXxIQ042WTFITEJ5dzgwQmQ4R29GX3E5anQ2bVhZ/view](https://drive.google.com/file/d/0B4wCxOzd-dXxIQ042WTFITEJ5dzgwQmQ4R29GX3E5anQ2bVhZ/view)), wydany w j. polskim przez Fundację SMA.

PROBLEMY ODDECHOWE I ICH MONITOROWANIE

Oslabienie siły mięśniowej u pacjentów z SMA prowadzi do szeregu zaburzeń ze strony układu oddechowego, w tym do upośledzenia kaszlu (z zaleganiem wydzieliny, śliny i niemożnością usunięcia treści pokarmowej), hipowentylacji nocnej, nieprawidłowy rozwój płuc i ścian klatki piersiowej (dzwonowata klatka piersiowa), skoliozy i nawracających infekcji dróg oddechowych. Z tego powodu pacjent z rozpoznaniem SMA powinien być pod stałą opieką pulmonologiczną. Zaleca się ocenę wydolności oddechowej co 3-6 miesięcy (częściej u pacjentów z SMA1, rzadziej w SMA3). W postaci ostrej lepsze wyniki uzyskuje się w odniesieniu do narastającej przewlekłej niewydolności oddechowej stosując tzw. interwencje proaktywne. Oznaczają wdrożenie wentylacji nieinwazyjnej lub inwazyjnej oraz stosowanie asystora kaszlu [15, 19, 20]. Wentylacja nieinwazyjna umożliwia komunikację, a w przypadku małych dzieci jest warunkiem rozwoju mowy [15, 20]. Decyzje dotyczące wyboru pomiędzy postępowaniem paliatywnym a proaktywnym, szczególnie zastosowaniem wentylacji inwazyjnej należą do rodziców lub opiekunów prawnych dziecka. Muszą być wspartą informacją o przebiegu choroby i rokowaniu [18, 19].

ANTYBIOTYKI I SZCZEPIONIA

Wg standardów opieki zalecane są rutynowe szczepienia, z uwzględnieniem szczepienia przeciwko grypie i pneumokokom oraz immunoprofilaktyka zakażeń wirusem syncytium nabłonka oddechowego (RSV) (palivizumab). Ze względu na ryzyko powikłań infekcji oddechowych zalecane jest wczesne wprowadzanie antybiotykoterapii [19].

OPIEKA GASTROENTEROLOGICZNA

Zaburzenia odżywiania obserwuje się u 100% dzieci z SMA1 i około 40% pacjentów z postaciami przewlekłymi. U chorych obserwuje się niedobór wzrostu i wagi, niskie BMI, tendencję do osteoporozy. W postaciach przewlekłych częsta jest nadwaga. Z tego powodu pacjenci z SMA winni być pod opieką gastroenterologa i dietetyka. Zalecane jest stałe monitorowanie wzrostu/wagi, opieka dietetyczna (ocena podaży kalorycznej), suplementacja i monitorowanie stężenia witaminy D3 i wapnia, ew. monitorowanie poziomu albumin. W postaci pierwszej zaleca się leczenie proaktywne, czyli wsparcie odżywiania zanim pojawią się objawy niedożywienia. Uwzględnia ono założenie przezornej gastrostomii i wykonanie zabiegów antyrefluksowych [19].

OPIEKA ORTOPEDYCZNA I FIZJOTERAPIA

Ze względu na liczne powikłania ortopedyczne (skolioza, przykurcze, zwichnięcia stawu biodrowego) pacjenci z SMA powinni być pod opieką specjalistów tej dziedziny od jak najwcześniejszego wieku. Ryzyko rozwoju skoliozy jest bardzo wysokie. Gorsety zapewniają utrzymanie pozycji, ale nie hamują progresji skoliozy. Zalecane są zabiegi operacyjne, które winny być wykonane w określonym

czasie, kiedy skolioza nie jest jeszcze bardzo nasiloną. Zalecenia wskazują także na potrzebę stałej rehabilitacji oraz okresowe wykonywanie testów funkcjonalnych, celem oceny progresji choroby (CHOP INTEND w SMA1, *Hammersmith Functional Motor Scale Expanded* u pacjentów siedzących i test sześciomnutowego marszu (6MWT) u pacjentów poruszających się samodzielnie).

