

Rdzeniowy zanik mięśni – onasemnogene abeparvovec i inne opcje terapeutyczne

Aleksandra Majchrzak-Celińska¹, Anna Warych¹, Mikołaj Szoszkiewicz¹

¹ Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Spinal muscular atrophy – onasemnogene abeparvovec and other therapeutic options

Spinal muscular atrophy (SMA) is a neuromuscular disorder that results in the loss of motor neurons. SMA is caused by mutations in the *SMN1* gene, leading to the decreased synthesis of the SMN protein, necessary for motor neuron survival. In the past, SMA was considered to be an incurable disease, and therapy was limited only to symptomatic treatment. However, currently there are drugs which effectively inhibit the development of the disease, and even give hope for its cure. Their mechanism of action involves either delivering of a functional copy of the *SMN1* gene, or modification of the alternative splicing of the *SMN2* gene. Moreover, amelioration of muscle growth and increasing muscle contractility serves as a way of relieving the symptoms of the disease. The functional copy of *SMN1* gene is delivered by onasemnogene abeparvovec (Zolgensma). The drug contains cDNA sequences, which correspond to the missing *SMN1* gene. It is administered in the form of adeno-associated viral vector serotype 9 (AAV9)-based gene therapy, as a single intravenous infusion, to treat children less than 2 years old. Currently, the drug is approved only in the USA, and its cost exceeds PLN 2,000,000. *SMN2* has nearly identical sequence as *SMN1*, however due to alternative splicing, only around 10% of its transcript results in a full-length, functional SMN protein. Modification of the alternative splicing of the *SMN2* pre-mRNA by the drug nusinersen (Spinraza) results in an increased level of the SMN protein. Nusinersen is administered as intrathecal injections and is available both in the USA as well as in Europe. Also risdiplam and branaplam – small-molecule drugs with similar mechanism of action are now being tested in clinical trials. The inhibition of proMyostatin cleavage and slowing calcium release, leads to the increased muscle growth and contractility, respectively. So far, three promising drugs are being evaluated in clinical trials: SRK-015, which is a selective and local inhibitor of the activation of myostatin, as well as reldesemtiv (CK-2127107) and tirasemtiv (CK-2127107), both being the fast skeletal muscle troponin activators. These drugs do not affect the genetic cause of SMA, but relieve the symptoms of the disease. Early diagnosis and treatment gives hope for halting the progress of SMA, preserving motor function and extending patient's life.

Keywords: spinal muscular atrophy, *SMN1*, *SMN2*, onasemnogene abeparvovec, nusinersen.

Adres do korespondencji

Aleksandra Majchrzak-Celińska,
Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej,
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu, ul. Święcickiego 4, 60-781 Poznań,
e-mail: majcel@ump.edu.pl

Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

Konflikt interesów:

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.01.23

Zaakceptowano: 2020.01.31

Opublikowano: 2020.02.15

DOI

10.32383/farmopol/118343

ORCID

Aleksandra Majchrzak-Celińska

(ORCID iD: 0000-0002-2872-8875)

Anna Warych (ORCID iD: 0000-0003-4848-9012)

Mikołaj Szoszkiewicz (ORCID iD: 0000-0002-8353-0837)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,
na licencji CC BY NC



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Wprowadzenie

Rdzeniowy zanik mięśni (SMA) jest neurodegeneracyjną, autosomalną recesywną chorobą genetyczną, charakteryzującą się obumieraniem neuronów ruchowych w rdzeniu kręgowym [1]. Częstość występowania tego schorzenia wynosi około 1 na 10 000 żywych urodzeń [2]. Degeneracja motoneuronów destabilizuje stymulację nerwową mięśni poprzecznie prążkowanych, co objawia się hipotonią, a w następstwie stopniowym zanikiem mięśni, upośledzeniem ogólnej sprawności fizycznej oraz trudnościami w oddychaniu. U niektórych pacjentów z SMA, oprócz objawów nerwowo-mięśniowych, dochodzi również do nieprawidłowości w metabolizmie lipidów [3]. Do niedawna SMA uważane było za chorobę nieuleczalną, a standard opieki obejmował leczenie objawowe prowadzone przez neurologa, fizjoterapeutę, ortopedę lub anestesjologa. Obecnie dostępne są leki, które skutecznie hamują rozwój choroby, a wręcz dają nadzieję na jej wyleczenie.

W artykule omówiono podłoże genetyczne SMA oraz możliwe strategie terapeutyczne.

