

Открывая окно: скрининг на носительство и перинатальный скрининг на спинальную мышечную атрофию

Джозеф К. Бернс *a,b,c*, Рашми Котари *a,c,d,e*, Робин Дж. Паркс *a,b,c,e**

a Программа регенеративной медицины, Исследовательский институт Оттавской больницы, Оттава, Канада

b Кафедра биохимии, микробиологии и иммунологии, Оттавский университет, Оттава, Канада

c Центр нейромышечных заболеваний Оттавского университета, Оттава, Канада

d Кафедра клеточной и молекулярной медицины, Оттавский университет, Оттава, Канада

e Кафедра медицины, Оттавский университет, Оттава, Канада

* Автор, отвечающий за переписку.

Программа регенеративной медицины, Исследовательский институт Оттавской больницы

Адрес: Room C4415, 501 Smyth Road, Ottawa, Ontario, Canada K1H 8L6. Факс: +1 613 737 8803. E-mail: rparks@ohri.ca

(Р.Дж. Паркс).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2016.06.459>

0960-8966/© 2016 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Статья опубликована в сентябре 2016 года в журнале «Нервно-мышечные заболевания» (Neuromuscular Disorders, September 2016 Volume 26, Issue 9, Pages 551–559)

Получено 10 декабря 2015 г.; получено в переработанной форме 20 июня 2016 г.; принято 21 июня 2016 г.

Аннотация

Спинальная мышечная атрофия (СМА) – самое распространенное генетическое нейродегенеративное заболевание, являющееся причиной детской смертности по всему миру. Причиной СМА является генетическая делеция или мутация гена выживаемости мотонейронов 1 (SMN1), которая приводит к дефициту белка SMN. По пока невыясненным причинам, дефицит белка SMN в основном влияет на α-мотонейроны, ведет к их дегенерации и последующему параличу мышц конечностей и корпуса, и в тяжелых случаях – к смерти. Последние исследования показывают, что дефицит белка SMN также влияет на сердце, вегетативную нервную систему, скелетные мышцы, печень, поджелудочную железу и, возможно, многие другие органы. В настоящий момент лечения СМА не существует. Терапия включает, респираторную и нутриционную поддержку, физиотерапию – эти меры в какой-то степени смягчают симптомы заболевания и увеличивают продолжительность жизни. К счастью, несколько инновационных способов лечения уже проходят клинические испытания. Тем не менее, данные исследований на животных моделях СМА демонстрируют, что наилучший терапевтический эффект достигается при как можно более раннем старте лечения, до массовой потери мотонейронов. В данном обзоре мы анализируем преимущества скрининга на носительство и перинатального скрининга на СМА в контексте эффективности новых терапевтических средств, а также физических, эмоциональных и финансовых затрат, которые несут семьи пациентов и общество в связи с данным заболеванием.

Ключевые слова: Спинальная мышечная атрофия, Генетический скрининг, Терапия.

1. Введение

Спинальная мышечная атрофия наследуется по аутосомно-рецессивному типу и проявляется у примерно 1 из 10000 новорожденных. 1 из 40 человек является носителем заболевания [1–3]. Отличительной чертой заболевания является дегенерация и потеря α-мотонейронов ствола головного мозга и спинного мозга, что приводит к прогрессирующей слабости мышц, отвечающих за речь и глотание, а также мышц конечностей и корпуса, что в тяжелых случаях ведет к параличу [3–5]. Деформация грудной клетки и слабость дыхательных мышц может стать причиной дыхательной недостаточности, что зачастую приводит к смерти, в частности, в более тяжелых случаях с ранним стартом заболевания [6]. СМА является самой частой причиной детской смертности среди всех генетических заболеваний и в настоящее время неизлечима [1,4]. В связи с этим, множество научных лабораторий по всему миру заняты изучением патологии и терапевтических подходов к лечению данного заболевания.

2. Генетика СМА и тяжесть заболевания

2.1 Генетические основы СМА

Причиной СМА является делеция или мутация гена выживаемости мотонейронов 1 (SMN1), который располагается на хромосоме 5q в сегменте 13 [7,8]. Примерно 95% пациентов со СМА 5q13 имеют гомозиготную делецию SMN1 [8], в то время как у оставшейся части пациентов наблюдается делеция в гетерозиготном состоянии, в котором один из аллелей SMN1 отсутствует, а второй содержит несинонимичную мутацию, либо, в более редких случаях, два аллеля SMN1 с внутригенными мутациями каждый [9]. Функциональная потеря SMN1 приводит к дефициту белка SMN. Тем не менее, у больных СМА данный белок отсутствует не полностью, поскольку есть еще SMN2, второй ген SMN, также расположенный

на 5q13. Ген SMN2 отличается от SMN1 на пять нуклеотидов [7], но только одна из этих точечных мутаций расположена в кодирующей области: цитозин, расположенный на позиции +6 экзона 7 в SMN1 – это тимидин в SMN2 [10]. И хотя с точки зрения кодировки аминокислоты это простая транзиция, замена на тимидин в этой позиции приводит к колоссальным изменениям в сплайсинге пре-мРНК, так что экзон 7 оказывается исключен из примерно 90% зрелых транскриптов SMN2 [11]. Белок, получаемый в результате этого альтернативного сплайсинга, так называемый SMN Δ 7, не может выполнять функции полноразмерного белка SMN. Из оставшихся 10% транскриптов SMN2, включающих экзон 7, генерируется относительно небольшое количество полноразмерного белка SMN [11]. Не было выявлено ни одного пациента с делециями или функциональной потерей и SMN1, и SMN2 [7], поэтому можно предположить, что отсутствие обоих генов приводит к смерти эмбриона [12,13]. У мышей кодируется только один ген SMN, и гомозиготная делеция этого гена приводит к смерти эмбриона [12]. Когда SMN1 отсутствует, полноразмерного белка SMN, сгенерированного из SMN2, оказывается достаточно, чтобы предотвратить внутриутробную гибель плода, но недостаточно, чтобы предотвратить дегенерацию α -мотонейронов и последующую манифестацию СМА. Тяжесть болезни в целом имеет обратную корреляцию с количеством копий гена SMN2 [14,15].