OBJAWY ZE STRONY INNYCH NARZĄDÓW

Nie stwierdzono częstszego zajęcia innych narządów w przebiegu SMA.

PROBLEMY ETYCZNE I OPIEKA PALIATYWNA

Nie wypracowano konsensusu dotyczącego opieki paliatywnej w SMA. Wydaje się, że względu na różnice kulturowe zalecenia te winny być wypracowywane lokalnie. Tak stało się w przypadku Włoch, gdzie organizacja pacjentka doprowadziła do powstania jednolitych zaleceń odnośnie wprowadzenia oddechu wspomaganego i stosowanych procedur [21].

PODŁOŻE MOLEKULARNE

Z patogenezą rdzeniowego zaniku mięśni związane są dwa bliźniaczo podobne geny: *SMN1* i *SMN2*. Za występowanie objawów choroby odpowiedzialne są mutacje genu *SMN1*, wśród których 96,5% stanowią delecje obu alleli genu [22]. U około 3 % chorych stwierdza się mutacje punktowe, występujące w układzie heterozygotycznym z delecją. Do chwili obecnej w populacji polskiej udało się zidentyfikować 7 małych mutacji. Najczęstszą z nich jest mutacja T274I w eksonie 6, związana z przewlekłymi formami SMA [23]. Gen *SMN2* pełni rolę modyfikatora fenotypu. Mutacje genu *SMN2* nie są patogenne i w postaci homozygotycznej delecji występują u około 10% zdrowej populacji [6]. Natomiast zwiększenie liczby kopii genu *SMN2*, na skutek duplikacji czy konwersji, łagodzi przebieg kliniczny SMA.

Geny *SMN1* i *SMN2* są bliźniaczo podobne [24]. Ich sekwencja funkcjonalnie różni się jedynie substytucją C w T w eksonie 7. U osób zdrowych oba geny – *SMN1* i *SMN2*, produkują białko SMN. U chorych na rdzeniowy zanik mięśni białko SMN powstaje tylko z zachowanego genu *SMN2*. Gen *SMN2*, na skutek jednonukleotydowej różnicy w eksonie 7, ulega alternatywnemu składaniu w trakcie obróbki potranskrypcyjnej. Substytucja C w T w kodonie 280 zmienia bowiem sekwencję wzmacniacza transkrypcji (ang. exonic splice enhancer, ESE), znosząc jego działanie. To z kolei powoduje wycięcie eksonu 7 w procesie składania pre-mRNA i praktycznie utratę funkcji białka *SMN*. Niewielka część transkryptu *SMN2* (około 10-20%) podlega prawidłowemu składaniu i produkuje pełnowartościowe białko *SMN*, funkcjonalnie i strukturalnie identyczne z produktem kopii *SMN1*.

Zwiększenie liczby kopii *SMN2* (poprzez duplikację lub konwersję *SMN1* do *SMN2*) może w pewnym stopniu kompensować niedobory związane z utratą genu *SMN1*, poprzez podwyższenie poziomu pełnowartościowego białka *SMN* w tkankach. Badania wykazały silną korelację między liczbą kopii *SMN2* a fenotypem choroby. Pa-

cjenci z formą ostrą mają zwykle 1 do 2 kopii, z postacią pośrednią od 2 do 3, a z formą łagodną 3–4 a nawet 5 i 6 kopii. [25–27] Wpływ liczby kopii genu *SMN2* nie tłumaczy jednak całkowicie zmienności fenotypowej (np. 3 kopie *SMN2* obserwuje się zarówno w *SMA1* jak i *SMA3*). Prawdopodobnie wynika to z faktu, że kopie *SMN2* nie są równoważne funkcjonalnie i produkują różną ilość pełnowartościowego białka *SMN*. Jest to związane z wpływem czynników epigenetycznych, przede wszystkim różnym wzorem metylacji *SMN2*. Wykazano, że stopień metylacji *SMN2* koreluje z nasileniem objawów SMA. Znacząco niższy poziom metylacji obserwowano u chorych z łagodną postacią SMA w porównaniu z chorymi z ciężką formą, przy tej samej liczbie *SMN2*.

