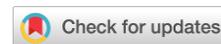


М.А. Маретина, А.В. Киселев,
А.В. Ильина, А.А. Егорова, А.С. Глотов, О.Н. Беспалова,
В.С. Баранов, И.Ю. Коган



НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Современные тенденции в диагностике, скрининге и лечении спинальной мышечной атрофии

Спинальная мышечная атрофия (СМА) является одним из наиболее тяжелых наследственных нервно-мышечных заболеваний и одной из основных причин младенческой смертности, вызванной наследственными заболеваниями. Являясь моногенным заболеванием, СМА характеризуется широким спектром фенотипов, в основе которых лежит влияние генетических модификаторов заболевания. Данные модификаторы определяют развитие более тяжелой или более легкой формы заболевания и могут выступать в качестве потенциальных мишеней его терапии. На сегодняшний день существуют три сертифицированных препарата для терапии СМА, действие двух из них направлено на транскрипт основного модификатора заболевания — гена *SMN2*. С появлением эффективной терапии актуальным становится вопрос скрининга новорожденных с целью раннего выявления пациентов и начала лечения СМА на пресимптоматической фазе для достижения максимальной эффективности препаратов. Помимо неонатального скрининга, важным становится вопрос скрининга новорожденных с целью раннего выявления пациентов и начала лечения СМА на пресимптоматической фазе для достижения максимальной эффективности препаратов. Помимо неонатального скрининга, важную роль играет популяционный скрининг, результатом которого может быть снижение частоты рождения детей, больных СМА.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия, диагностика заболеваний, скрининг заболеваний, терапия генетических заболеваний, нейродегенеративные заболевания

Для цитирования: Маретина М.А., Киселев А.В., Ильина А.В., Егорова А.А., Глотов А.С., Беспалова О.Н., Баранов В.С., Коган И.Ю. Современные тенденции в диагностике, скрининге и лечении спинальной мышечной атрофии. *Вестник РАМН*. 2022;77(2):87–96. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1768>

87

Введение

Спинальная мышечная атрофия (СМА) — тяжелое заболевание с аутомно-рецессивным типом наследования, поражающее альфа-мотонейроны спинного мозга. СМА является одной из самых частых причин детской смертности во всем мире, вызванной наследственными заболеваниями, и занимает второе место после миодистрофии Дюшенна по распространенности среди наследственных нервно-мышечных заболеваний [1]. Частота заболевания составляет 1 на 6–10 тыс. новорожденных, частота носительства мутантного аллеля — 1:40–1:50 [2].

Причиной развития СМА являются мутации гена выживаемости мотонейронов *SMN1* (survival of motor neuron), в результате которых происходит дегенерация мотонейронов передних рогов спинного мозга, приводящая к атрофии проксимальной мускулатуры [3]. У данного гена есть высокоомологичный паралог — ген *SMN2*, который отличается от гена *SMN1* 10 синонимичными заменами и 5-нуклеотидной вставкой [4]. Критической является замена цитозина на тимин в 6-м положении 7-го экзона гена *SMN2*, которая не изменяет аминокислотную последовательность белка, однако приводит к нарушению сплайсинга. В результате замены C > T

М.А. Maretina, A.V. Kiselev, A.V. Ilina, A.A. Egorova, A.S. Glotov,
O.N. Bepalova, V.S. Baranov, I.Yu. Kogan

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott,
Saint Petersburg, Russian Federation

Current Trends in the Diagnosis, Screening and Treatment of Spinal Muscular Atrophy

Spinal muscular atrophy is one of the most severe hereditary neuromuscular diseases and one of the main causes of infant mortality caused by hereditary diseases. Being a monogenic disease, SMA is characterized by a wide range of phenotypes, which are based on the influence of genetic modifiers of the disease. These modifiers determine the development of a more severe or milder form of the disease and can act as potential targets of disease therapy. To date, there are three certified drugs for the treatment of SMA, the action of two of them is directed at the transcript of the main modifier of the disease — the *SMN2* gene. With the advent of effective therapy, the issue of screening newborns for the purpose of early detection of patients and the beginning of treatment of SMA at the presymptomatic phase to achieve maximum effectiveness of drugs becomes relevant. In addition to neonatal screening, population screening plays an important role, which may result in a decrease in the frequency of births of children with SMA.

Keywords: Spinal muscular atrophy, diagnosis of diseases, screening of diseases, therapy of genetic diseases, neurodegenerative diseases

For citation: Maretina MA, Kiselev AV, Ilina AV, Egorova AA, Glotov AS, Bepalova ON, Baranov VS, Kogan IYu. Current Trends in the Diagnosis, Screening and Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(2):87–96. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1768>

происходит, по одной из гипотез, исчезновение сильно-го энхансера сплайсинга, по другой — возникновение репрессора сплайсинга [5, 6]. В результате 90% зрелых транскриптов гена *SMN2* лишены 7-го экзона, что приводит к синтезу укороченного функционально неактивного белка SMN [7]. При этом 10% транскриптов гена *SMN2* отвечает за синтез функционального белка, делая ген *SMN2* основным источником белка SMN, необходимого для выживания мотонейронов у больных СМА. Было показано, что число копий гена *SMN2* может варьировать от 1 до 5 и более на геном, при этом существует обратная корреляция между количеством копий гена *SMN2* и тяжестью заболевания, что делает ген *SMN2* главным модулятором тяжести СМА [8].

СМА представляет собой высокогетерогенное заболевание и условно подразделяется на пять типов в зависимости от времени проявления и тяжести симптомов, которые представлены широким спектром плавно переходящих форм [9]. Самой тяжелой формой является СМА 0 типа — эмбриональная форма — при которой плод погибает до или вскоре после рождения. СМА I типа (болезнь Вердинга—Гоффмана) составляет примерно половину всех случаев заболевания и выступает основной причиной неонатальной смертности, обусловленной генетическими патологиями [10]. У пациентов со СМА I типа первые симптомы появляются до 6-месячного возраста, младенцы не способны держать голову и сидеть. Продолжительность их жизни составляет не более двух лет по причине развития заболеваний легких вследствие слабости межреберных мышц и диафрагмы. Для пациентов с I формой СМА характерно, как правило, наличие одной или двух копий гена *SMN2*. Больные со СМА II типа способны сидеть, однако не могут самостоятельно стоять и ходить. Первые симптомы появляются в первые 6–18 мес жизни. Пациенты с данным типом СМА живут примерно до 25–40 лет [11]. Пациенты со СМА II типа имеют обычно три копии гена *SMN2*. У пациентов с III формой СМА первые симптомы появляются после 18 мес, они способны ходить, используя поддержку, продолжительность жизни сокращена примерно на четверть от нормальной [11]. У больных со СМА III типа обнаруживают, как правило, три или четыре копии гена *SMN2*. Продолжительность жизни пациентов с самой легкой формой заболевания (СМА IV типа) не отличается от продолжительности жизни здоровых людей, первые симптомы заболевания начинают проявляться после 20 лет, и они выражены очень слабо [9]. Пациенты с взрослыми формами СМА встречаются значительно реже пациентов с детскими формами заболевания.

Разделение на типы СМА достаточно условно, и не всегда можно однозначно определить форму заболевания. На сегодняшний день ключевым критерием, на основе которого классифицируют СМА, является достижение моторных функций у пациентов и в меньшей степени — возраст появления первых симптомов и число копий гена *SMN2* [12].