Существует множество гипотез касательно механизма, благодаря которому замена цитозина на тимидин на позиции +6 экзона 7 приводит к его исключению из конечного транскрипта. Поскольку этот экзон имеет слабые места сплайсинга на 3'- и 5'- концах [16], правильное включение экзона зависит от cis-элементов – участков ДНК, которые распознаются транс-активирующими соединяющимися белками и, таким образом, обеспечивают включение или исключение определенного элемента в транскрипт. Эти элементы включают энхансеры сплайсинга интронов (ISEs), сайленсеры сплайсинга интронов (ISSs), энхансеры сплайсинга экзонов (ESEs) и сайленсеры сплайсинга экзонов (ESSs). Считается, что как минимум один cis-элемент из каждой категории участвует в сплайсинге экзона 7 в SMN2 [17–25]. Таким образом, один из разрабатываемых сегодня подходов к лечению СМА направлен на воздействие на один из этих элементов с целью повышения вероятности включения экзона 7 в пре-мРНК, вырабатываемую SMN2 (обсуждается ниже).

2.2 Различные степени тяжести и типы заболевания

Пациенты со СМА классифицируются по одному из пяти типов, в зависимости от возраста, в котором проявилось заболевание, максимальных достигнутых двигательных функций, а также ожидаемой продолжительности жизни (таблица 1) [28].

Таблица 1 Клинические типы спинальной мышечной атрофии

Тип	Возраст при старте заболевания	Отличительная двигательная функция	Ожидаемая продолжительность жизни	Вероятность в зависимости от количества копий гена SMN2, %			
				1	2	3	4
0	До рождения	Сниженная внутриутробная подвижность	Смерть при рождении	– ^b	–	–	–
1	<6 месяцев	Не может сидеть без поддержки	Менее двух лет	>99,9	97,3	7,2	1,6
2	6 – 18 месяцев	Сидит самостоятельно	10 – 40 лет	<0,01	2,7	82,8	14,8
3	Старше 18 месяцев	Ходит самостоятельно	Нормальная	<0,01	0,04	10,0	83,6
4	>5 лет	Нормально ходит	Нормальная	–	–	–	–

а Данные Russman [26] и Feldkötter [27], с изменениями.

б Прочерк обозначает, что для этого типа данные не собирались.

Тем не менее, считается, что СМА представляет собой скорее непрерывный спектр фенотипов, нежели отдельные типы [29]. Тип 0 характеризуется манифестацией при рождении, дыхательной недостаточностью при рождении и очень низкой ожидаемой продолжительностью жизни. Этот тип СМА обычно приводит к мгновенной смерти, если пациент при рождении не получает респираторной поддержки. Тип 1, также известный как «болезнь Верднига–Гоффмана», проявляется в возрасте до шести месяцев. Пациенты с первым типом СМА не могут сидеть самостоятельно, а прогнозируемая продолжительность жизни составляет менее двух лет [30]. У пациентов со 2-м типом СМА болезнь обычно проявляется в возрасте от 6 до 18 месяцев. Эти пациенты могут самостоятельно сидеть, но никогда не ходят, а ожидаемая продолжительность жизни составляет от 10 до 40 лет. СМА 3-го типа, также известная как «болезнь Кугельберга–Веландера», проявляется после 18 месяцев, а пациенты рано или поздно начинают ходить. Пациенты с 4-м типом СМА – это обычно взрослые люди, демонстрирующие широкий спектр фенотипов и сохраняющие способность ходить [31]. СМА 3-го и 4-го типа обычно не приводят к сокращению продолжительности жизни [26]. Историческая справка о диагностике СМА – по ссылке в списке литературы [32].

Несколько групп ученых подробно изучали прогрессирование болезни у пациентов со СМА 1-го, 2-го и 3-го типов [33–37]. Исследования естественного хода развития СМА – это важный источник информации о том, как болезнь прогрессирует. А такая информация может использоваться для определения адекватных клинических критериев результативности в клинических испытаниях новых экспериментальных подходов к лечению или терапии СМА. В целом, максимальная достигнутая двигательная функция пациентов со СМА лучше коррелирует с прогнозом болезни, чем возраст проявления заболевания [33]. Среди пациентов с одинаковым возрастом проявления заболевания те, кто умел сидеть или ходить самостоятельно, жили дольше, чем те, кто не умели [33]. Тип СМА и прогноз заболевания обычно имеют обратную корреляцию.

ляцию с количеством копий гена SMN2, важного фактора тяжести заболевания [14,15,38]. Размер локуса SMN различается, и у пациентов с большим числом копий SMN2 происходит эффект дополнения, когда комбинированный полноразмерный транскрипт от каждой копии гена приближает пациента к уровням белка SMN у здорового человека. Количественный ПЦР-анализ, проведенный Фельдкёттером (Feldkötter) с соавторами выявлял количество копий гена SMN2 у 375 пациентов, тип СМА которых был известен [27]. На основе этих данных авторы вычислили процентную вероятность проявления каждого из подтипов СМА при известном количестве копий SMN2 (Таблица 1) [27]. Например, вероятность того, что у больного СМА ребенка с только одной копией SMN2 будет тип 1, составляет более 99,9%. С двумя копиями этого гена вероятность проявления СМА 1-го типа составляет 97,26%, а типа 2 и 3 – 2,7% и 0,04% соответственно. У пациентов с 3 или 4 копиями гена SMN2 наиболее вероятно будет 2-й или 3-й тип СМА соответственно (примечание: в данном исследовании количество копий SMN2 более 4-х не выявлялось). Тем не менее, данное исследование показывает, что количество копий SMN2 не является идеальным средством предсказания фенотипической тяжести заболевания, и в особенности, если анализ не учитывает внутригенные мутации в некоторых копиях SMN2 или неполные дупликации. Например, у пациентов с 4-мя копиями SMN2 СМА может проявиться в любом типе от 1-го до 4-го [27,39]. Есть и другие генетические факторы тяжести СМА, такие как SERF1A и PLS3 [40–42], что также ставит под сомнение прогнозирование тяжести заболевания исключительно на основании количества копий SMN2 (следует отметить, что роль PLS3 как фактора тяжести СМА не подтвердилась в некоторых моделях СМА на мышах [43]). Таким образом, клиническая оценка максимальной достигнутой двигательной функции все еще является наиболее надежным источником для прогнозирования степени тяжести заболевания и продолжительности жизни.