Innym modyfikatorem fenotypu jest substytucja c.859G>C w eksonie 7 genu *SMN2* [28]. Opisano ją u kilku pacjentów, których łagodny fenotyp wybitnie nie korelował z liczbą *SMN2* (1 kopia *SMN2* u chorych z *SMA2* lub *SMA3*). Opisywana zmiana tworzy sekwencję nowego tzw. wzmacniacza transkrypcji (ang. exonic splice enhancer, ESE) w eksonie 7, tym samym zwiększając poziom pełnowartościowego białka *SMN* i łagodząc przebieg zachorowania.

Wśród czynników wpływających na przebieg choroby wymienia się także płeć. Zaobserwowano, że dziewczynki dwukrotnie rzadziej zachorowują na postać łagodną [29]. Z kolei przypadki bezobjawowej obuallelelicznej mutacji genu *SMN1* częściej dotyczą kobiet. U asymptomatycznych nosicielek delecji *SMN1*, których męskie rodzeństwo chorowało na SMA, stwierdzono nadekspresję płastyny 3, kodowanej przez gen *PLS3* zlokalizowany na chromosomie X [30].

Produktem ekspresji genów *SMN* jest białko *SMN*, które wraz z kilkoma innymi (geminami 2–8), tworzy wielobiałkowy kompleks, obecny zarówno w cytoplazmie w postaci rozproszonej, jak i w jądrze komórkowym. Najlepiej scharakteryzowaną funkcją kompleksu białka *SMN* jest jego udział w biogenezie snRNP (small nuclear ribonucleoproteins). snRNP są kluczowe dla rozpoznawania miejsc splicingowych i tym samym usuwania intronów z pre-mRNA. Od momentu odkrycia podstawowej funkcji białka *SMN* trwają dyskusje, dlaczego niedobór białka, pełniącego tak podstawową rolę w metabolizmie organizmu, wywołuje wybiórcze obumieranie motoneuronów rdzenia. Krytyczne znaczenie może mieć poziom białka *SMN* w tkankach. Z modelu zwierzęcego wiadomo, że całkowita utrata białka *smn* jest letalna w okresie płodowym. U myszy z knockoutem własnego genu *smn* i wprowadzonymi ludzkimi *SMN2* nasilenie objawów choroby zależy od liczby wprowadzonych kopii *SMN2*. Myszy z 2 kopiami chorują bardzo ciężko, te z ośmioma nie wykazują objawów SMA. Podobny rezultat uzyskuje się podwyższając ekspresję *SMN2* przy pomocy prionowego promotora tylko w obrębie OUN myszy z 2 kopiami *SMN2*. Myszy te są zdrowe. Wydaje się zatem, że większość tkanek wymaga niewielkiego poziomu *SMN* do prawidłowego funkcjonowania, podczas gdy ośrodkowy układ nerwowy potrzebuje go znacznie więcej. Aktualnie bierze się pod uwagę dwie teorie uzasadniające ten stan rzeczy. Jedną z nich zakłada,

że utrata białka *SMN*, odgrywającego istotną rolę w biogenezie snRNP, powoduje zaburzenie składania innego genu (lub genów), krytycznego dla funkcjonowania OUN. Badania na mysim modelu wskazują na zaburzenia składania puli genów zaangażowanych w tworzenie złącza nerwowo-mięśniowego [31]. Druga z teorii sugeruje, że białko *SMN* jest istotne dla transportu mRNA w neuronach, a jego niedobór powoduje zaburzenie wzrostu aksonów i prawidłowe tworzenie złącza nerwowo-mięśniowego.

PRÓBY TERAPEUTYCZNE

Od wielu dekad toczą się badania mające na celu opracowanie skutecznych terapii SMA. Proces opracowania koncepcji działania cząsteczki poprzez proces badań przedklinicznych i klinicznych czas do opracowania leku i wprowadzenia go na rynek jest długi, złożony i trwa zwykle dłużej niż dekadę [32]. Na rynek trafia zaledwie kilka (1-2%) opracowywanych substancji. Szczególnym wyzwaniem jest leczenie postępujących uwarunkowanych genetycznie chorób takich jak rdzeniowy zanik mięśni.