В основе всех форм СМА лежит поражение мотонейронов по причине недостатка функционально активной формы белка SMN. К функциям белка SMN относятся участие в биогенезе малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП), необходимых для сплайсинга гена, а также специфические для мотонейронов функции, такие как транспорт мРНК по аксонам и участие в работе нервно-мышечного синапса. Мотонейроны пациентов со СМА характеризуются уменьшением скорости роста и размеров аксонов, потерей нервных окончаний, на-

коплением нейрофиламентов в области синапса, нарушением генерации и передачи потенциала действия, за которыми следуют гибель мотонейронов и уменьшение размера мышечных волокон [13–15]. Последнее время появляется все больше свидетельств того, что СМА не является исключительно болезнью моторных нейронов. Особенно при тяжелых формах СМА было зарегистрировано первичное поражение дополнительных тканей и органов, в частности сердца, скелетной мускулатуры, поджелудочной железы, печени, головного мозга, сосудов и др. [16, 17].

Несмотря на то что генетическая природа СМА давно известна и выявлен основной модификатор тяжести заболевания, встречается много дискордантных случаев, при которых количество копий гена *SMN2* не может объяснить возникновение того или иного фенотипа СМА. Кроме того, на протяжении многих лет исследований обнаруживаются все новые молекулярные пути и факторы, вовлеченные в развитие заболевания [18]. Например, было показано, что одним из ключевых процессов, нарушенных при СМА, является эндоцитоз, при этом гиперэкспрессия гена — регулятора динамики актинового цитоскелета *PLS3* или снижение уровня экспрессии гена *NCALD* способны восстановить данный процесс и привести к смягчению тяжести СМА [19, 20].

Особый интерес среди модификаторов тяжести СМА занимает метилирование ДНК. Показана связь метилирования с функционированием нервной системы и развитием различных нейродегенеративных заболеваний [21, 22]. Вовлеченность данного фактора в патогенез СМА была продемонстрирована в 2009 г. J. Hauke et al., которые выявили связь между уровнем метилирования CpG-динуклеотидов промоторной области гена *SMN2* и тяжестью заболевания [23]. Впервые проведенный нами полногеномный анализ метилирования у больных с тяжелой (I–II) и легкой (III–IV) формами СМА в сравнении со здоровыми индивидами соответствующего возраста позволил обнаружить значимые различия в уровне метилирования CpG-сайтов в 40 генах для двух анализируемых групп [24]. Многие белковые продукты выявленных генов имеют функции, которые могут быть связаны с тяжестью СМА: к таким функциям относится участие в аксональном транспорте, нейритогенезе, взаимодействие с белком SMN и др. Последующий анализ метилирования у пациентов с разной тяжестью СМА позволил подтвердить выявленные различия для ряда генов [25, 26]. В работе J. Hauke et al. было показано, что метилирование может выступать в качестве мишени для терапии заболевания. Так, воздействие деметилирующими агентами на культуру фибробластов, полученных от пациентов со СМА, приводило к повышению уровня полноразмерных транскриптов и белка SMN [23].

Также было продемонстрировано повышение эффективности антисмысловых олигонуклеотидов (АСО), направленных на пре-мРНК гена *SMN2*, при их использовании в сочетании с действием на другие модификаторы СМА, в частности с подавлением активности гена *NCALD* или гиперэкспрессией *PLS3* [20, 27, 28]. Эти данные указывают на важность изучения модификаторов тяжести СМА, которые могут выступать в качестве потенциальных мишеней терапии заболевания, в том числе в сочетании с существующими препаратами.

На сегодняшний день в России зарегистрировано три препарата для терапии спинальной мышечной атрофии: Нусинерсен («Спинраза»), Онасемноген абепарвовек («Золгенсма») и Рисдиплам («Эврисди»). Данная терапия

является поддерживающей и не способна восполнить утраченные мотонейроны, поэтому указанные препараты демонстрируют наибольшую эффективность в случае раннего начала терапии — до начала массовой потери альфа-мотонейронов. Сейчас разработан ряд надежных генетических методов для диагностики СМА на пре- и постнатальных этапах развития.

Молекулярная диагностика спинальной мышечной атрофии

В 95% СМА вызвана гомозиготными делециями в гене *SMN1*, захватывающими область 7-го экзона, поэтому для постановки диагноза СМА в первую очередь проводят анализ делеций 7-го экзона гена *SMN1*. На ранних этапах развития диагностики СМА основными методами анализа были ПЦР-ПДРФ (анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов) и анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК (single strand conformation polymorphism, SSCP), которые позволяли провести лишь качественную оценку наличия гена *SMN1* [3, 29, 30]. С развитием молекулярных методов оптимальными для анализа делеций 7-го экзона гена *SMN1* стали мультиплексная амплификация лигированных зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) и количественная ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), позволяющие выявлять гетерозиготное носительство СМА и проводить количественную оценку числа копий генов *SMN1* и *SMN2*.

Особенность диагностики мутаций в гене *SMN1* — наличие высокомолекулярной последовательности гена *SMN2*. В связи с этим для повышения специфичности анализа используют модификации зондов для ПЦР-РВ с помощью MGB-групп (minor groove binder, MGB) или зашелкнутых LNA-нуклеотидов (locked nucleic acid, LNA), а в случае MLPA зонды располагают таким образом, чтобы сайт их лигирования приходился на однонуклеотидную замену в 7-м экзоне, позволяющую различить гены *SMN1* и *SMN2* [31, 32]. Примерно в 5% случаев причиной развития СМА являются компаундные мутации, при которых на одной хромосоме обнаруживается делеция, а на другой — точечная мутация в гене *SMN1* [33]. При наличии у пациента симптомов СМА и выявлении делеций в гене *SMN1* в гетерозиготном состоянии проводят секвенирование кодирующей последовательности и регуляторных областей данного гена.

Первая диагностика СМА в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (НИИ АГиР им. Д.О. Отта) была проведена в 1998 г., а к 2021 г. более 543 семей были обследованы в стенах института на наличие мутаций в гене *SMN1* и для 297 из них был подтвержден диагноз СМА. При этом среди направленных на диагностику пробандов у 219 возраст не достигал одного года, и для 131 из них был установлен диагноз СМА. Пациентам с подтвержденным диагнозом СМА дополнительно проводится анализ числа копий гена *SMN2*, который в сочетании с клиническими данными позволяет сделать прогноз вероятности развития той или иной формы СМА, а также необходим для оценки предполагаемой эффективности терапии препаратами, воздействующими на продукт гена *SMN2* [34].

При выявлении больного СМА тест на гетерозиготное носительство мутаций в гене *SMN1* рекомендован в первую очередь родителям пробанда, а также его ближайшим родственникам. При подтверждении у родителей носи-

тельства гетерозиготной мутации в гене *SMN1* вероятность рождения ребенка с диагнозом СМА составляет 25%, в связи с чем проводится пренатальная диагностика (ПД) у плода после хорион-биопсии на сроке 9–12 нед. В последние годы также активно развивается метод неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) моногенных болезней, в том числе СМА, основанный на анализе внеклеточной ДНК плода в крови матери [35, 36]. Благодаря совершенствованию методов диагностики и способов биопсии стало возможным развитие эмбриона с заведомо исключенным диагнозом в результате проведения преимплантационной генетической диагностики (ПГД) эмбрионов. Такой анализ проводится в результате биопсии единичных бластомеров у 8–10-клеточных эмбрионов (3-й день эмбрионального развития) или нескольких клеток трофобласта у эмбрионов на стадии бластоцисты (5-й день эмбрионального развития), не приводя к ущербу эмбриона [37]. Для повышения достоверности результата ПГД используют как прямые методы, направленные на непосредственное выявление делеций 7-го экзона гена *SMN1*, так и косвенные методы анализа молекулярных маркеров, сцепленных с мутантным геном [38]. Впервые в России прямая пренатальная диагностика СМА была проведена в НИИ АГиР им. Д.О. Отта в 1999 г., с 2014 г. в институте также доступно преимплантационное генетическое тестирование СМА. На сегодняшний день в НИИ АГиР им. Д.О. Отта успешно проведены более 100 ПД и 2 ПГД СМА.