3. Белок SMN: предполагаемые функции и типы клеток, на которые он влияет

Размер белка SMN составляет 38 кДа. Он выделяется повсеместно, и найти его можно как в цитоплазме, так и в ядре [44,45]. Полноразмерный белок SMN самоолигомеризуется путем ассоциации домена из 30 аминокислот, кодируемого экзоном 6, а миссенс-мутации внутри или в непосредственной близости от домена подавляют способность белка самоассоциироваться [46]. Белок SMNΔ7, производимый геном SMN2, имеет значительно более низкую способность самоассоциироваться [46]. После самоолигомеризации ядерный SMN поступает в макромолекулярный комплекс, содержащий белки Gem1n. Формирование этого комплекса, видимо, оказывает стабилизирующий эффект на белок SMN, и неспособность самоолигомеризоваться или поступать в эти комплексы может частично объяснить сниженный период полужизни белка SMNΔ7 по сравнению с полноразмерным белком [47]. Комплекс SMN состоит из белков SMN и Gem1n со 2 по 8 [48] и располагается в субъядерных структурах, известных как GEMS (или «близнецы тельца Кахаля»). Их название происходит от знака зодиака «Близнецы» (Gemini) и связано с тем, что эти ядерные структуры выглядят так же, как другие ранее обнаруженные спиральные ядерные тельца [44]. Представляется, что на локализацию данного белкового комплекса в клетке влияет его взаимодействие с UNR-взаимодействующим белком (белок Unrip), который направляет локализацию в цитоплазму и отсутствует в ядерных структурах GEMS [49]. По-видимому, SMN имеет множество различных функций, включая роль в сборке малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП) и сплайсинге пре-мРНК [50], регулирование трансляции [51], расщепление R-петли [52], транспортировку бета-актина мРНК и секреторных пузырьков, а также регулирование динамики актина [55,56] (Таблица 2).

Таблица 2 Функции белка SMN

Функция	Проявление при СМА
Молекулярные функции	
Сборка малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП) и сплайсинг пре-мРНК	Снижение сборки мяРНП и изменение шаблона сплайсинга многих генов в головном и спинном мозге [50]
Регулирование трансляции	Изменение трансляции белков (например, CARM1 [51])
Расщепление R-петли	Изменения в экспрессии и сплайсинге генов в клетках [52]
Активный транспорт	Изменение транспорта бета-актина мРНК в конусы роста нейронов [53]; изменение транспорта секреторных пузырьков, связанных с аппаратом Гольджи [54]
Динамика актина	Неправильная активация процесса RhoA/ROCK нарушает динамику актина [55,56]
Биологические функции	
Рост мотонейрона и аксональное наведение	Ослабление связей мотонейронов у данио-рерио (zebrafish) [57]
Функционирование и созревание нейромышечного синапса	Аномальная морфология двигательной концевой пластинки, денервация двигательной концевой пластинки, накопление и нарушение функции нейрофиламентов, нарушение функции астроцитов и шванновских клеток [58–61]
Развитие мышц	Нарушение дифференцировки клеток-спутников [62]; мышечная слабость и задержка экспрессии зрелых белков [63]
Развитие поджелудочной железы	Снижение количества бета-клеток, что приводит к нарушению метаболизма глюкозы [64,65]
Функция печени	Изменение экспрессии белка IGFALS, которое приводит к снижению стабильности IGF-1 и задержке роста [66]
Вегетативная нервная система	Пороки сердца и брадикардия [67–69]; нарушения вазодилатации [70,71]

Хотя появляется все больше данных о том, что СМА – это не только заболевание мотонейронов, основная часть исследований на мышинных моделях СМА фокусировалась на том, как сниженный уровень SMN влияет на функцию мотонейронов. Это влияние включает изменение сплайсинга многих генов [50,72–74], плохое концевое разветвление [58], скопление нейрофиламентов в двигательной концевой пластине [58], нарушение освобождения синаптических везикул [75], снижение пластичности нейромышечного синапса [76] и, наконец, денервацию и смерть мотонейрона [77]. Все эти нарушения происходят на самых ранних стадиях болезни, поэтому аномалии в структуре и функции мотонейрона являются ранними признаками болезни.