W przypadku SMA możliwe jest wiele kierunków badań prowadzących do opracowania leku. Jednym z nich jest próba „naprawy wadliwego genu”, która wydaje się drogą optymalną. Inne poszukiwania miały na celu opracowanie leku, który zwiększałby ilość białka *SMN*. Badane są także leki o działaniu protekcyjnym, chroniące motoneuron, czy też pobudzające regenerację mięśni oraz wiele innych. Informacje o prowadzonych lub planowanych badaniach klinicznych zawierające kluczowe dane takie jak rodzaj interwencji, kryteria włączenia i wyłączenia z badania, główne analizowane parametry oraz lista ośrodków uczestniczących w badaniu dostępne są na stronie internetowej: clinicaltrials.gov. Aktualnie zarejestrowano w SMA 98 badań, w tym badania historii naturalnej. Badania historii naturalnej polegające na ocenie przebiegu choroby przy pomocy walidowanych skal w predefiniowanych odstępach czasu są niezwykle ważne, ponieważ pomagają w projektowaniu przyszłych badań klinicznych leków, które przebieg choroby znacząco złagodzić [10, 13, 16].

W grudniu 2016r w Stanach Zjednoczonych, a w czerwcu 2017 r w Unii Europejskiej zarejestrowano pierwszy lek do leczenia SMA. Jest nim nusinersen (Spinraza®). Na prośbę FDA sponsor badania klinicznego oceniającego skuteczność i bezpieczeństwo nusinersenu u dzieci z SMA rozpoznanych w pierwszych 6 miesiącach życia, które rozpoczęły leczenie przed 7 miesiącem życia przedstawił wyniki analizy pośredniej (wykonanej przed zakończeniem badania klinicznego). Dostępne ocenie były wyniki 82 z 121 pacjentów biorących udział w tym badaniu. 40% otrzymujących nusinersen dzieci osiągnęło kolejne „kamienie milowe” rozwoju ruchowego, natomiast nie obserwowano postępu rozwoju ruchowego żadnego z dzieci otrzymujących placebo. Również pozytywne były wyniki badań otwartych prowadzonych zarówno u dzieci z przedobjawowym ostrym SMA, jak i pacjentów objawowych w wieku do 15 rż, którzy otrzymywali lek (<https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm534611.htm>). Wyniki te stały się podstawą pozytywnej decyzji rejestracyjnej nusinersenu do leczenia wszystkich postaci SMA.

Nusinersen należy do grupy modyfikowanych antysensownych oligonukleotydów (ASO). Antysensowne oligonukleotydy wpływają na proces składania (splicing) genów. Mogą w ten sposób modyfikować ekspresję poszczególnych genów [33]. Badania nad cząsteczkami należącymi do ASO dotyczą terapii wielu uwarunkowanych genetycznie chorób [34]. Wśród chorób nerwowo-mięśniowych m. in. w dystrofii mięśniowej typu Duchenne’a (DMD) prowadzone są badania nad tzw. pomijaniem eksonu (exon skipping). W DMD tego rodzaju terapia ma pozwolić na złagodzenie fenotypu choroby z DMD do przebiegu obserwowanego w dystrofii typu Beckera [35, 36].

Nusinersen u pacjentów z SMA działa modyfikując splicing pre-mRNA genu *SMN2*, tak aby pełnił funkcję uszkodzonego genu *SMN1*. Dzięki temu w komórkach neuronalnych może powstawać zwiększona ilość białka *SMN*, a w efekcie u znacznej części leczonych tym preparatem dochodzi do znacznego złagodzenia przebiegu choroby. W badaniu fazy 2 wykazano, że u dzieci w których objawy SMA wystąpiły w pierwszym półroczu życia i które otrzymały lek przed ukończeniem 7. miesiąca życia nabywają nowe umiejętności ruchowe ($p < 0.0001$), obserwowano znamienne poprawę ocenianą w skali CHOP-INTEND ($p = 0.0013$), zwiększa się amplituda odpowiedzi mięśniowej M rejestrowanej po stymulacji włókien ruchowych n. łokciowego ($p = 0.0103$) i strzałkowego ($p < 0.0001$), w porównaniu z wartościami wyjściowymi. W badaniu Nusinersen otwartym fazy 1, w którym podawano nusinersen pacjentom z SMA2 i SMA3 w wieku 2-14 lat odnotowano dobrą tolerancję nusinersenu. U otrzymujących lek w dawce 9 mg stwierdzono znamienne poprawę stanu ruchowego ocenianego w skali HFMSE po 3 miesiącach (o 3,1 punktu; $p = 0,016$), z dalszą poprawą o 5,8 punktów ($p = 0,008$) po 9-14 miesiącach od podania pierwszej dawki [37]. Kolejne pozytywne wyniki badań klinicznych nusinersenu były prezentowane w czasie konferencji Amerykańskiej Akademii Neurologii w kwietniu 2017 r (badanie ENDEAR przez Kuntz et al, CHERISH Mercuri et al, NURTURE De Vivo et al.) [38].