Несмотря на очевидные преимущества проведения ПГД в семьях с высоким риском рождения больного ребенка со СМА, данный подход имеет также ряд недостатков, к которым относятся методические трудности работы с малым количеством материала, высокая стоимость анализа, который неразрывно связан с дорогостоящей процедурой ЭКО. При проведении прямой диагностики существует риск контаминации, тогда как для анализа сцепления необходима ДНК больного пробанда, позволяющая определить, с какими именно молекулярными маркерами сцеплены мутантные варианты гена. Также, учитывая высокую нестабильность региона СМА ввиду наличия большого количества повторяющихся последовательностей, псевдогенов и ретротранспозонных элементов, для данного локуса характерна повышенная частота конверсий, которые могут приводить к замене нескольких экзонов или всего гена *SMN1* геном *SMN2* [39–42]. Появление таких мутаций на ранних этапах эмбриогенеза является причиной мозаицизма и может приводить к несоответствию генотипа развивающегося плода результатам ПГД.

С целью ранней профилактики СМА целесообразно проводить анализ носительства мутаций в гене *SMN1* у супружеских пар. В НИИ АГиР им. Д.О. Отта с 2008 г. разработана и активно используется генетическая карта репродуктивного здоровья (ГКРЗ), предусматривающая генетическое тестирование будущих родителей для исключения наиболее частых наследственных заболеваний [43]. В связи с рецессивным типом наследования СМА тестирование на носительство данного заболевания на первом этапе может быть проведено только у одного из будущих родителей. Однако существует риск ложноотрицательного результата на носительство СМА, обусловленный наличием двух или более копий гена *SMN1* на одной хромосоме. Частота встречаемости аллелей с несколькими копиями гена *SMN1* варьирует в зависимости от этнической принадлежности; так, у некоторых национальностей значительно повышена

частота аллелей 2+0 и 3+0, что существенно увеличивает риск ложноотрицательного результата на гетерозиготное носительство СМА [44]. Также классические методы анализа делеций не позволяют детектировать аллели с точечными мутациями в гене *SMN1*, которые в компании с делециями также могут стать причиной развития СМА [45]. В 2% случаев причиной СМА являются мутации *de novo* [46, 47].

Патогенетическая терапия спинальной мышечной атрофии

С открытием генетической природы СМА стало возможным создание клеточных и животных моделей заболевания, что способствовало прогрессу в разработке подходов к терапии СМА. Выявление обратной корреляции между числом копий гена *SMN2* и тяжестью СМА, а также результаты исследований на трансгенных мышцах с нокаутированным геном *Smn*, демонстрирующие более легкое течение заболевания при увеличении числа копий гена *SMN2*, позволили сделать вывод о том, что повышение уровня экспрессии гена *SMN2* способствует смягчению фенотипа СМА. Одним из первых препаратов, для которого было обнаружено влияние на РНК гена *SMN2*, является вальпроевая кислота (ВК). После воздействия ВК на культуры фибробластов, полученных от пациентов со СМА, было показано значимое увеличение уровня полноразмерной мРНК и белка SMN в результате повышения уровня экспрессии фактора Htra2-β1 и SR-белков, необходимых для корректного сплайсинга гена *SMN2* [48]. Кроме того, являясь ингибитором деацетилаз гистонов, ВК обеспечивает более релаксированную структуру хроматина, облегчая таким образом доступ транскрипционным факторам к промотору гена *SMN2* [49]. В 2003 г. в НИИ АГиР им. Д.О. Отта было начато лечение детей, больных СМА, вальпроатами, в результате зарегистрирована положительная динамика двигательной активности в отношении клинической оценки и результатов электронейромиографических исследований [50, 51]. У большинства пациентов со II типом СМА в результате применения ВК через 4–7 мес наблюдалось расширение диапазона двигательных возможностей, несколько пациентов даже обрели способность к самостоятельной ходьбе [50, 51]. В ряде исследований было показано улучшение моторных функций после приема ВК у пациентов со II и III типами СМА до 3 лет, при этом у пациентов старшего возраста улучшений обнаружено не было, также как и у группы пациентов с I типом СМА. Проблема применения подобных фармацевтических препаратов — невысокая эффективность, то, что их действие достаточно индивидуально, а также частое появление побочных эффектов (таких как увеличение веса, желудочно-кишечные и респираторные нарушения, особенно у пациентов младшего возраста) [52–55].

Первый препарат для патогенетического лечения СМА Нусинерсен компании Biogen был одобрен FDA в 2016 г. (в России — с 2019 г.) для пациентов всех возрастов. Препарат представляет собой антисмысловой олигонуклеотид, который способствует коррекции сплайсинга гена *SMN2*, действуя на негативный элемент сплайсинга ISS-N1 в 7-м интроне и увеличивая уровень полноразмерных транскриптов и белка SMN. Нусинерсен вводится интратекально, лечение начинается с четырех насыщающих доз: первые три дозы вводятся с интервалом 14 дней, четвертая — через 30 дней после третьей дозы. Далее вводятся поддерживающие дозы 1 раз в 4 мес на протяжении всей жизни. Клинические исследования,

проведенные среди пациентов со СМА разных возрастов, по сравнению с группой плацебо показали значительное увеличение продолжительности жизни и улучшение моторных функций после введения Нусинерсена [56, 57]. При этом эффективность Нусинерсена зависит от стадии заболевания, во время которой препарат вводится, а также от числа копий гена *SMN2*. Наибольшая эффективность лечения достигается у пациентов с тремя копиями гена *SMN2* (по сравнению с двумя) при введении Нусинерсена пресимптоматично [56–58].

В 2019 г. стал доступен препарат Онасемноген абепарвовек от компании Novartis, который предоставляет функциональную копию гена *SMN1* в составе вектора аденоассоциированного вируса (AAV9). Препарат вводится однократно путем внутривенной инфузии продолжительностью 60 мин и проникает в различные типы клеток, включая моторные нейроны, эффективно преодолевая гематоэнцефалический барьер. Онасемноген абепарвовек назначают пациентам до 2 лет с не более чем тремя копиями гена *SMN2*. При этом титр антител к AAV9 должен быть не более 1:50 [59]. Первые результаты исследования препарата на 15 больных с I типом СМА показали значимое увеличение показателей моторных функций и продолжительности жизни по сравнению с контрольной группой [60]. По достижении возраста 20 мес 11 из 12 пациентов, которым в ~6 мес была введена высокая доза препарата, могли сидеть самостоятельно, двое из них смогли ходить, таким образом демонстрируя моторные функции, которых никогда не достигают пациенты с I типом СМА. В связи с повышением вероятности развития иммунного ответа на AAV9 с возрастом, а также необходимостью достижения определенной концентрации вирусных частиц из расчета на килограмм веса серьезным ограничением препарата Онасемноген абепарвовек является необходимость раннего введения. При анализе уровня антител к AAV9 у 196 пациентов со СМА в возрасте до 5 лет превышение титра 1:50 было выявлено у 7,7% [61]. При этом была продемонстрирована важность повторного определения уровня антител, особенно у младенцев, так как повышенный уровень антител может быть результатом трансплацентарного переноса от матери и со временем может снижаться, достигая уровня, подходящего для приема Онасемногена абепарвовек [61]. За день до введения препарата Онасемноген абепарвовек и в течение 30 дней после пациенты должны принимать преднизолон с целью снижения иммунного ответа и задержки потери мышечной функции из расчета 1 мг/кг в день [62].