Patogeneza SMA

Przyczyną SMA jest mutacja w genie *SMN1*, w 95% przypadków polegająca na homozygotycznej delecji w obrębie chromosomu piętego (5q12.2-5q13.3), rzadziej mająca charakter mutacji punktowej [4]. U pozostałych 5% pacjentów choroba może pojawić się na skutek mutacji w innych genach, określanych jako non-5q-SMA [5]. W związku z inną etiologią, tego typu rdzeniowe zaniki mięśni nie wynikają z niedoboru białka SMN i nie będą omawiane w niniejszej pracy.

Skutkiem mutacji w *locus* 5q12.2-5q13.3 jest niedobór produktu zlokalizowanego tam genu *SMN1*, tj. białka SMN (ang. *survival of motor neuron*), zwanego też „białkiem życia neuronów ruchowych”. Wykazano, że SMN jest potrzebne do tworzenia kompleksów małych, jądrowych rybonukleoprotein (ang. *small nuclear ribonucleoproteins*, snRNP). Większość typów komórek jest w stanie skompensować lub tolerować niedobór białka SMN, jednak dla prawidłowego funkcjonowania neuronów ruchowych jest ono niezbędne. U ludzi występuje zmienna liczba kopii niemal identycznego genu *SMN2* (ang. *survival of motor neuron 2*). Przebieg choroby jest uzależniony w znacznej mierze od liczby kopii genu *SMN2*, bowiem około 10–15% białka, powstającego w wyniku ekspresji tego genu, jest funkcjonalne.

SMN1 i *SMN2* są bardzo podobne pod względem sekwencji nukleotydowej, z wyjątkiem podstawień pojedynczych nukleotydów. Jednak różnice

te są istotne dla procesu składania pre-mRNA tych genów. Zakłada się, że substytucja C>T w pozycji 6 eksonu 7 genu *SMN2* powoduje, że rejon ten przestaje być rozpoznawany jako eksonowy wzmacniacz składania przez czynnik splicingowy SRSF1 [6, 7]. Dodatkowo, w intronie 7 genu *SMN2* aktywny jest intronowy wyciszacz składania, określany symbolem ISS-N1. W rezultacie, z genu *SMN2* syntetyzowane jest krótsze, niefunkcjonalne białko SMN (nazywane SMN Δ 7) pozbawione fragmentu kodowanego przez ekson 7 [8]. Białko to jest szybko degradowane. Powyższy mechanizm dotyczy 90% cząsteczek białka, produkowanych na bazie sekwencji *SMN2*, natomiast pozostałe 10% powstających transkryptów zawiera ekson 7. W tym drugim przypadku, powstający produkt ma identyczną funkcję jak białko powstałe z genu *SMN1*. Nasilenie objawów SMA zależy zatem w dużej mierze od liczby kopii *SMN2*, przy czym zazwyczaj mniejsza liczba kopii jest związana z cięższym przebiegiem choroby [9, 10] (tabela 1).

Objawy kliniczne i warianty SMA

Wyróżnia się pięć postaci SMA, które różnią się między sobą stopniem nasilenia objawów oraz momentem ich pojawienia się. W przypadku SMA typu 0, objawy występują już w okresie noworodkowym i prowadzą do szybkiej śmierci. W przypadku SMA typu I (SMA1), znanego również jako choroba Werdniga-Hoffmana, objawy pojawiają się w ciągu pierwszych 6 miesięcy życia. Rozwój motoryczny niemowląt zostaje znacznie upośledzony, co objawia się niezdolnością do samodzielnego siedzenia, raczkowania czy chodzenia. Konieczne jest także wprowadzenie sztucznej wentylacji często przed ukończeniem drugiego roku życia. Około 60% pacjentów cierpi na powyższą postać choroby, co czyni ją najczęstszą spośród wszystkich odmian [11, 12]. Chorzy na SMA1 posiadają tylko jedną lub dwie kopie *SMN2*, co decyduje o tak ciężkim przebiegu choroby, skutkującym wysoką śmiertelnością [10]. Rdzeniowy zanik mięśni typu II (SMA2 zwany także „pośrednim” SMA lub chorobą Dubowitza)

Tabela 1. Liczba kopii genu *SMN2*, a przebieg choroby (wg Calucho i wsp. 2018).

Table 1. The number of copies of *SMN2* gene, and the course of the disease.