Kolejną potencjalną terapią SMA (AVXS-101) i obecnie jedyną rozwijaną klinicznie formą terapii genowej w SMA polega na wprowadzeniu do komórek sekwencji odpowiadającej genowi *SMN1* (transgen), z wykorzystaniem kapsydu wirusa AAV9 jako nośnika [38]. Badanie fazy 1 jest zarejestrowane na stronie ClinicalTrials.gov (NCT02122952), do którego włączono dzieci z SMA1 poniżej 6 miesiąca życia. Wg dotychczas upublicznionych wyników analizy pośredniej badania w wieku 13,6 miesięcy żadne z dzieci nie wymagało respiratora, 11/12 dzieci otrzymujących dużą dawkę leku osiągnęło ponad 40 punktów w skali CHOP-INTEND, zaś 9/12 powyżej 50 (zależnie od podanej dawki), ośmioro dzieci siedziało samodzielnie, dwoje pełzało, stało lub chodziło samodzielnie. Planowane są kolejne badania w SMA1 (w USA i EU) oraz SMA2 (w USA). (<http://investors.avexis.com/phoenix.zhtml?c=254285&p=irol-newsArticle&ID=2254564>).

Olesoksim jest lekiem o działaniu neuroprotekcyjnym podawanym doustnie. Zakończono badanie fazy 2 nie

osiągnęło wprawdzie pierwszorzędnym punktów końcowych w skali ruchowej MFM, jednak lek w porównaniu z placebo stabilizował funkcję w okresie 20letniej obserwacji. Szczególnie wyraźny i znamieny statystycznie był pozytywny wpływ olesoksimu na stan ruchowy w skali MFM u dzieci w wieku 6-15 lat [39].

Kolejną obiecującą substancją jest RG7916 (RO7034067). Należy do grupy tzw. małych molekuł mających modyfikować proces składania genu *SMN2*, w celu zwiększenia ekspresji białka *SMN*. Badania podstawowe wykazały selektywny wpływ cząsteczek na zwiększenie syntezy białka *SMN* w hodowli komórkowej. W modelu mysim SMA cząsteczki te wykazały dobrą biodostępność, a przede wszystkim pozytywny wpływ na przeżycie i funkcję ruchową zwierząt [40]. Aktualnie trwa rekrutacja do trzech badań klinicznych cząsteczki RG7916, w tym badania fazy 2 Firefish (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02913482) i Sunfish (NCT02908685) oceniające skuteczność i bezpieczeństwo odpowiednio u pacjentów z SMA1 i MSA2-3.

Branaplam (LMI070, NVS-SM1) jest kolejną obiecującą substancją, której działanie polega na zwiększaniu ekspresji białka *SMN* poprzez wpływ na gen *SMN2* [41]. Ze względu na działania niepożądane zaobserwowane u zwierząt otrzymujących bardzo wysokie dawki leku podjęto decyzję o redukcji dawki leku podawanej dzieciom w badaniu klinicznym co spowodowało szybkie narastanie objawów SMA, częściowo odwrócone po ponownym zwiększeniu dawki. Tymczasowo zawieszono rekrutację do badań fazy 1-2 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02268552), planowane jest kontynuowanie naboru pacjentów do badania.

Tirasemtiv jest szybkim aktywatorem troponiny zwiększającym wrażliwość kompleksu troponiny na Ca, co ma w efekcie poprawiać siłę mięśni i zmniejszać ich męczliwość. Tirasemtiv badany był dotychczas m.in. u pacjentów ze stwardnieniem bocznym zanikowym (SLA) i przewlekłą chorobą oskrzelowo-płucną. W badaniu fazy 2b w SLA nie wykazano pozytywnego wpływu leku na punkty końcowe badania [42]. Prowadzone jest aktualnie badanie u pacjentów z SMAII-IV (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02644668), którego zakończenie planowane jest w 2017 r.