Первый пероральный препарат для лечения СМА Рисдиплам, разработанный компанией Roche в сотрудничестве с PTC Therapeutics, был одобрен в США, а затем и в России в 2020 г. Рисдиплам представляет собой небольшую молекулу — производную пиридазина, которая является модификатором сплайсинга гена *SMN2* и увеличивает количество полноразмерного белка SMN [60]. Препарат назначают больным СМА от 2 мес для ежедневного применения. Рисдиплам системно воздействует на различные ткани и проникает через гематоэнцефалический барьер. Эффективность препарата в увеличении продолжительности жизни и улучшении двигательных функций была подтверждена у пациентов разного возраста с I, II и III формами СМА [63, 64].

Несмотря на несомненную клиническую эффективность существующих препаратов, они не лишены недостатков. В контексте Нусинерсена и Рисдиплама это зависимость от числа копий гена *SMN2*, необходимость

регулярного введения, наличие побочных эффектов, в случае Нусинерсена — с интратекальным способом введения, в случае Рисдиплама — обусловленные неспецифичным действием на другие транскрипты [65]. Она-семноген абепарвоек может применяться только в раннем возрасте, он неэффективен при наличии антител к AAV9, также существует риск, хоть и низкий, случайной интеграции в геном, концентрация препарата снижается при каждом клеточном делении, и у некоторых пациентов его действие сопровождается гепатотоксичностью [65].

На сегодняшний день на стадии разработки находятся многие многообещающие подходы к терапии заболевания, которые включают те, которые действуют SMN-опосредованно, воздействуя на промотор гена *SMN2*, корректируя сплайсинг его пре-мРНК или стабилизируя белок SMN, а также подходы, которые независимо от SMN способствуют смягчению симптомов СМА [66]. К последним можно отнести препараты, стабилизирующие мышечную ткань и работу нервно-мышечного синапса, препараты, обладающие нейропротекторным действием, а также терапию стволовыми клетками. В результате совместной работы НИИ АГиР им. Д.О. Отта и Института цитологии и генетики СО РАН были получены линии пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) и осуществлена их дифференцировка в моторные нейроны [67–69]. Исследования показали, что введение нейрональных стволовых клеток в спинномозговой канал способствует частичной коррекции фенотипа у мышей со СМА [70]. Кроме того, культуры мотонейронов являются удобной моделью для тестирования препаратов, разрабатываемых для терапии СМА. Также в НИИ АГиР им. Д.О. Отта изучаются подходы к терапии СМА путем введения различных антисмысловых олигонуклеотидов в составе невирусных векторов, содержащих лиганды для специфичного проникновения в клетки [71]. Доставка терапевтических комплексов в культуры фибробластов, полученных от пациентов со СМА, приводила к значимому увеличению количества полноразмерных транскриптов и белка SMN [72, 73]. Учитывая широкий спектр фенотипов, характерных для СМА, а также вовлеченность большого количества молекулярных путей в развитие заболевания, было показано, что использование терапевтических подходов, направленных одновременно на несколько мишеней, повышает эффективность терапии [20, 27, 74]. В связи с этим актуально развитие подходов, как направленных на повышение уровня белка SMN, так и действующих независимо от SMN.

Неонатальный скрининг спинальной мышечной атрофии

В 1968 г. были сформулированы критерии Вильсона–Джаннера для включения СМА в программу неонатального скрининга [75]. На сегодняшний день с появлением сертифицированных терапевтических препаратов это заболевание полностью отвечает данным критериям. Важными составляющими указанных критериев являются также тяжесть и частота заболевания, изученность его природы, наличие надежного диагностического теста и эффективность раннего терапевтического вмешательства. В качестве оптимального диагностического теста на СМА выступают методики на основе ПЦР в реальном времени с использованием специфичных зондов или анализа кривой плавления, которые позволяют детектиро-

вать делеции в ДНК, выделенной из сухих пятен крови. Специфичность такого теста составляет 100%, чувствительность — 95–98% в связи с невозможностью детекции точечных мутаций. После выявления новорожденных с гомозиготными мутациями в гене *SMN1* необходимыми проведение подтверждающего теста с помощью ПЦР-РВ или MLPA, а также анализ числа копий гена *SMN2*. С учетом того что самым распространенным типом СМА является тяжелая I форма, которая развивается в младенчестве, детекция мутаций в гене *SMN1* и лечение для таких пациентов должны быть начаты не позднее первых нескольких недель жизни, чтобы предотвратить дегенерацию моторных нейронов [76]. У таких пациентов массовая гибель мотонейронов происходит в первые месяцы жизни, и терапия после появления первых симптомов заболевания уже не способна их восстановить, что существенно снижает эффективность препаратов [77]. Терапевтическое окно для пациентов со СМА четко не определено по причине высокой гетерогенности заболевания, однако показано, что чем раньше начато лечение, тем оно эффективнее, особенно для пациентов с самыми тяжелыми формами [78]. Эти данные свидетельствуют о необходимости раннего выявления СМА и терапевтического вмешательства.

Данные, полученные на основе 21 исследования, показали значительное время задержки в постановке диагноза СМА. Было установлено, что первые симптомы у пациентов со СМА I типа возникают в среднем в 2,5 мес, при СМА II типа — в 8,3 мес, при III форме СМА — в 39,0 мес, тогда как средний возраст подтверждения диагноза СМА составляет 6,3; 20,7 и 50,3 мес соответственно [79].

Один из первых пилотных проектов по неонатальному скринингу СМА был запущен еще в 2014 г. на Тайване, в результате которого было выявлено 7 больных среди 120 267 новорожденных [80]. В 2016 г. пилотный скрининг был инициирован в Нью-Йорке, в 2018 г. в США анализ на СМА был добавлен в RUSP (рекомендуемая единая панель скрининга), и за 2018–2021 гг. в стране по крайней мере 45 случаев СМА было обнаружено в результате скрининга новорожденных [81, 82]. К июню 2021 г. неонатальный скрининг в США был введен уже в 38 штатах (таким образом, ~85% новорожденных США проверяют на наличие мутаций в гене *SMN1*) [83]. В Германии за два года проведения неонатального скрининга было выявлено 43 больных СМА из 297 163 обследованных, что свидетельствует о частоте заболевания ~1:7000 [84]. Частота выявления больных СМА совпала с наблюдаемой в Бельгии, где при обследовании 35 тыс. новорожденных было обнаружено пятеро детей с гомозиготной делецией в гене *SMN1* [85]. В Австралии среди 103 903 обследованных новорожденных у девяти был подтвержден диагноз СМА [86]. В 2019 г. стартовала пилотная программа неонатального скрининга СМА в Москве, в результате которой при обследовании 19 302 новорожденных было выявлено три пациента со СМА [87]. Программы скрининга СМА запущены также в Канаде, Италии, Японии. В 2020 г. был создан Европейский альянс по скринингу новорожденных на СМА, цель которого — внедрение неонатального скрининга данного заболевания во всех европейских странах к 2025 г. В сумме к 2021 г. из 3 674 277 проверенных на СМА новорожденных в девяти перечисленных странах у 288 были обнаружены гомозиготные мутации в гене *SMN1*, демонстрируя частоту заболевания 1 на 12 757 [88].