Postać SMA	Liczba kopii <i>SMN2</i>	Objawy motoryczne
0	1	Bardzo ciężki przebieg
1	1–2	Nigdy nie siedzą samodzielnie
2	3	Nigdy nie chodzą samodzielnie
3	≥4	Trudności w poruszaniu się
4	≥4	Łagodne osłabienie mięśni

występuje nieco później niż typ I – objawy pojawiają się w wieku od 6 do 18 miesięcy. Osiemdziesiąt pięć procent pacjentów z SMA2 posiada trzy kopie SMN2, dlatego objawy są łagodniejsze niż w przypadku SMA1 [10]. Chorzy potrafią usiąść, jednakże nie są w stanie samodzielnie stać i chodzić. Należy jednak zaznaczyć, że czasami u pacjentów posiadających trzy kopie SMN2 przebieg choroby może przybrać cięższą postać. W badaniach na uniwersytecie w Bonn, 19,7% pacjentów z trzema kopiami SMN2 miało objawy choroby typowe dla pacjentów z SMA1 [13]. Z kolei SMA typu III (SMA3 lub choroba Kugelberga-Welander) charakteryzuje się pojawieniem się objawów po ukończeniu 1. roku życia. SMA2 i SMA3 powodują poważną niepełnosprawność u dzieci i dorosłych. Postaci te postępują wolniej niż SMA1, ale rozwijają się przez całe dorosłe życie. Generują znaczące społeczne koszty szacowane odpowiednio na 8,4 i 6,4 mln USD [14]. Typ IV (SMA4 lub postać dorosła) cechuje się pojawieniem się objawów w trzeciej dekadzie życia, a zdolność chodzenia pozostaje zachowana. SMA4 jest najłagodniejszą odmianą choroby (liczba kopii SMN2 wynosi powyżej 4).

Leczenie SMA

Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat zostały przeprowadzone liczne badania kliniczne, dotyczące zastosowania niektórych związków w leczeniu

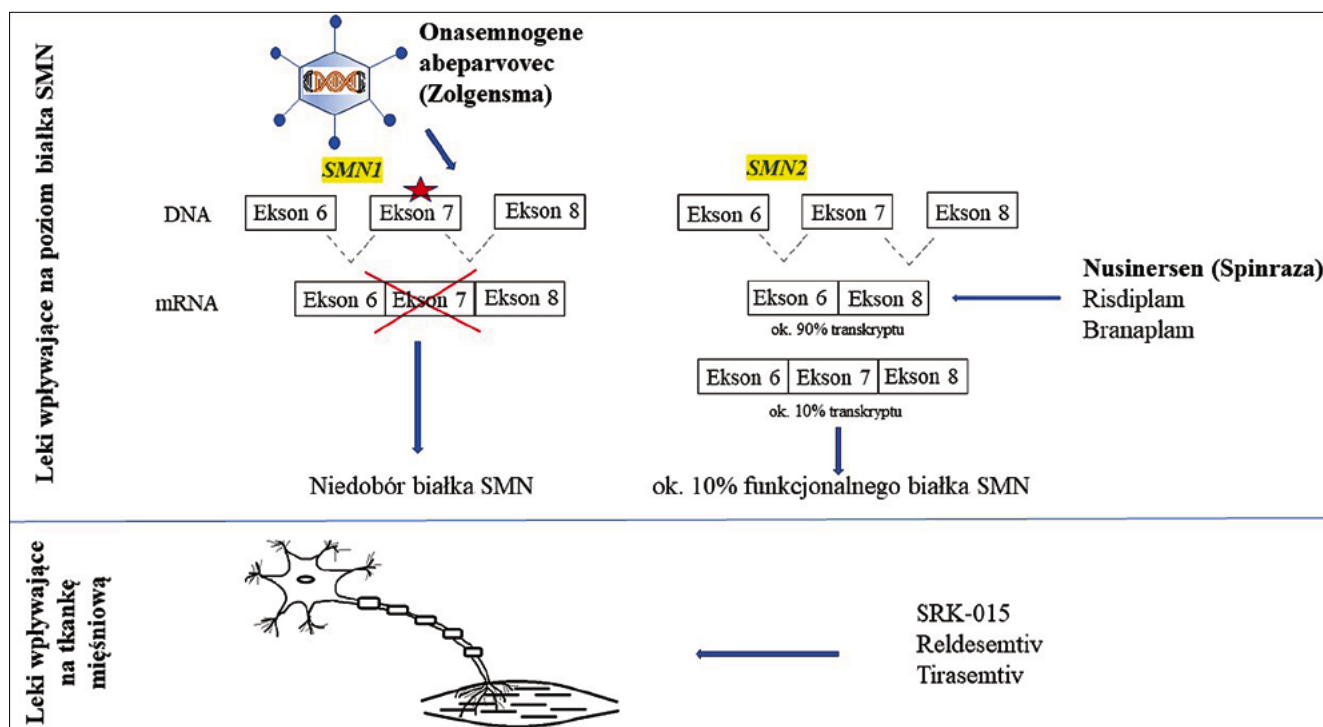
SMA. Analizowano wykorzystywanie leków, które miały wpływ na ekspresję genu SMN2 (kwas walproinowy) [15], hormonów (np. hormon wzrostu) [16] oraz środków neuroprotektoryjnych (np. gabapentyna, olesoxim) [17]. Przeprowadzone badania dostarczyły istotnych informacji, które umożliwiły opracowanie właściwych metod leczenia.