Хотя СМА в основном влияет на α -мотонейроны, последние исследования показали, что болезнь затрагивает и другие ткани [78] (Таблица 2). Сниженный уровень SMN у мышей до проявления симптомов болезни приводит к мышечной слабости и задержке появления зрелых изоформ белков, необходимых для сокращения мышц [63]. Низкий уровень SMN приводит к дефектам клеток-спутников в мышцах, что проявляется в неправильной инициации программы дифференцировки и снижении эффективности формирования миотрубки [62,63,79,80]. Схожие явления наблюдались и в миоблестах пациентов со СМА [81]. В нескольких работах описаны пороки сердечной мышцы в мышинных моделях СМА [67–69], что также наблюдается у людей с тяжелыми формами болезни [82]. Недавно в мышинных моделях СМА были выявлены нарушения метаболизма глюкозы и функции поджелудочной железы [64]. И действительно, у гетерозиготных мышей с SMN +/- (по природе у мышей только одна копия гена SMN [12]) наблюдаются дефекты развития поджелудочной железы и нарушения метаболизма глюкозы при отсутствии каких-либо признаков болезни СМА. Поэтому можно предположить, что SMN является локусом предрасположенности к диабету [65,83]. Одно из последних исследований демонстрирует, что снижение уровня SMN влияет на способность астроцитов выполнять нормальную функцию поддержки развития нейронов и формирования синапса [59]. Астроглиоз наблюдается как у мышей на последней стадии СМА, так и в спинном мозге после смерти пациентов при вскрытии. На мышинных моделях СМА, восстановление SMN исключительно в астроцитах увеличивает продолжительность жизни, улучшает моторные функции и нормализует дефекты нейромышечного синапса. Специфические дефекты, такие как снижение способности миелинизировать нейроны, наблюдались и в шванновских клетках с дефицитом SMN [60]. Тем не менее, хотя в мышинных моделях СМА восстановление SMN исключительно в шванновских клетках и привело к устранению дефектов миелинизации, выживаемость моторных нейронов не улучшилась [84]. Анализ всех этих исследований показывает, что хотя СМА можно рассматривать прежде всего как заболевание α -мотонейронов, оно приводит к нарушениям и в других типах нейронов, а также в мышцах, печени и поджелудочной железе, которые могут влиять на течение заболевания. Поскольку, благодаря развитию реабилитационных технологий, пациенты со СМА теперь живут дольше, эти недавно выявленные «второстепенные» нарушения нуждаются в более пристальном изучении для оценки их влияния на клиническое течение СМА. Более того, возможно, более эффективные способы лечения должны быть направлены на восстановление уровней SMN во всех клетках организма, для достижения максимального положительного результата.

4. Перспективные способы лечения СМА и окно терапевтических возможностей

Учитывая распространенность и потенциальную тяжесть СМА, многочисленные команды исследователей разрабатывают инновационные методы терапии этого тяжелого заболевания (обзор см. по ссылкам [78,85,86]). Разработка методов терапии ведется в трех областях:

- 1) Исправление нарушенного сплайсинга гена SMN2 для стабилизации белка SMN Δ 7;
- 2) Терапия конечного ущерба, наносимого дефицитом SMN, путем защиты тканей от отмирания;
- 3) Восстановление отсутствующего гена SMN1 или его производного с помощью терапевтического вектора.

В рамках каждой из этих стратегий разрабатывается много различных методов лечения (Таблица 3), и некоторые из них вступили в фазу клинических испытаний. Например, компании IONIS Pharmaceuticals (старое название ISIS Pharmaceuticals) и Biogen Idec разрабатывают терапию с использованием антисмысловых олигонуклеотидов. Данный препарат, блокирующий исключение экзона 7 из транскрипта SMN2, прошел первую фазу клинических испытаний на 28 пациентах [87,88]. Препарат показал хорошую переносимость, а у некоторых пациентов улучшил моторные функции. В следующей открытой второй фазе испытаний на детях со СМА специалисты IONIS наблюдали улучшение показателей мышечной функции в зависимости от продолжительности приема и дозы препарата у детей, многократно принимавших основной олигонуклеотид, разработанный компанией, – ISIS SMNRx, ныне известный как Нузинерсен (nusinersen) [89]. Ни о каких серьезных побочных эффектах не сообщалось. Эффективность Нузинерсена в настоящий момент оценивается в третьей фазе клинических испытаний [90]. Самокомплементарный аденоассоциированный вирусный вектор на основе серотипа 9 (sc-AAV9), кодирующий полноразмерную копию кДНК SMN1, показал очень обнадеживающие результаты на мышинных моделях СМА [91]. Сейчас этот вектор – AVXS-101 – проходит фазу I/II клинических испытаний на детях со СМА первого типа [92]. Предварительные результаты этих испытаний показывают, что вектор в целом безопасен и хорошо переносится девятью пациентами, изученными на данный момент. У всех пациентов наблюдалось улучшение двигательной функции [93]. Таким образом, как минимум два способа лечения СМА демонстрируют обнадеживающие результаты в клинических испытаниях.

Важная особенность, которую показали доклинические испытания инновационных способов лечения на мышинных моделях СМА, – это необходимость раннего начала терапии для достижения максимального терапевтического эффекта. Антисмысловые олигонуклеотиды, которые меняют фенотип в мышинных моделях СМА, необходимо вводить внутриутробно или немедленно после рождения, чтобы положительный эффект был максимальным [66,94,95]. Схожим образом, и исследования scAAV9-SMN1 показали, что, для того чтобы терапия работала и выживаемость мышей повысилась, вектор необходимо вводить непосредственно после рождения пораженных мышей [91]. Представляется, что для людей с тяжелыми формами СМА окно терапевтических возможностей открывается очень рано и является очень узким, поскольку

необходимо предотвратить быструю дегенерацию α -мотонейронов и других пораженных тканей. Таким образом, ранняя диагностика принципиально важна для выявления кандидатов на те многочисленные методы лечения, которые в настоящий момент входят в клиническую стадию или приближаются к ней [3,96,97].