Один из важных аспектов скрининга — его экономическая эффективность. С учетом тестирования всех

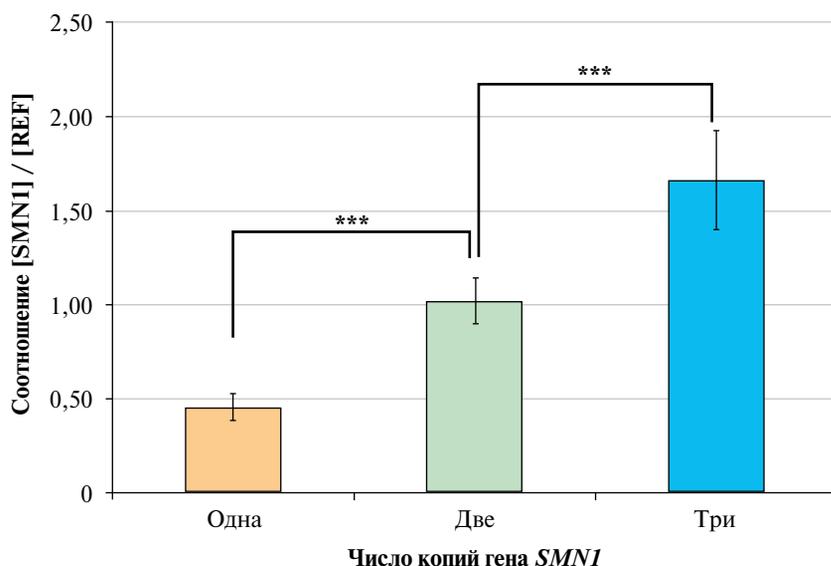


Рис. 1. Диапазоны значений для одной, двух и трех копий гена SMN1 после проведения ПЦР-РВ. *** — $p < 0.05$

новорожденных и частоты СМА экономические расходы для выявления случаев заболевания должны быть сбалансированы с медицинскими расходами в целом. На сегодняшний день существуют зарубежные коммерчески доступные наборы для проведения неонатального скрининга СМА, при этом проблемой являются немалая стоимость и сроки поставки, что делает актуальным вопрос импортозамещения.

В Санкт-Петербурге в настоящее время активно ведутся разработки отечественного набора для скрининга СМА. Методика основана на быстром выделении ДНК из сухих пятен крови с последующей ПЦР в реальном времени и в целом занимает 1–2 дня от момента взятия образца до выдачи ответа. Нами проведен эксперимент, в котором за два дня было проанализировано 400 сухих пятен крови, взятых из пятаки новорожденных, так как с учетом рождаемости в Санкт-Петербурге при проведении неонатального скрининга необходимо ежедневно анализировать ~200 образцов в день. В результате анализа было выявлено восемь новорожденных с одной копией гена SMN1, что соответствует частоте носительства СМА 1:50, у 360 обследуемых были обнаружены две копии гена SMN1 и у 32 — три копии. Были получены четкие непересекающиеся диапазоны значений для каждого числа копий гена SMN1, значимость различий подтверждена дисперсионным анализом ($p < 0,001$) (рис. 1). Эти данные позволяют оптимистично смотреть на внедрение отечественных разработок в программы скрининга СМА.

Заключение

Традиционно диагностика СМА заключалась в выявлении мутаций в гене SMN1 у пациентов с симптомами заболевания. Данная информация важна для корректной постановки диагноза и внесения в Федеральный регистр пациентов с генетически подтвержденным диагнозом СМА [89]. Однако с появлением эффективной терапии стала необходимой быстрая постановка диагноза СМА на пресимптоматической стадии, так как СМА характеризуется прогрессирующей потерей мотонейронов, а существующие препараты не способны компенсировать утрату уже деградировавших мотонейронов. Таким образом, для достижения максимальной эффективности терапии своевременная диагностика имеет решающее значение. Внедрение неонатального скрининга является оптимальным способом выявления больных СМА на пресимптоматической стадии.

Для наиболее эффективной профилактики СМА необходим комплекс мер по обнаружению мутаций в гене SMN1, который бы охватывал уровни преконцепционного генетического тестирования, преимплантационной диагностики, пренатальной диагностики, неонатального скрининга, а также медико-генетической диагностики пациентов с последующим подбором оптимальной терапии (рис. 2). На каждом из этих этапов существуют осложнения, которые могут нарушить точность анализа, и именно многоуровневая профилак-



Рис. 2. Различные уровни профилактики спинальной мышечной атрофии

тика СМА способна максимально снизить вероятность появления больных, страдающих тяжелыми формами заболевания.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено в соответствии с планами научно-исследовательской работы НИИ АГиР им. Д.О. Отта (тема ФНИ № 1021062812133-0-3.2.2).

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. М.А. Маретина — поисково-аналитическая работа, написание черновой версии; А.В. Ильина — поисково-аналитическая работа, написание черновой версии; А.А. Егорова — поисково-аналитическая работа; А.С. Готов — поисково-аналитическая работа; А.В. Киселев — исправление черновой версии, финальные правки и направление в печать; В.С. Баранов — исправление черновой версии; О.Н. Беспалова — финальные правки и направление в печать; И.Ю. Коган — финальные правки и направление в печать. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Dreesen J, Bras M, de Die-Smulders C, et al. Preimplantation genetic diagnosis of spinal muscular atrophy. *Mol Hum Reprod.* 1998;4(9):881–885. doi: <https://doi.org/10.1093/molehr/4.9.881>
- Wirth B, Karakaya M, Kye MJ, et al. Twenty-Five Years of Spinal Muscular Atrophy Research: From Phenotype to Genotype to Therapy, and What Comes Next. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2020;21:231–261. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-102319-103602>
- Lefebvre A, Mauffret O, Hartmann B, et al. Structural behavior of the CpG step in two related oligonucleotides reflects its malleability in solution. *Biochemistry.* 1995;34(37):12019–12028. doi: <https://doi.org/10.1021/bi00037a045>
- Wu X, Wang SH, Sun J, et al. A-44G transition in *SMN2* intron 6 protects patients with spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2017;26(14):2768–2780. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx166>
- Cartegni L, Krainer AR. Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in *SMN2* causes spinal muscular atrophy in the absence of *SMN1*. *Nat Genet.* 2002;30(4):377–384. doi: <https://doi.org/10.1038/ng854>
- Cartegni L, Hastings ML, Calarco JA, et al. Determinants of Exon 7 Splicing in the Spinal Muscular Atrophy Genes *SMN1* and *SMN2*. *Am J Hum Genet.* 2006;78(1):63–77. doi: <https://doi.org/10.1086/498853>
- Shababi M, Glascock J, Lorson CL. Combination of SMN Trans-Splicing and a Neurotrophic Factor Increases the Life Span and Body Mass in a Severe Model of Spinal Muscular Atrophy. *Hum Gene Ther.* 2011;4(22):135–144. doi: <https://doi.org/10.1089/hum.2010.114>
- Zarkov M, Stojadinović A, Sekulić S, et al. Association between the *SMN2* gene copy number and clinical characteristics of patients with spinal muscular atrophy with homozygous deletion of exon 7 of the *SMN1* gene. *Vojnosanit Pregl.* 2015;72(10):859–863. doi: <https://doi.org/10.2298/vsp140328072z>
- Markowitz JA, Priyamvada S, Darras BT. Spinal muscular atrophy: a clinical and research update. *Pediatr Neurol.* 2012;46(1):1–12. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2011.09.001>
- Kolb SJ, Kissel JT. Spinal Muscular Atrophy. *Neurol Clin.* 2015;33(4):831–846. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2015.07.004>
- Zerres K, Rudnik-Schöneborn 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(1):67–72. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(96\)00284-5](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(96)00284-5)
- Wijngaarde CA, Veldhoen ES, van Eijk RPA, et al. Natural history of lung function in spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):88. doi: <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01367-y>
- Cifuentes-Diaz C, Nicole S, Velasco M, et al. Neurofilament accumulation at the motor endplate and lack of axonal sprouting in a spinal muscular atrophy mouse model. *Hum Mol Genet.* 2002;11(12):1439–1447. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/11.12.1439>
- Jablonka S, Karle K, Sandner B, et al. Distinct and overlapping alterations in motor and sensory neurons in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2006;15(3):511–518. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi467>
- Fletcher EV, Mentis GZ. Motor circuit Dysfunction in Spinal Muscular Atrophy. Sumner CJ, Paushkin S, Ko C-P (eds). *Academic Press*; 2017. P. 153–165.
- Hamilton G, Gillingwater TH. Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron. *Trends Mol Med.* 2013;19(1):40–50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.11.002>
- Yeo CJJ, Darras BT. Overturning the Paradigm of Spinal Muscular Atrophy as Just a Motor Neuron Disease. *Pediatr Neurol.* 2020;109:12–19. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2020.01.003>
- Marsetina MA, Zheleznyakova GY, Lanko KM, et al. Molecular Factors Involved in Spinal Muscular Atrophy Pathways as Possible Disease-modifying Candidates. *Curr Genomics.* 2018;19(5):339–355. doi: <https://doi.org/10.2174/1389202919666180101154916>
- Hosseini-barkoobe S, Peters M, Torres-Benito L, et al. The Power of Human Protective Modifiers: PLS3 and CORO1C Unravel Impaired Endocytosis in Spinal Muscular Atrophy and Rescue SMA Phenotype. *Am J Hum Genet.* 2016;99(3):647–665. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.07.014>
- Riessland M, Kaczmarek A, Schneider S, et al. Neurocalcin Delta Suppression Protects against Spinal Muscular Atrophy in Humans and across Species by Restoring Impaired Endocytosis. *Am J Hum Genet.* 2017;100(2):297–315. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.005>
- Fan G, Beard C, Chen RZ, et al. Hypomethylation Perturbs the Function and Survival of CNS Neurons in Postnatal Animals. *J Neurosci.* 2001;21(3):788–797. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-03-00788.2001>
- Ai S, Shen L, Guo J, et al. DNA Methylation as a Biomarker for Neuropsychiatric Diseases. *Int J Neurosci.* 2012;122(4):165–176. doi: <https://doi.org/10.3109/00207454.2011.637654>
- Hauke J, Lunke S, Eyüpoğlu İY, et al. Survival motor neuron gene 2 silencing by DNA methylation correlates with spinal muscular atrophy disease severity and can be bypassed by histone deacetylase inhibition. *Hum Mol Genet.* 2009;18(2):304–317. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn357>
- Zheleznyakova GY, Voisin S, Kiselev AV, et al. Genome-wide analysis shows association of epigenetic changes in regulators of Rab and Rho GTPases with spinal muscular atrophy severity. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(9):988–993. doi: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.293>
- Zheleznyakova GY, Nilsson EK, Kiselev AV, et al. Methylation Levels of SLC23A2 and NCOR2 Genes Correlate with Spinal Muscular Atrophy Severity. *PLoS One.* 2015;10(3):e0121964. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121964>
- Marsetina M, Egorova A, Baranov V, et al. *DYNC1H1* gene methylation correlates with severity of spinal muscular atrophy. *Ann Hum Genet.* 2019;83(2):73–81. doi: <https://doi.org/10.1111/ahg.12288>