Obecnie dostępne są terapie polegające na dostarczeniu funkcjonalnej kopii genu SMN1 lub zmodyfikowaniu składowania SMN2; testowane są również leki wpływające na wzrost i funkcję mięśni (rycina 1).

Onasemnogene abeparvovec (Zolgensma, AVXS-101)

Przełomem w leczeniu SMA było opracowanie terapii genowej, w której wykorzystuje się lek o nazwie onasemnogene abeparvovec (Zolgensma, AVXS-101). Lek ten, zatwierdzony przez FDA w maju 2019 r., przeznaczony jest dla pacjentów poniżej 2 roku życia, u których występują mutacje w obu allelach genu SMN1. Produkcją preparatu leczniczego zajmuje się amerykańska firma AveXis, należąca do koncernu farmaceutycznego Novartis [12]. Lek okrzyknięto najdroższą terapią świata – koszt jednej dawki to 2,125 mln dolarów.

Preparat jest podawany w jednorazowej dawce i zawiera sekwencje cDNA, które odpowiadają prawidłowemu genowi SMN1. Kapsyd wirusa AAV9 został użyty jako nośnik wprowadzający transgen do komórek. W ten sposób motoneurony



Rycina 1. Opcje terapeutyczne mające zastosowanie w leczeniu SMA (już zarejestrowane lub w fazie badań klinicznych).

Figure 1. Treatment options for SMA – registered or in clinical trials.

wzbogacają się o brakujący gen *SMN1*. Rekomendowana dawka leku wynosi 1.1×10^{14} wektorów wirusowych na kilogram masy ciała (vg/kg mc). Onasemnogene abeparvovec jest podawany w postaci dożylniej infuzji przez 60 minut. Jednak przyjęcie leku, którego nośnikiem jest wirus, powoduje, że w organizmie tworzy się trwała odporność na ten typ wirusa. Z tego powodu, AVXS-101 można podać tylko jeden raz. Część osób naturalnie posiada przeciwciała wobec wirusów typu AAV9 – około 50% dorosłej populacji jest odporne na scAAV9. Częstość występowania odporności u dzieci jest nieznana, w badaniach klinicznych AVXS-101 wahała się od 5% w USA do 15% w Europie [18, 19].

Jak wspomniano wcześniej, wektorem wykorzystywanym w terapii jest wirus towarzyszący adenowirusom AAV9. cDNA ludzkiego genu *SMN1* zostaje wprowadzone do kapsydu, przy jednoczesnym usunięciu genomu wirusa [20]. W ten sposób otrzymuje się opakowane w wirusy sekwencje DNA, które są matrycą do syntezy prawidłowego białka SMN. Wektor dostarcza materiał genetyczny do jąder komórek (między innymi neuronów ruchowych), co pozwala na produkcję białka SMN. Dotarcie wirusa do OUN jest możliwe, gdyż unikalny kapsyd AAV9 przekracza barierę krew-mózg. DNA nie wbudowuje się do genomu biorcy, zatem długotrwałe efekty terapii są możliwe wyłącznie w komórkach dzielących się (należą do nich neurony ruchowe). Wczesne podanie onasemnogene abeparvovec jest sprawą istotną, szczególnie u pacjentów z SMA1, ponieważ ten typ choroby postępuje bardzo szybko. U chorych otrzymujących onasemnogene abeparvovec zahamowana zostaje dalsza utrata neuronów ruchowych. W konsekwencji zatrzymany jest postęp SMA. Sugeruje się, że jednorazowe podanie leku powinno przynieść dożywnotni efekt terapeutyczny [12], niemniej jednak konieczna jest wieloletnia obserwacja kliniczna pacjentów, aby w pełni to zweryfikować.

Liczba publikacji na temat onasemnogene abeparvovec jest bardzo mała. Międzynarodowe wykazy publikacji (WoS, Scopus) zawierają jedynie ok. 20 artykułów (wszystkie zostały opublikowane w 2019 r.). Publikacje zostały przygotowane w kilku ośrodkach badawczych, między innymi w Wielkiej Brytanii, Stanach Zjednoczonych, we Włoszech, Belgii, Niemczech i Szwajcarii. Najobszerniejsze badania prowadzono w Nationwide Children's Hospital (Ohio, Stany Zjednoczone) w 2019 r. Wzięło w nich udział 15 pacjentów. Chorzy zostali podzieleni na dwie grupy. Średni wiek pacjentów w czasie leczenia wynosił 6,3 miesiąca w grupie pierwszej i 3,4 miesiąca w grupie drugiej. Wszystkie osoby biorące udział w eksperymencie naukowym przeżyły i nie potrzebowały stałego wspomaganie oddychania [21].