Таблица 3 Терапевтические стратегии лечения СМА

Категория	Подкласс	Способ действия	Препарат
Воздействие на SMN2	Ингибирование гистон-ацетилазы	Увеличение транскрипции и/или сплайсинга	Вальпроевая кислота, маслянокислый натрий, трихостатин А, субериоланилид гидроксамовой кислоты (SAHA), панобиностат (LBH589)
	Противодействие метилированию ДНК	Снижение сайленсинга SMN2	Ромидепсин, вориностат
	Активация промотора	Увеличение транскрипции SMN2	Пролактин, quinazalone 495
	Антисмысловой олигонуклеотид	Изменение пре-мРНК сплайсинга SMN2	Pro-105, ASO-10-27
	Бифункциональная РНК	Мобилизация факторов сплайсинга для оптимизации сплайсинга SMN2	Различные
	Транс-сплайсинг	Создание акцепторной точки сплайсинга и экзон 7 SMN1	Различные
	Препараты, влияющие на пре-мРНК сплайсинг SMN2	Включение экзона 7 в сплайсинг пре-мРНК в SMN2	Гидроксикарбамид, РТК-SMA1, альбутерол/сальбутамол, акларубицин
	Снижение белкового обмена	Улучшение стабильности белка или снижение деградации	Бортезомиб
	Аминогликозиды	Усиливает сквозное прочитывание экзона 8 SMN2, что способствует созданию более стабильного белка	G418, TC007, тобрамицин, амикацин
Воздействие на SMN	Регулировка динамики актина	Подавление Rho-киназы	Y-27632, fasudil
	Регулировка динамики актина	Стимуляция аксоногенеза путем увеличения уровней филаментного актина	Plastin 3
	Увеличение мышечной силы	Подавление миостатина	Follistatin, tirasemtiv
	Защита мотонейронов	Нейротрофический фактор	Cardiotrophin-1, β -lactam, IGF-1
Замена SMN1	Замена гена	Замена эндогенного гена	Векторная доставка кДНК копии SMN1
	Методы лечения стволовыми клетками	Дифференцировка в мотонейроны для замены утерянных клеток или обеспечения нейропротекторных функций	Нейральные стволовые клетки, нейральные стволовые клетки, полученные из эмбриональных стволовых клеток

5. Генетический скрининг на СМА: затраты и преимущества

5.1 Генетическое тестирование и скрининг на носительство

Учитывая то, что для пациентов с тяжелыми формами СМА окно терапевтических возможностей открывается на очень короткий период, ранняя диагностика СМА, скорее всего, будет иметь принципиальное значение для успеха любой схемы лечения. Хотя необходимость всеобщего пренатального/неонатального скрининга на СМА все еще обсуждается, сегодня родители диагностированных детей проходят скрининг на носительство, чтобы предсказать риски проявления заболевания у будущих детей [98]. Кроме подтверждения статуса носителя, родители больного ребенка оцениваются на количество копий SMN2, чтобы предсказать степень тяжести СМА у потенциально больного ребенка, хотя, как указано выше, корреляция между количеством копий SMN2 и прогнозом болезни не является строгой.

Существует несколько методов скрининга ДНК на делеции SMN1 или количество копий SMN2 (обзор см. по ссылке [97]). Как представляется, на сегодняшний день наиболее подходящей технологией для проведения тестирования в стационарах является ПЦР/рестрикционный анализ. Этот метод позволяет однозначно выявлять делеции SMN1 [99], хотя он не выявляет точечные мутации, приводящие к функциональной потере SMN1, поэтому, когда носители демонстрируют такие мутации, нужна дополнительная диагностика. В настоящий момент разрабатывается новая технология - high resolution melting analysis (HRMA), «анализ плавления с высоким разрешением», позволяющий выявлять точечные мутации SMN1 и количество копий гена SMN2 [100]. Анализ HRMA делается относительно быстро и потенциально имеет хорошую производительность. Таким образом, этот способ диагностики, возможно, лучше всего подходит для скрининга в масштабе всего населения. Новые технологии, такие как полноэкзомное или полногеномное секвенирование, фундаментально меняют способы выявления новых генов, являющихся причиной болезней, и диагностику пациентов [101]. Вполне вероятно, что в будущем эти технологии также повлияют на диагностику СМА. Тем не менее, в настоящий момент эти методы неэффективны, поскольку не различают SMN1 и SMN2 и не определяют количество копий SMN2.

5.2 Дискуссия о всеобщем скрининге на СМА

Целесообразность генетического скрининга на СМА является спорным вопросом, прежде всего, потому что скрининг на носительство имеет свои ограничения, а заболевание имеет статус неизлечимого. Противники всеобщего скрининга на СМА ссылаются на высокие затраты, связанные со всеобщим скринингом [102], возможность ложноотрицательных результатов теста на носительство [96] и опасения, что тест на носительство нужен только парам, которые планируют зачать ребенка. Статус носителя СМА не влияет на здоровье человека, и знание о носительстве может повлиять на решение иметь детей. Всеобщий скрининг также откладывается в связи с отсутствием метода излечения заболевания. Скрининг на SMN нарушает второй из десяти критериев, принятых Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1968 году (критерии Уильсона-Юнгнера). Данный критерий гласит, что для обоснованного введения генетического скрининга «должен существовать признанный метод лечения пациентов с выявляемым заболеванием» [103]. Американский конгресс акушеров и гинекологов (American Congress of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) предупреждает о негативных последствиях такого скрининга, в частности, пренатального, поскольку неправильное понимание вариативности фенотипов болезни может привести к прерываниям беременности на основании недостаточной информации [104].

Есть и организации, выступающие за всеобщий скрининг на носительство. В связи с высокой частотой носительства и клинической тяжестью заболевания, Американский колледж медицинской генетики (American College of Medical Genetics, ACMG) рекомендует всеобщий скрининг на носительство СМА, помимо скрининга всех членов семей, где рождается ребенок со СМА [2]. Ассоциация мышечной дистрофии (Muscular Dystrophy Association, MDA) считает, что генетические заболевания, лекарства от которых вступают в фазу клинических испытаний, должны в приоритетном порядке рассматриваться на предмет включения их в стандартный скрининг новорожденных [105]. В настоящий момент лекарства от СМА с доказанной эффективностью действительно нет, но раннее выявление СМА в пренатальном/неонатальном скрининге могло бы улучшить качество жизни пациентов, поскольку родители могли бы подготовиться к оказанию своевременной медицинской помощи больному ребенку [106].