27. Peters M. Combined therapy of SMN-ASO and Platin 3 overexpression rescues severe SMA in mice [dissertation]. University of Cologne; 2017.
28. Torres-Benito L, Schneider S, Rombo R, et al. Antisense Oligonucleotide Therapy in Addition to Nusinersen further Ameliorates Spinal Muscular Atrophy in Mice. *Am J Hum Genet.* 2019;105(1):221–230. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.05.008>
29. Van der Steege G, Grootsholten PM, van der Vlies P, et al. PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet.* 1995;345(8955):985–986. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90732-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90732-7)
30. Глотов А.С., Киселев А.В., Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Анализ делеционных повреждений в генах *SMN1*, *SMN2* и *NAIP* у пациентов со спинальной мышечной атрофией северо-западного региона России // *Генетика.* — 2001. — Т. 37. — № 8. — С. 1156–1159 [Glotov AS, Kiselev AV, Ivashchenko TE, et al. Analysis of deletions in *SMN1*, *SMN2*, and *NAIP* genes in spinal muscular atrophy patients from the northwestern region of Russia. *Russian Journal of Genetics.* 2001;37(8):968–971. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1016794120171>
31. Anhuf D, Eggermann T, Rudnik-Schöneborn S, et al. Determination of *SMN1* and *SMN2* copy number using TaqMan™ technology. *Hum Mutat.* 2003;22(1):74–78. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.10221>
32. mrcholland.com [Internet]. MRC Holland. Available from: mrcholland.com
33. Wirth B. An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (*SMN1*) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat.* 2000;15(3):228–237. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(200003\)15:3<228::AID-HUMU3>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(200003)15:3<228::AID-HUMU3>3.0.CO;2-9)
34. Маретина М.А., Киселев А.В., Железнякова Г.Ю., и др. Определение количества копий гена *SMN2* у больных спинальной мышечной атрофией Северо-Западного региона России // *Медицинская генетика.* — 2012. — № 4. — С. 25–28. [Maretina MA, Kiselev AV, Zheleznyakova GY, et al. Determination of *SMN2* gene copy number in spinal muscular atrophy patients of North-Western region of Russia. *Medical Genetics.* 2012;(4):25–28. (In Russ.)]
35. Parks M, Court S, Bowns B, et al. Non-invasive prenatal diagnosis of spinal muscular atrophy by relative haplotype dosage. *Eur J Hum Genet.* 2017;25(4):416–422. doi: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.195>
36. Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Моршнева А.В., и др. Опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» // *Медицинская генетика.* — 2020. — Т. 9. — № 3. — С. 71–73. [Kozyulina PY, Vashukova ES, Morshneva AV, et al. Application of NiPt by NGS sequencing in D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynaecology and Reproductology. *Medical Genetics.* 2020;9(3):71–73. (In Russ.)]
37. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К., и др. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. — 3-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Эко-Вектор, 2020. [Baranov VS, Kuznetsova TV, Kashcheyeva TK, i dr. Prenatal'naya diagnostika nasledstvennykh boleznej. Sostoyaniye i perspektivy. 3-e izd., pererab. i dop. Saint Petesburg: Eko-Vektor: 2020. (In Russ.)]
38. Коган И.Ю., Яковлев П.П., Гэгзян А.М., и др. Преимплантационное генетическое тестирование моногенных заболеваний. Описание клинического случая // *Журнал акушерства и женских болезней.* — 2018. — Т. 67. — № 1. — С. 92–95. [Kogan IYu, Iakovlev PP, Ggzzyan AM, et al. A preimplantation genetic testing of monogenic diseases. Description of clinical case. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2017;67(1):92–95. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD67192-95>
39. Theodosiou AM, Morrison KE, Nesbit AM, et al. Complex repetitive arrangements of gene sequence in the candidate region of the spinal muscular atrophy gene in 5q13. *Am J Hum Genet.* 1994;55(6):1209–1217.
40. Francis MJ, Nesbit MA, Theodosiou AM, et al. Mapping of Retrotransposon Sequences in the Unstable Region Surrounding the Spinal Muscular Atrophy Locus in 5q13. *Genomics.* 1995;27(2):366–369. doi: <https://doi.org/10.1006/geno.1995.1059>
41. Van der Steege G, Grootsholten PM, Cobben JM, et al. Apparent gene conversions involving the *SMN* gene in the region of the spinal muscular atrophy locus on chromosome 5. *Am J Hum Genet.* 1996;59(4):834–838.
42. Глотов А.С., Киселев А.В., Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Анализ конверсий в генах *SMN1* и *SMN2* при спинальной мышечной атрофии // *Медицинская генетика.* — 2004. — Т. 3. — № 2. — С. 78–83. [Glotov AS, Kiselev AV, Ivashchenko TE, Baranov VS. Analiz konversiy v genakh *SMN1* i *SMN2* pri spinalnoy myshechnoy atrofii. *Meditsinskayagenetika.* 2004;3(2): 78–83. (In Russ.)]
43. Баранов В.С., Кашеева Т.К., Кузнецова Т.В. Достижения, сенсации и трудности пренатальной молекулярно-генетической диагностики // *Журнал акушерства и женских болезней.* — 2016. — Т. 65. — № 2. — С. 70–80. [Baranov VS, Kashcheyeva TK, Kuznetsova TV. Dostizheniya, sensatsii i trudnosti prenatalnoy molekulyarno-geneticheskoy diagnostiki. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2016;65(2):70–80. (In Russ.)]
44. Hendrickson BC, Donohoe C, Akmaev VR, et al. Differences in *SMN1* allele frequencies among ethnic groups within North America. *Journal of Medical Genetics.* 2009;46(9):641–644. doi: <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.066969>
45. Prior TW, Nagan N. Spinal muscular atrophy: Overview of molecular diagnostic approaches. *Curr Protoc Hum Genet.* 2016;88:9.27.1–9.27.13. doi: <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0927s88>
46. Melki J, Lefebvre S, Burglen L, et al. De Novo and Inherited Deletions of the 5q13 Region in Spinal Muscular Atrophies. *Science.* 1994;264(5164):1474–1477. doi: <https://doi.org/10.1126/science.7910982>
47. Matthijs G, Schollen E, Legius E, et al. Unusual molecular findings in autosomal recessive spinal muscular atrophy. *J Med Genet.* 1996;33(6):469–474. doi: <https://doi.org/10.1136/jmg.33.6.469>
48. Brichta L. Valproic acid increases the *SMN2* protein level: a well-known drug as a potential therapy for spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2003;12(19):2481–2489. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg256>
49. Sumner CJ, Huynh TN, Markowitz JA, et al. Valproic Acid Increases SMN Levels in Spinal Muscular Atrophy Patient Cells. *Ann Neurol.* 2003;54(5):647–654. doi: <https://doi.org/10.1002/ana.10743>
50. Баранов В.С., Вахарловский В.Г., Команцев В.Н. Первый опыт лечения больных спинальной мышечной атрофией препаратом вальпроевой кислоты // *Медицинская генетика.* — 2005. [Baranov VS, Vakharlovskiy VG, Komantsev VN. Pervyy opyt lecheniya bolnykh spinalnoy myshechnoy atrofiiyey preparatom valproyevooy kisloty. *Meditsinskaya genetika.* 2005. (In Russ.)]
51. Вахарловский В.Г., Команцев В.Н., Любименко В.А., и др. Современные клинко-терапевтические вопросы проксимальной спинальной мышечной атрофии // *Нейрохирургия и неврология.* — 2008. — С. 38–48. [Vakharlovskiy VG, Komantsev VN, Lyubimenko VA. i dr. Sovremennyye kliniko-terapevticheskiye voprosy proksimalnoy spinalnoy myshechnoy atrofii. *Neyrokhirurgiya i nevrologiya.* 2008:38–48. (In Russ.)]
52. Swoboda KJ, Scott CB, Crawford TO, et al. SMA CARNI-VAL Trial Part I: Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial of L-Carnitine and Valproic Acid in Spinal Muscular Atrophy. *PLoS One.* 2010;5(8):e12140. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012140>
53. Kissel JT, Scott CB, Reyna SP, et al. SMA CARNI-VAL TRIAL PART II: A Prospective, Single-Armed Trial of L-Carnitine and Valproic Acid in Ambulatory Children with Spinal Muscular Atrophy. *PLoS One.* 2011;6(7):e21296. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021296>