Działania niepożądane

U pacjentów, którzy byli leczeni onasemnogene abeparvovec, zanotowano kilka działań niepożądanych. Podczas terapii u chorych zaobserwowano podwyższony poziom aminotransferaz wątrobowych AST i ALT, trombocytopenię oraz przejściowe podwyższenie poziomu troponiny sercowej. Obecnie pacjentom zaleca się monitorowanie czynności wątroby (próby wątrobowe), oznaczanie poziomu całkowitej bilirubiny oraz protrombiny. Wskazana jest terapia glikokortykosteroidowa, na dzień przed i co najmniej 30 dni po podaniu leku. Polega ona na przyjmowaniu doustnie prednizolonu w dawce 1 mg/kg/dzień. Po miesięcznej terapii wykonuje się badania kontrolne i, w zależności od ich wyniku, terapia glikokortykosteroidowa jest kontynuowana lub wycofywana poprzez stopniowe zmniejszanie dawki prednizolonu w ciągu kolejnych 30 dni [22].

Badania kliniczne

Działanie onasemnogene abeparvovec opisano w kilku badaniach klinicznych, między innymi w badaniach START (NCT02122952) i STRIVE (NCT03306277). W badaniu klinicznym START I fazy wzięło udział 15 pacjentów z SMA1. Nie wymagali oni stałej wentylacji oraz wszyscy przekroczyli wiek 20 miesięcy. Pacjenci biorący udział w badaniu zostali podzieleni ze względu na ilość podanego leku. Trzech chorych (grupa 1) otrzymało niską dawkę onasemnogene abeparvovec ($6,7 \times 10^{13}$ vg/kg), a dwunastu badanych (grupa 2) wysoką dawkę ($2,0 \times 10^{14}$ vg/kg). Lek był podawany w postaci wlewu dożylnego przez 60 min. Średni wiek chorych w pierwszej grupie, w momencie leczenia, wynosił 6,3 miesiąca, natomiast w drugiej 3,4 miesiąca [21]. Wyniki badań przedstawiono po 24 miesiącach obserwacji, które upłynęły od czasu podania onasemnogene abeparvovec. Jedno niemowlę w wieku 29 miesięcy, z grupy której podawane były niższe dawki, wymagało stałej wentylacji. Żaden z trójki pacjentów z tej kohorty nie był w stanie samodzielnie usiąść i chodzić. W grupie drugiej zaobserwowano poprawę czynności motorycznych: 92% pacjentów nabyło zdolność mowy, natomiast 17% (czyli dwoje dzieci) samodzielnie raczkowało. Z kolei 92%, 83% i 75% było w stanie usiąść bez pomocy odpowiednio przez 5, 10 i 30 sekund. Po 2 latach zaobserwowano również, że 58% z 12 pacjentów nie wymagało mechanicznej wentylacji (82% nie wymagało na początku leczenia), 92% chorych zachowało bądź nabyło zdolność do samodzielnego połykania oraz 33% dzieci mogło być karmione drogą doustną. Wyniki przeprowadzonych badań były opracowywane na podstawie testu Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders

(CHOP INTEND), którego skala mieści się w zakresie od 0 do 64. Im wyższy wynik uzyska chory, tym lepsze są jego zdolności motoryczne oraz ogólny stan zdrowia. Prawie wszyscy pacjenci (11 z 12) po 1–3 miesiącach od rozpoczęcia badania START osiągnęli lub utrzymali 40 punktów. Wyniki te są istotne klinicznie [21, 23]. Ponadto pacjenci, którzy otrzymali onasemnogene abeparvovec wcześniej (w wieku poniżej 3 miesięcy) osiągnęli poprawę funkcji motorycznych szybciej niż ci, którzy otrzymali lek później (w wieku powyżej 3 miesięcy) bez względu na wyjściowy stan zdrowia [24]. Porównanie wyników z dwóch grup wykazało zależność dawka–odpowiedź, która pozwala na kliniczne zastosowanie onasemnogene abeparvovec.