Недавно критерии Уильсона-Юнгнера были пересмотрены ВОЗ. Новый документ признает пользу генетического скрининга на заболевание, у которого отсутствует общепринятое лечение, и новый список предварительных критериев был составлен с учетом этой оценки и других новых достижений в геномике [107]. Этот новый список критериев не требует наличия конкретного общепринятого лекарства от болезни, но требует, чтобы была доказанная необходимость в скрининге, четкие критерии обследуемого контингента и интеграция информирования пациентов в программу скрининга. Ни один из этих критериев не является препятствием для скрининга на СМА [107]. С учетом этих обновленных этических критериев и современного состояния технологий скрининга, всеобщий скрининг на СМА, безусловно, будет обсуждаться в дальнейшем.

5.3 Финансовые затраты на СМА

Затраты на заболевание включают в себя финансовые затраты, которые несет пациент, семья пациента, а также страховые компании на лечение болезни и немедицинские приспособления и услуги, связанные с болезнью. В недавнем исследовании, проведенном Lewin Group и профинансированном Ассоциацией мышечной дистрофии (MDA), оценивались ежегодные затраты на ряд мышечных заболеваний, включая наследственные прогрессирующие мышечные дистрофии, миотонические дистрофии, врожденные мышечные дистрофии (ВМД), боковой амиотрофический склероз (БАС) и СМА [108,109]. Пациенты со СМА подразделялись не по типу заболевания, а на тех, у кого болезнь проявилась до трехлетнего возраста (СМА с ранним стартом) и позже (прочие СМА). Средние медицинские расходы на пациентов с частной страховкой в категории «СМА с ранним стартом» составили 121 682 долл. США в год (все расчеты приведены в долларах США), что значительно выше расходов на остальные заболевания (ВМД оказалась на втором месте с суммой в 32 341 долларом). В то же время, размер выборки в категории «СМА с ранним стартом» был небольшим, а пациенты отличались значительной вариабельностью (стандартная погрешность = 98 898 долл., n = 14). Поскольку у многих пациентов с ранним стартом СМА наблюдается 1-ый тип заболевания, тяжесть заболевания и неотложная медицинская помощь, которая требуется этим пациентам, могли повлиять на такие высокие показатели медицинских расходов. Средние годовые медицинские расходы на пациентов в категории «прочие СМА» были ниже (20 085 долл., стандартная погрешность = 1 811 долл.), но примерно такими же, как на другие мышечные заболевания [108,109].

Помимо средств, которые тратятся напрямую на медицинскую диагностику и лечение, пациенты со СМА и их семьи могут нести и немедицинские расходы, такие как потеря заработков, зарплата лицам, осуществляющим уход, а также стоимость технических средств для обеспечения мобильности и независимости пациента. Важной статьёй расходов, которую необходимо принимать во внимание, является заработок, который теряет пациент или его семья. В особенности это касается категории СМА с ранним стартом, в которой 81,45% пациентов требовали ухода в течение 16 или более часов в день [108,109]. По оценкам исследователей, ежегодные потери родителей и опекунов пациентов с ранним стартом СМА, при средневзвешенном значении, которое учитывает потерю заработка и затраты времени на непрерывный уход за пациентами, составили 35 623 долл. (стандартная погрешность = 2 462 долл.). Это значительно выше второго по размеру убытка от потери заработка (19 217 долл. при БАС). Более высокий уровень мобильности, связанный с более поздним стартом СМА, снижает показатели потери заработка в группе «прочие СМА», где средние потери составили 11 110 долл. (стандартная погрешность = 627 долл.). Авторы исследования также подсчитали средние ежегодные затраты на прочие немедицинские расходы, включая модификацию жилища, модификации транспортных средств и профессиональный немедицинский уход. Ежегодные расходы на каждого пациента были получены путем деления общей суммы немедицинских расходов в течение жизни пациента на количество лет болезни пациента. Затраты в группе «СМА с ранним стартом» снова оказались самыми высокими и составили 51 665 долл., но эти затраты значительно варьировались от пациента к пациенту, а размер

выборки опять же был небольшим (стандартная погрешность 39 501 долл., $n = 17$). Самая значительная часть этих средств – это выплаты профессиональным сиделкам. Немедицинские расходы на пациентов в группе «прочие СМА» в среднем составили 14 295 долл. (стандартная погрешность = 1 651 долл.), что сопоставимо с расходами, связанными с другими мышечными заболеваниями [108,109].

Наконец, Lewin Group оценили общую сумму расходов на каждую болезнь в масштабах США, умножив расходы на одного пациента на три разные оценки заболеваемости в стране. По умеренным оценкам заболеваемости, общие медицинские затраты составили 684 млн долл. в год для СМА с ранним стартом и 273 млн долл. для СМА со стартом после трехлетнего возраста [108,109]. Поскольку частота заболеваемости СМА одинаковая у разных этнических групп [110], эти затраты могут быть пропорционально сходными в других странах, хотя стоимость медицинских услуг в разных странах будет различаться. Очевидно, значительные затраты на медицинские и немедицинские услуги, связанные с уходом за пациентами со СМА, только усиливают необходимость эффективной терапии и раннего начала лечения.