PERSPEKTYWY

W grudniu 2016 miała miejsce przełomowa rejestracja pierwszego leku o udowodnionej skuteczności w SMA. Bardzo obiecujące są również toczące się obecnie badania kliniczne kolejnych cząsteczek mogących w znaczący sposób łagodzić przebieg choroby oraz badanie terapii genowej z zastosowaniem wektora wirusowego. Duże znaczenie mają także prowadzone badania historii naturalnej SMA. Pojawiających terapii, których skuteczność może zależeć od ich wczesnego wdrożenia, sprawia, że uzasadnione może być wprowadzenie powszechnych badań przesiewowych (skriningu) noworodków w kierunku SMA.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Lefebvre S., Burglen L., Reboullet S., et al.: Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*, 1995; 80: 155-165.
- [2] Munsat T.L., Davies K.E.: International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscul Disord*, 1992; 2: 423-428.
- [3] MacLeod M.J., Taylor J.E., Lunt P.W., et al.: Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol*, 1999; 3: 65-72.
- [4] Brahe C., Servidei S., Zappata S., et al.: Genetic homogeneity between childhood-onset and adult-onset autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet*, 1995; 346: 741-742.
- [5] Farrar M.A., Park S.B., Vucic S., et al.: Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol*, 2017; 81: 355-368.
- [6] Jędrzejowska M., Milewski M., Zimowski J., et al.: Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of *SMN2* gene copies, deletion in the *NAIP* gene and probably gender influence the course of the disease. *Acta Biochim Pol*, 2009; 56: 103-108.
- [7] Sugarman E.A., Nagan N., Zhu H., et al.: Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet*, 2012; 20: 27-32.
- [8] Verhaart I.E.C., Robertson A., Leary R., et al.: A multi-source approach to determine SMA incidence and research ready population. *J Neurol*, 2017; 264: 1465-1473.
- [9] Jędrzejowska M., Milewski M., Zimowski J., et al.: Incidence of spinal muscular atrophy in Poland—more frequent than predicted? *Neuroepidemiology*, 2010; 34: 152-7.
- [10] Finkel R.S., McDermott M.P., Kaufmann P., et al.: Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology*, 2014; 83: 810-817.
- [11] Melki J., Sheth P., Abdelhak S., et al.: Mapping of acute (type I) spinal muscular atrophy to chromosome 5q12-q14. The French Spinal Muscular Atrophy Investigators. *Lancet*, 1990; 336: 271-273.
- [12] Cobben J.M., Lemmink H.H., Snoeck I., et al.: Survival in SMA type I: a prospective analysis of 34 consecutive cases. *Neuromuscul Disord*, 2008; 18: 541-544.
- [13] Farrar M.A., Vucic S., Johnston H.M., et al.: Pathophysiological insights derived by natural history and motor function of spinal muscular atrophy. *J Pediatr*, 2013; 162: 155-159.
- [14] Borkowska J., Rudnik-Schoneborn S., Hausmanowa-Petrusewicz I., et al.: Early infantile form of spinal muscular atrophy (Werdnig-Hoffmann disease) with prolonged survival. *Folia Neuropathol*, 2002; 40: 19-26.
- [15] Bach J.R., Saltstein K., Sinquee D., et al.: Long-term survival in Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Phys Med Rehabil*, 2007; 86: 339-345.
- [16] Mercuri E., Finkel R., Montes J., et al.: Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: Implications for clinical trials. *Neuromuscul Disord* 2016; 26: 126-131.
- [17] Zerres K., Rudnik-Schoneborn S., Forrest E., et al.: A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients. *J Neurol Sci* 1997; 146: 67-72.
- [18] Wang C.H., Finkel R.S., Bertini E.S., et al.: Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol* 2007; 22: 1027-1049.
- [19] Finkel R.S., Sejersen T., Mercuri E., et al.: 218th ENMC International Workshop: Revisiting the consensus on standards of care in SMA Naarden, The Netherlands, 19-21 February 2016. *Neuromuscul Disord* 2017; 27: 596-605.
- [20] Bach J.R., Goncalves M.R., Hon A., et al.: Changing trends in the management of end-stage neuromuscular respiratory muscle failure: recommendations of an international consensus. *Am J Phys Med Rehabil* 2013; 92: 267-277.
- [21] Sansone V.A., Racca F., Ottonello G., et al.: 1st Italian SMA Family Association Consensus Meeting: Management and recommendations for respiratory involvement in spinal muscular atrophy (SMA) types I-III, Rome, Italy, 30-31 January 2015. *Neuromuscul Disord* 2015; 25: 979-989.