Wyniki programu START znalazły potwierdzenie w aktualnie prowadzonym badaniu klinicznym III fazy, o nazwie STRIVE. Ma ono miejsce w kilku ośrodkach zlokalizowanych na terenie Stanów Zjednoczonych. W badaniu wzięły udział 22 niemowlęta w wieku poniżej 6 miesięcy, które chorują na SMA1. Pacjenci byli karmieni drogą doustną oraz nie wymagali sztucznej wentylacji. W badaniu STRIVE pojedyncza infuzja dożylna onasemnogene abeparvovec w dawce $1,1 \times 10^{14}$ vg/kg mc pozwoliła na szybką poprawę funkcji ruchowych [25]. Zgodnie z danymi z 8 marca 2019 r. – 95% z 20 pacjentów, którzy osiągnęli 10,5 miesiąca oraz 87% z 15 pacjentów, którzy osiągnęli 13,6 miesiąca przeżyło bez mechanicznego wspomagania wentylacji. Jeden pacjent zmarł, jednak uznano, że przyczyna śmierci nie była związana z podjętym leczeniem. Wyniki badań dotyczące funkcji motorycznych przedstawiały się następująco: 50% z 22 pacjentów siedziało samodzielnie, 76% z 21 pacjentów uzyskało kontrolę nad ruchami, a 41% z 22 pacjentów mogło stać. Pacjenci uzyskali poprawę wyników testu CHOP-INTEND średnio o 14,3 punktów, która to wartość była podobna do tej otrzymanej w badaniu START; 95%, 50% i 9% z 22 pacjentów osiągnęło odpowiednio ponad 40, 50, oraz 60 punktów [19, 26].

Bardzo mało jest badań dotyczących zastosowania onasemnogene abeparvovec u pacjentów cierpiących na SMA2 i SMA3. Wyniki I fazy badania klinicznego o nazwie STRONG, które przedstawiane były na konferencjach naukowych w kwietniu i maju 2019 r. wykazały, że lek ten jest bardzo dobrze tolerowany i ma znaczący wpływ na poprawę stanu zdrowia u pacjentów chorych na SMA2 i SMA3 [27].

Modyfikacja alternatywnego składowania SMN2

Terapia polega na modyfikacji alternatywnego składowania SMN2, co prowadzi do włączenia eksonu 7 w dojrzały transkrypt mRNA. Pozwala to na

otrzymanie prawidłowego produktu ekspresji tego genu, czyli białka SMN o pełnej długości. W tym celu możliwe jest wdrożenie jednej z dwóch ścieżek leczenia. Pierwsza z nich wykorzystuje antysensowne oligonukleotydy (ASO), których działanie polega na blokowaniu intronowego wyciszacza składowania ISS-N1 w intronie 7. Druga metoda składa się ku stosowaniu drobnocząsteczkowych leków, których mechanizm działania nie jest do końca poznany [7].

ASO znajdują zastosowanie w leczeniu wielu chorób. Wykorzystywane są głównie w onkologii, angioplastyce naczyń wieńcowych, chorobach neurologicznych oraz w leczeniu chorób wirusowych i pasożytniczych [28]. Od 3 lat ASO pomagają również w leczeniu SMA. ASO są krótkimi (zwykle o długości 15–30 nukleotydów), jednocieczkowymi cząsteczkami kwasów nukleinowych. Mają zdolność do rozpoznawania oraz wiązania się z sekwencjami RNA zgodnie z zasadą komplementarności. Rozpoznając rejon pre-mRNA SMN2, który jest właściwy dla intronowego wyciszacza składowania ISS-N1, uniemożliwiają jego wiązanie z odpowiednimi czynnikami splicingowymi. W rezultacie granica między eksonem 7 i intronem 7 jest wykrywana, co prowadzi do włączenia eksonu 7 do dojrzałego transkryptu. Zwiększa się poziom funkcjonalnego białka SMN u chorych, co w konsekwencji przyczynia się do zmniejszonego obumierania neuronów ruchowych w rdzeniu kręgowym [29]. Przykładem ASO jest pierwszy lek zatwierdzony do leczenia SMA u dzieci i dorosłych – nusinersen. W grudniu 2016 r. amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA), a w maju 2017 r. Europejska Agencja Leków (EMA) dopuściły produkt o nazwie handlowej Spinraza (zawierający nusinersen) do obrotu, odpowiednio na terenie Stanów Zjednoczonych i Unii Europejskiej. Ze względu na duże rozmiary cząsteczki i brak możliwości przekroczenia przez nią bariery krew–mózg, preparat podawany jest dooponowo, bezpośrednio do płynu mózgowo–rdzeniowego. Schemat podawania nusinersenu obejmuje podanie pierwszej dawki zawierającej 12 mg leku, a następnie 3 kolejnych dawek po upływie 2, 4 i 9 tygodni. Następnie dawki podtrzymujące podawane są co 4 miesiące. Zaleca się, by leczenie kontynuować, dopóki pacjent odnosi z niego korzyści.