5.4 Рентабельность скрининга на СМА

Для оценки рентабельности пренатального скрининга на СМА, Литтл и др. разработали теоретическую модель, в которой использовали значения из имеющихся публикаций и сравнили всеобщий скрининг с полным отсутствием скрининга [102]. В данном исследовании учитывались такие расходы как тест на носительство, амниоцентез, тестирование плода и прерывание беременности в случае положительного анализа эмбриона, по сравнению с пожизненными затратами на уход за ребенком с тяжелой или умеренной формой СМА. Авторы исследования также учли количество лет жизни с поправкой на ее качество (QALYs) матери – данный показатель отражает влияние болезни на качество прожитой жизни. Литтл и соавторы оценили общую стоимость всеобщего скрининга в 44 млн долл. на 100 000 женщин или 5 млн долл. на один предотвращенный случай СМА. В то же время, общие затраты на лечение 10 больных детей (на 100 000 женщин), которые предположительно будут рождены в отсутствие скрининга, составит около 4,7 млн. долл. Авторы пришли к выводу, что всеобщий пренатальный скрининг на СМА нерентабелен. Тем не менее, они предположили, что для групп высокого риска, таких как люди со СМА в семейной истории, тест на носительство может быть и эффективен экономически.

6. Заключение

Спинальная мышечная атрофия может быть причиной огромных страданий и затрат – физических, финансовых и эмоциональных – для пациента и его семьи. В настоящий момент всеобщий анализ на СМА не представляется целесообразным с экономической точки зрения. В то же время, целесообразным является анализ для людей с высоким риском, таких как люди со СМА в семейной истории. Если у родителей подтверждено носительство, их ребенку может быть показан пренатальный скрининг. Для эмбриона с подтвержденной делецией или мутацией SMN1 может быть показан анализ на количество копий SMN2. И хотя количество копий SMN2 не может точно предсказать тип заболевания, при правильном консультировании и поддержке, семья ребенка может рассмотреть возможность рождения ребенка с тяжелым заболеванием, и в соответствии с этим принять решение. Данная информация могла бы помочь родителям в принятии информированного решения, если прогноз для их будущего ребенка чрезвычайно неутешителен, либо соответствующим образом подготовиться, практически и эмоционально, к рождению ребенка с нормальным прогнозом по продолжительности жизни, но требующим дополнительного ухода и помощи с мобильностью.

В настоящий момент не существует эффективного лечения СМА, но несколько экспериментальных препаратов уже проходят продвинутые стадии клинических испытаний на людях. Все доступные данные исследований на животных моделях СМА предполагают, что максимальный эффект достигается только когда терапия начата до выраженной потери мотонейронов. Логично предположить, что подобный эффект будет наблюдаться и у людей. А это значит, что раннее обнаружение СМА необходимо, чтобы начать терапию сразу же после рождения, или даже внутриутробно, в том случае, если у ребенка тяжелая форма СМА. Пренатальный скрининг сможет выявить детей со СМА до того, как закроется окно терапевтических возможностей, что позволит данным пациентам получить лечение новыми препаратами от СМА.

Все аргументы за или против пренатального или неонатального скрининга на СМА, основанные исключительно на экономических расчетах, не учитывали такие важные факторы, как подготовленность родителей и возможность раннего начала терапии. По мере того как технологии развиваются, стоимость скрининга на СМА уменьшается, а новые лекарства становятся доступны, будет необходимо пересмотреть потребность в скрининге на СМА. Хотя в настоящий момент СМА является неизлечимым заболеванием, пренатальный или неонатальный скрининг будет благом для качества жизни пациентов и важнейшим катализатором для развития терапий и, возможно, способа излечения заболевания.

Благодарности

Исследования в Лаборатории Паркса поддерживаются грантами от Канадских институтов медицинских исследований (CIHR) (MOP-130279 Рашми Котари (Р.К.); ERL-138414 Р.К.; MOP-136898 Робину Дж. Парксу (Р.Дж.П.); MOP-142316 Р.Дж.П.), Канадского научного совета по естественным наукам и техническим исследованиям (NSERC) (RGPIN-2014-04810 Р.Дж.П.) и Обществом исследования рака (Канада) (19363 Р.Дж.П.). Исследования в Лаборатории Котари поддерживаются грантами от CIHR, Ассоциации мышечной дистрофии (США) (294568 Р.К.) организациями Cure SMA/Семья СМА Канада (КОТ1617 Р.К.) и Канадским обществом рассеянного склероза (EGID2098 Р.К.). Джозеф К. Бернс (Дж.К.Б.) получил поддержку от Научно-технологической стипендиальной программы для выпускников имени Королевы Елизаветы II от правительства Онтарио. Р.К. получает поддержку как «Председатель университетских медицинских исследований» в Оттавском университете. Мы благодарим докторов Джейн Лэркиндейл, Деннис Балмэн (Детская больница Исследовательского института Восточного Онтарио) и Джоди Уормэн Чердон (Оттавская больница) за данные и идеи для этого обзора.