54. Kissel JT, Elsheikh B, King WM, et al. SMA valiant trial: A prospective, double-blind, placebo-controlled trial of valproic acid in ambulatory adults with spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2014;49(2):187–192. doi: <https://doi.org/10.1002/mus.23904>
55. Krosschell KJ, Kissel JT, Townsend EL, et al. Clinical trial of L-Carnitine and valproic acid in spinal muscular atrophy type I. *Muscle Nerve*. 2018;57(2):193–199. doi: <https://doi.org/10.1002/mus.25776>
56. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377(18):1723. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1702752>
57. 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: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1710504>
58. 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: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2019.09.007>
59. Wirth B. Spinal Muscular Atrophy: In the Challenge Lies a Solution. *Trends Neurosci*. 2021;44(4):306–322. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.11.009>
60. Mendell JR, Samiah A-Z, Richard S, et al. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377(18):1713. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
61. Day JW, Finkel RS, Mercuri E, et al. Adeno-associated virus serotype 9 antibodies in patients screened for treatment with onasemnogene abeparvovec. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021;21:76–82. doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2021.02.014>
62. Kichula EA, Proud CM, Farrar MA, et al. Expert recommendations and clinical considerations in the use of onasemnogene abeparvovec gene therapy for spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2021;64(4):413–427. doi: <https://doi.org/10.1002/mus.27363>
63. Ratni H, Ebeling M, Baird J, et al. Discovery of Risdiplam a Selective Survival of Motor Neuron-2 *SMN2* Gene Splicing Modifier for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *J Med Chem*. 2018;61(15):6501–6517. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00741>
64. Seabrook T, Baranello G, Servais L, et al. 1-year results on motor function in infants with Type 1 spinal muscular atrophy (SMA) receiving risdiplam (RG7916). *Canadian Journal of Neurological Sciences. Journal Canadien des Sciences Neurologiques*. 2019;46(S1):S31–S31. doi: <https://doi.org/10.1017/cjn.2019.164>
65. roche.com [Internet]. Roche — Media releases & Ad hoc announcements. Available from: <https://www.roche.com/media/releases>
66. Chen T-H. New and Developing Therapies in Spinal Muscular Atrophy: From Genotype to Phenotype to Treatment and Where Do We Stand? *Int J Mol Sci*. 2020;21(9):3297. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21093297>
67. Valetdinova KR, Maretina MA, Kuranova ML, et al. Generation of two spinal muscular atrophy (SMA) type I patient-derived induced pluripotent stem cell (iPSC) lines and two SMA type II patient-derived iPSC lines. *Stem Cell Res*. 2019;34:101376. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.101376>
68. Ovechkina VS, Maretina MA, Egorova AA, et al. Generation of a spinal muscular atrophy type III patient-specific induced pluripotent stem cell line ICGi003-A. *Stem Cell Res*. 2020;48:101938. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.101938>
69. Григорьева Е.В., Валетдинова К.Р., Устьянцева Е.И., и др. Дифференцировка в нейральном направлении пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от больных с наследственной формой спинальной мышечной атрофии // *Гены & клетки*. — 2016. — Т. 11. — № 2. — С. 70–79. [Grigorieva EV, Valetdinova KR, Ustyantseva EI, et al. Differentiation in the neural direction of patient-specific induced pluripotent stem cells from patients with a hereditary form of spinal muscular atrophy. *Genes & Cells*. 2016;11(2):70–79. (In Russ.)]
70. Corti S, Nizzardo M, Nardini M, et al. Neural stem cell transplantation can ameliorate the phenotype of a mouse model of spinal muscular atrophy. *J Clin Invest*. 2008;118(10):3316–3330. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI35432>
71. Egorova AA, Shtykalova SV, Maretina MA, et al. Cys-Flanked Cationic Peptides For Cell Delivery of the Herpes Simplex Virus Thymidine Kinase Gene for Suicide Gene Therapy of Uterine Leiomyoma. *Mol Biol (Mosk)*. 2020;54(3):497–511. doi: <https://doi.org/10.1134/S0026893320030064>
72. Крылова Н.В., Маретина М.А., Ильина А.В., и др. Анализ уровня транскриптов и белка SMN в фибробластах, полученных от пациентов со спинальной мышечной атрофией, после доставки терапевтических антисмысловых олигонуклеотидов // Всероссийский форум «Педиатрия Санкт-Петербурга: опыт, инновации, достижения», 27–28 сентября 2019 г., Санкт-Петербург. [Krylova NV, Maretina MA, Ilina AV, i dr. Analiz urovnya transkriptov i belka SMN v fibroblastakh, poluchennykh ot patsiyentov so spinalnoy myshechnoy atrofiyey, posle dostavki terapevticheskikh antismyslovyykh oligonukleotidov. Vserossiyskiy forum “Pediatriya Sankt-Peterburga: opyt. innovatsii. dostizheniya”, 2019 Sent. 27–28, Sankt-Peterburg. (In Russ.)]
73. Ильина А.В., Маретина М.А., Крылова Н.В., и др. Воздействие на сайленсеры сплайсинга гена *SMN2* антисмысловыми LNA-олигонуклеотидами для увеличения уровня полноразмерных транскриптов SMN в фибробластах пациентов со СМА // Материалы 22-й Межвузовской студенческой научной конференции «Студент–исследователь–учитель», 1–30 апреля 2020 г. [Ilina AV, Maretina MA, Krylova NV, et al. Impact of antisense LNA-oligonucleotides on splicing silencers of *SMN2* gene for increasing of *SMN* full-length transcripts level in fibroblasts of SMA patients. Materialy 22 Mezhvuzovskoy studentcheskoy nauchnoy konferentsii “Student–issledovatel–uchitel”, 2020 March 1–30, Saint Peterburg. (In Russ.)]
74. Farrelly-Rosch A, Lau CL, Patil N, et al. Combination of valproic acid and morpholino splice-switching oligonucleotide produces improved outcomes in spinal muscular atrophy patient-derived fibroblasts. *Neurochem Int*. 2017;108:213–221. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.02.016>
75. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. Geneva: World Health Organization; 1968.
76. Govoni A, Gagliardi D, Comi GP, et al. Time Is Motor Neuron: Therapeutic Window and Its Correlation with Pathogenetic Mechanisms in Spinal Muscular Atrophy. *Mol Neurobiol*. 2018;55(8):6307–6318. doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0831-9>
77. Swoboda, KJ, Prior TW, Scott CB, et al. Natural history of denervation in SMA: Relation to age, *SMN2* copy number, and function. *Ann Neurol*. 2005;57(5):704–712. doi: <https://doi.org/10.1002/ana.20473>
78. Butterfield RJ. Spinal Muscular Atrophy Treatments, Newborn Screening, and the Creation of a Neurogenetics Urgency. *Semin Pediatr Neurol*. 2021;38:100899. doi: <https://doi.org/10.1016/j.spen.2021.100899>
79. Lin C-W, Kalb SJ, Yeh W-S. Delay in Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy: A Systematic Literature Review. *Pediatr Neurol*. 2015;53(4):293–300. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2015.06.002>
80. Chien Y-H, Chiang S-C, Weng W-C, et al. Presymptomatic Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy Through Newborn Screening. *J Pediatr*. 2017;190:124–129.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.06.042>
81. Kraszewski J, Kay D, Stevens C, et al. Pilot study of population-based newborn screening for spinal muscular atrophy in New York state. *Genet Med*. 2018;20(6):608–613. doi: <https://doi.org/10.1038/gim.2017.152>
82. Hale K, Ojodu J, Singh S. Landscape of Spinal Muscular Atrophy Newborn Screening in the United States: 2018–2021. *Int J Neonatal Screen*. 2021;7(3):33. doi: <https://doi.org/10.3390/ijns7030033>
83. curesma.org. [Internet]. Cure SMA. Available from: www.curesma.org