Bezpieczeństwo i skuteczność nusinersenu oceniane są w trwającym badaniu klinicznym II fazy o nazwie NURTURE. Celem badania jest wykazanie, że wcześniej podjęte leczenie (jeszcze w fazie przedobjawowej) może wstrzymać lub znacząco opóźnić wystąpienie objawów klinicznych u niemowląt z SMA. Analiza okresowa na 29 marca 2019 r. wskazuje, że w badaniu wzięło

udział 25 niemowląt z potwierdzonym genetycznym, ale przedobjawowym SMA, będących w wieku do 6 tygodni w momencie podania pierwszej dawki leku. Piętnaścioro niemowląt posiadało dwie kopie genu *SMN2* (najprawdopodobniej rozwinie się u nich SMA1), a pozostałe dziesięcioro miało trzy kopie genu (najprawdopodobniej wystąpi u nich SMA2). Raport sporządzony po 2,9 latach od momentu rozpoczęcia badania wskazuje, że wszystkie dzieci (o medianie wieku 34,8 miesięcy) przeżyły i nie wymagały stałej, wspomaganiej wentylacji. Ponadto odnotowano, że 25 uczestników badania (100%) mogło siedzieć bez wsparcia, 23/25 (92%) osiągnęło zdolność chodzenia z pomocą, zaś 22/25 (88%) chodziło samodzielnie. U 8 niemowląt wystąpiły działania niepożądane, potencjalnie związane z prowadzoną terapią. Wyniki te wskazują na istotne korzyści płynące z wczesnego, jeszcze przedobjawowego wdrożenia leczenia nusinersenem i podkreślają zasadność wprowadzenia badań przesiewowych noworodków [30].

Kolejne interesujące wyniki przyniosło badanie kliniczne III fazy o nazwie ENDEAR. W badaniu wzięło udział 121 dzieci, które zostały losowo przydzielone do dwóch grup. W pierwszej grupie 80 pacjentów otrzymywało nusinersen, a pozostałe 41 niemowląt stanowiło grupę kontrolną. Lek podawano dooponowo w dawce 12 mg, kolejno: 1, 15, 29, 64 dnia i następnie raz na 4 miesiące. Wyniki badania wykazały statystycznie istotną różnicę w osiąganiu kamieni milowych u dzieci, które otrzymywały nusinersen (51%) w stosunku do grupy kontrolnej (0%). W grupie badanej 22% dzieci wykonywało prawidłowe ruchy głową, 10% przewracało się z brzucha na plecy, 8% samodzielnie siedziało, a 1% był w stanie stać. W grupie kontrolnej żaden pacjent nie osiągnął wyżej wymienionych kamieni milowych [31].

Skuteczność nusinersenu wykazana została również w badaniu klinicznym III fazy o nazwie CHERISH (NCT02292537) z udziałem 126 chorych, u których objawy pojawiły się po ukończeniu 6 miesięcy życia. Pacjenci leczeni nusinersenem (12 mg w schemacie podania: 1, 29, 85 i 274 dzień) wykazywali statystycznie istotną poprawę funkcji motorycznych, zaś odsetek działań niepożądanych był porównywalny z grupą kontrolną [32].

Dzięki zastosowaniu powyżej opisanej terapii, pacjenci mają szansę na znacznie łagodniejszy przebieg choroby [33]. Najczęstsze działania niepożądane związane ze stosowaniem nusinersenu (mogące wystąpić u więcej niż 1 osoby na 10) to ból pleców i wymioty. Uważa się, że są one wywołane przez dooponowe podanie leku.

Druga strategia modulacji składania *SMN2* opiera się na zastosowaniu drobnocząsteczkowych

leków takich jak risdiplam. W przypadku obu preparatów leczniczych zakończono II fazę badań klinicznych. Celem stosowania wymienionych farmaceutyków jest, tak jak poprzednio, zwiększenie ilości funkcjonalnego białka SMN poprzez włączenie eksonu 7 do transkryptu *SMN2*. Ponadto odkryto, że drobnocząsteczkowe leki mogą charakteryzować się wysoką wybiórczością. Oznacza to, że wykazują działanie molekularne względem jednego bądź kilku ściśle wybranych genów [11]. Leki przyjmowane są doustnie i przekraczają barierę krew-mózg [34]. Działają systemowo, co daje im przewagę nad oligonukleotydami, gdyż białko SMN produkowane jest nie tylko w tkance nerwowej, ale również (w mniejszym stopniu) w innych tkankach. Zastosowanie drobnocząsteczkowych leków umożliwia wobec tego kontrolę objawów obwodowych choroby.