Список литературы

- [1] Crawford TO, Pardo CA. The neurobiology of childhood spinal muscular atrophy. *Neurobiol Dis* 1996;3:97–110.
- [2] Prior TW. Carrier screening for spinal muscular atrophy. *Genet Med* 2008;10:840–2.
- [3] Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, et al. Spinal muscular atrophy: from gene discovery to clinical trials. *Ann Hum Genet* 2013;77: 435–63.
- [4] Shababi M, Lorson CL, Rudnik-Schoneborn SS. Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat* 2014;224:15–28.
- [5] Boyer JG, Bowerman M, Kothary R. The many faces of SMN: deciphering the function critical to spinal muscular atrophy pathogenesis. *Future Neurol* 2010;5:873–90.
- [6] Rudnik-Schoneborn S, Stolz P, Varon R, et al. Long-term observations of patients with infantile spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1). *Neuropediatrics* 2004;35:174–82.
- [7] Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995;80:155–65.
- [8] Hahnen E, Forkert R, Marke C, et al. Molecular analysis of candidate genes on chromosome 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy: evidence of homozygous deletions of the SMN gene in unaffected individuals. *Hum Mol Genet* 1995;4:1927–33.
- [9] Rochette CF, Surh LC, Ray PN, et al. Molecular diagnosis of non-deletion SMA patients using quantitative PCR of SMN exon 7. *Neurogenetics* 1997;1:141–7.
- [10] Lorson CL, Hahnen E, Androphy EJ, Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:6307–11.
- [11] Jodelka FM, Ebert AD, Duelli DM, Hastings ML. A feedback loop regulates splicing of the spinal muscular atrophy-modifying gene, SMN2. *Hum Mol Genet* 2010;19:4906–17.
- [12] Schrank B, Gotz R, Gunnensen JM, et al. Inactivation of the survival motor neuron gene, a candidate gene for human spinal muscular atrophy, leads to massive cell death in early mouse embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9920–5.
- [13] Hsieh-Li H, Chang JG, Jong YJ, et al. A mouse model for spinal muscular atrophy. *Nat Genet* 2000;24:66–70.
- [14] Lefebvre S, Bulet P, Liu Q, et al. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* 1997;16:265–9.
- [15] Coovert DD, Le TT, McAndrew PE, et al. The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 1997;6:1205–14.
- [16] Lim SR, Hertel KJ. Modulation of survival motor neuron pre-mRNA splicing by inhibition of alternative 3' splice site pairing. *J Biol Chem* 2001;276:45476–83.
- [17] Hofmann Y, Lorson CL, Stamm S, Androphy EJ, Wirth B. Htra2-Beta1 stimulates an exonic splicing enhancer and can restore full-length SMN expression to survival motor neuron 2 (SMN2). *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:9618–23.
- [18] Hofmann Y, Wirth B. hnRNP-G promotes exon 7 inclusion of survival motor neuron (SMN) via direct interaction with Htra2-Beta1. *Hum Mol Genet* 2002;11:2037–49.
- [19] Cartegni L, Krainer AR. Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN. *Nat Genet* 2002;30:377–84.
- [20] Kashima T, Manley JL. A negative element in SMN2 exon 7 inhibits splicing in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* 2003;34:460–3.
- [21] Pedrotti S, Bielli P, Paronetto MP, et al. The splicing regulator Sam68 binds to a novel exonic splicing silencer and functions in SMN2 alternative splicing in spinal muscular atrophy. *EMBO J* 2010;29: 1235–47.
- [22] Singh NN, Singh RN, Androphy EJ. Modulating role of RNA structure in alternative splicing of a critical exon in the spinal muscular atrophy genes. *Nucleic Acids Res* 2007;35:371–89.
- [23] Miyajima H, Miyaso H, Okumura M, Kurisu J, Imaizumi K. Identification of a cis-acting element for the regulation of SMN exon 7 splicing. *J Biol Chem* 2002;277:23271–7.
- [24] Miyaso H, Okumura M, Kondo S, Higashide S, Miyajima H, Imaizumi K. An intronic splicing enhancer element in survival motor neuron (SMN) pre-mRNA. *J Biol Chem* 2003;278:15825–31.
- [25] Kashima T, Rao N, Manley JL. An intronic element contributes to splicing repression in spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:3426–31.
- [26] Russman BS. Spinal muscular atrophy: clinical classification and disease heterogeneity. *J Child Neurol* 2007;22:946–51.
- [27] Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. 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;70:358–68.

- [28] Dubowitz V. Chaos in classification of the spinal muscular atrophies of childhood. *Neuromuscul Disord* 1991;1:77–80.
- [29] Dubowitz V. Chaos in the classification of SMA: a possible resolution. *Neuromuscul Disord* 1995;5:3–5.
- [30] Thomas NH, Dubowitz V. The natural history of type I (severe) spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 1994;4:497–502.
- [31] Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy. *Lancet* 2008;371: 2120–33.
- [32] Dubowitz V. Ramblings in the history of spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 2009;19:69–73.
- [33] Russman BS, Iannacone ST, Buncher CR, et al. Spinal muscular atrophy: new thoughts on the pathogenesis and classification schema. *J Child Neurol* 1992;7:347–53.
- [34] Russman BS, Melchreit R, Drennan JC. Spinal muscular atrophy: the natural course of disease. *Muscle Nerve* 1983;6:179–81.
- [35] Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, et al. Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology* 2014;83:810–17.
- [36] Kaufmann P, McDermott MP, Darras BT, et al. Prospective cohort study of spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Neurology* 2012;79:1889–97.
- [37] Kaufmann P, McDermott MP, Darras BT, et al. Observational study of spinal muscular atrophy type 2 and 3: functional outcomes over 1 year. *Arch Neurol* 2011;68:779–86.
- [38] Moulard B, Salachas F, Chassande B, et al. Association between centromeric deletions of the SMN gene and sporadic adult-onset lower motor neuron disease. *Ann Neurol* 1998;43:640–4.
- [39] Crawford TO, Paushkin SV, Kobayashi DT, et al. Evaluation of SMN protein, transcript, and copy number in the biomarkers for spinal muscular atrophy (BforSMA) clinical study. *PLoS ONE* 2012;7:e33572.
- [40] Brkusanin M, Kosac A, Jovanovic V, et al. Joint effect of the SMN2 and SERF1A genes on childhood-onset types of spinal muscular atrophy in Serbian patients. *J Hum Genet* 2015;60(11):723–8.
- [41] Stratigopoulos G, Lanzano P, Deng L, et al. Association of plastin 3 expression with disease severity in spinal muscular atrophy only in postpubertal females. *Arch Neurol* 2010;67:1252–6.

Перевод выполнен специально для БФ «Семьи СМА». Переводчик Мария Никитина.

Оригинал [http://www.nmd-journal.com/article/S0960-8966\(15\)30152-8/fulltext](http://www.nmd-journal.com/article/S0960-8966(15)30152-8/fulltext)