84. Vill K, Schwartz O, Blaschek A, et al. Newborn screening for spinal muscular atrophy in Germany: clinical results after 2 years. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):153. doi: <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01783-8>
85. Boemer F, Caberg J-H, Dideberg V, et al. Newborn screening for SMA in Southern Belgium. *Neuromuscul Disord.* 2019;29(5):343–349. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2019.02.003>
86. Kariyawasam DST, Russell JS, Wiley V, et al. The implementation of newborn screening for spinal muscular atrophy: the Australian experience. *Genet Med.* 2020;22(3):557–565. doi: <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0673-0>
87. Поляков А.В. Уроки программы по неонатальному скринингу в г. Москве // Материалы VI всероссийской конференции «Орфаника-2021», 9 сентября 2021 г. [Polyakov AV. Uroki programmy po neonatalnomu skriningu v g. Moskve. Materialy VI vserossiyskoy konferentsii “Orfanika-2021”, 2021 Sent. 9, Moskva (In Russ.)]. Available from: <https://ormiz.ru/orfanika6/#programme#!/tab/329546403-2>
88. Dangouloff T, Vrščaj E, Servais L, et al. Newborn screening programs for spinal muscular atrophy worldwide: Where we stand and where to go. *Neuromuscul Disord.* 2021;31(6):574–582. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2021.03.007>
89. Кобякова О.С., Стародубов В.И., Зеленова О.В., и др. Поперечное исследование «Федеральный регистр пациентов с генетически подтвержденным диагнозом спинально-мышечная атрофия ФРПСМА»: обоснование и дизайн исследования. Первые результаты // *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики.* — 2021. — № 2. — С. 279–300. [Kobyakova OS, Starodubov VI, Zelenova OV, et al. Prospective study “Federal register of patients with a genetically confirmed diagnosis of spinal muscular atrophy FRPSMA”: the basis and design of the study. first results. *Current Problems of Health Care and Medical Statistics.* 2021;2:279–300. (In Russ.)]

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Маретина Марианна Александровна, м.н.с. [*Marianna A. Maretina*, junior research associate]; **адрес:** 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3 [**address:** 3, Mendeleevskaya line, 199034, Saint-Petersburg, Russia]; **e-mail:** marianna0204@gmail.com, **SPIN-код:** 8666-6406, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7091-1171>

Киселев Антон Вячеславович, к.б.н. [*Anton V. Kiselev*, PhD in Biology]; **e-mail:** ankiselev@yahoo.co.uk, **SPIN-код:** 2849-2020, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2487-2423>

Ильина Арина Вячеславовна, лаборант-исследователь [*Arina V. Ilina*]; **e-mail:** Arina-Ilina-23@yandex.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5157-5160>

Егорова Анна Алексеевна, к.б.н. [*Anna A. Egorova*, PhD in Biology]; **e-mail:** egorova_anna@yahoo.com, **SPIN-код:** 6055-7399, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6345-7812>

Глотов Андрей Сергеевич, д.б.н. [*Andrey S. Glotov*, PhD in Biology]; **e-mail:** anglotov@mail.ru, **SPIN-код:** 1406-0090, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7465-4504>

Беспалова Олеся Николаевна, д.м.н. [*Olesya N. Bepalova*, MD, PhD]; **e-mail:** shiggerra@mail.ru, **SPIN-код:** 4732-8089, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>

Баранов Владислав Сергеевич, д.м.н., член-корреспондент РАН [*Vladislav S. Baranov*, MD, PhD, Corresponding Member of the RAS]; **e-mail:** baranov@vb2475.spb.edu, **SPIN-код:** 9196-7297, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6518-1207>

Коган Игорь Юрьевич, д.м.н., член-корреспондент РАН [*Igor Yu. Kogan*, MD, PhD, Corresponding Member of the RAS]; **e-mail:** ikogan@mail.ru, **SPIN-код:** 6572-6450, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>