- [22] Jedrzejowska M., Wiszniewski W., Zimowski J., et al.: Application of a rapid non-invasive technique in the molecular diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA). *Neurol Neurochir Pol* 2005; 39: 89-94.
- [23] Jedrzejowska M., Gos M., Zimowski J.G., et al.: Novel point mutations in survival motor neuron 1 gene expand the spectrum of phenotypes observed in spinal muscular atrophy patients. *Neuromuscul Disord* 2014; 24: 617-623.
- [24] Farrar M.A., Johnston H.M., Grattan-Smith P., et al.: Spinal muscular atrophy: molecular mechanisms. *Curr Mol Med* 2009; 9: 851-862.
- [25] Feldkotter M., Schwarzer V., Wirth R., et al.: Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 358-368.
- [26] Wirth B., Brichta L., Schrank B., et al.: Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Hum Genet*, 2006; 119: 422-428.
- [27] Mailman M.D., Heinz J.W., Papp A.C., et al.: Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med* 2002; 4: 20-26.
- [28] Bernal S., Alias L., Barcelo M.J., et al.: The c.859G>C variant in the SMN2 gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet* 2010; 47: 640-642.
- [29] Hausmanowa-Petrusewicz I., Zaremba J., Borkowska J., et al.: Chronic proximal spinal muscular atrophy of childhood and adolescence: sex influence. *J Med Genet*, 1984; 21: 447-450.
- [30] Oprea G.E., Krober S., McWhorter M.L., et al.: Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008; 320: 524-527.
- [31] Zhang Z., Pinto A.M., Wan L., et al.: Dysregulation of synaptogenesis genes antecedes motor neuron pathology in spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013; 110: 19348-19353.
- [32] Cherry J.J., Kobayashi D.T., Lynes M.M., et al.: Assays for the identification and prioritization of drug candidates for spinal muscular atrophy. *Assay Drug Dev Technol* 2014; 12: 315-341.
- [33] Potaczek D.P., Garn H., Unger S.D., et al.: Antisense molecules: A new class of drugs. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1334-1346.
- [34] Sardone V., Zhou H., Muntoni F., et al.: Antisense Oligonucleotide-Based Therapy for Neuromuscular Disease. *Molecules* 2017; 22(4): 10.3390/molecules22040563
- [35] Goemans N.M., Tulinius M., J.T. van den Akker, et al.: Systemic administration of PRO051 in Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 2011; 364: 1513-1522.
- [36] Mendell J.R., Rodino-Klapac L.R., Sahenk Z., et al.: Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013; 74: 637-647.
- [37] Chiriboga C.A., Swoboda K.J., Darras B.T., et al.: Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology* 2016; 86: 890-897.
- [38] Dulsat C.,: American Academy of Neurology - 69th Annual Meeting (April 22-28, 2017 - Boston, Massachusetts, USA). *Drugs Today (Barc)* 2017; 53: 309-319.
- [39] Bertini E., Dessaud E., Mercuri E., et al.: Safety and efficacy of olesoxime in patients with type 2 or non-ambulatory type 3 spinal muscular atrophy: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Neurol*, 2017; 16: 513-522.
- [40] Naryshkin N.A., Weetall M., Dakka A., et al.: Motor neuron disease. SMN2 splicing modifiers improve motor function and longevity in mice with spinal muscular atrophy. *Science* 2014; 345: 688-693.
- [41] Calder A.N., Androphy E.J., Hodgetts K.J.: Small Molecules in Development for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *J Med Chem* 2016; 59: 10067-10083.
- [42] Shefner J.M., Wolff A.A., Meng L., et al.: A randomized, placebo-controlled, double-blind phase IIb trial evaluating the safety and efficacy of tirasemtiv in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2016; 17: 426-435.

Correspondence:

Anna Kostera-Pruszczyk, Klinika Neurologii WUM, ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa, akostera@wum.edu.pl