Risdiplam został dopuszczony do III fazy badań klinicznych u pacjentów z SMA1 (FIREFISH) oraz u pacjentów z SMA2 (SUNFISH). W pierwszej części badania FIREFISH, której czas trwania wynosił ponad rok, wzięło udział 21 pacjentów. Siedemnastu osobom podawano wyższą dawkę risdiplamu, a czterem mniejszą. Średni wiek pacjentów wynosił 6,7 miesiąca. Czwórka dzieci zmarła po około roku. Z 17 pacjentów 7 (41%) w kohorcie z wyższą dawką było w stanie siedzieć samodzielnie przez 5 sekund, a 10 (59%) osiągnęło wynik CHOP INTEND równy 40. Obecnie trwa druga część badania FIREFISH, w której bierze udział 41 pacjentów.

Z kolei w pierwszej części badania klinicznego SUNFISH wzięło udział 51 pacjentów, z których 37 chorowało na SMA2, a 14 na SMA3. Średni wiek pacjentów wynosił 7 lat, a obserwacja trwała rok. W porównaniu do chorych nieobjętych terapią, którzy stracili 1,44 punktu w pomiarze funkcji motorycznych (MFM) w ciągu roku, u chorych leczonych risdiplamem odnotowano poprawę o 2,66 punktu. Zmiana była zauważalna przede wszystkim u pacjentów poniżej 12 roku życia. Ostatnie informacje przedstawione przez koncern farmaceutyczny, wskazują na równie pozytywne wyniki z drugiej części projektu SUNFISH. Badaniem objęto 180 pacjentów z SMA2 i SMA3 w wieku 2–25 lat [35].

Trwa również II faza badań klinicznych (RAINBOWFISH) w celu wykorzystania risdiplamu u pacjentów z przedobjawowym SMA. Rekrutowane są dzieci do 6 tygodnia życia z potwierdzonym genetycznie SMA, niewykazujące objawów choroby. Polska jest jednym z krajów biorących udział w tym badaniu klinicznym, a nabór jest wciąż otwarty.

Drugi związek będący drobnocząsteczkowym modulatorem składania *SMN2*, branaplam

testowany jest obecnie w badaniu klinicznym NCT02268552. W badaniu tym oceniane jest bezpieczeństwo, parametry farmakokinetyczne i farmakodynamiczne oraz skuteczność leczenia brana-plamem pacjentów z SMA1. Szacowany czas zakończenia badania to lipiec 2020 r.

Stymulacja wzrostu oraz poprawa kurczliwości mięśni

Trzecie podejście terapeutyczne nie wiąże się bezpośrednio z patogenezą SMA, skupia się natomiast na objawach choroby. Ma za zadanie udoskonalić funkcję oraz zwiększyć masę tkanki mięśniowej u pacjenta. Leczenie to powinno być terapią uzupełniającą do leczenia przyczynowego, niemniej jednak możliwe jest również podawanie tych leków w monoterapii [36]. W fazie badań są trzy obiecujące związki: SRK-015, reldesemtiv (CK-2127107) oraz tirasemtiv (CK-2127107).

SRK-015, opracowane przez amerykańską firmę Scholar Rock, należy do inhibitorów mio-statyny, która ogranicza rozwój mięśni szkieletowych. Jest to ludzkie przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko pro-miostatynie. Związek wiąże się i blokuje jej przemianę w mio-statynę. Podanie leku sprawia, że wzrasta masa oraz siła mięśni. SRK-015 podawany jest drogą dożylną [37]. Badania przeprowadzone na myszach, potwierdzają bezpieczeństwo oraz pozytywny wpływ preparatu na zwierzęta [38]. Obecnie trwa nabór do badania klinicznego II fazy (TOPAZ, NCT03921528), prowadzonego w Europie i USA, którego celem jest ewaluacja bezpieczeństwa i skuteczności SRK-015 w leczeniu SMA2 i SMA3. Rekrutowanych jest 55 pacjentów w wieku 2–21 lat. Testowane będą dwie dawki, tj. 2 mg/kg m.c. lub 20 mg/kg m.c., podawane co 4 tygodnie w postaci wlewu dożylnego, przez rok. Wyniki tego badania będą znane w kwietniu 2021 r.

Reldesemtiv (CK-2127107) należy do grupy szybkich aktywatorów troponiny (ang. *Fast Skeletal Muscle Troponin Activators*, FSTA). Jego działanie polega na spowolnieniu uwalniania wapnia, co skutkuje zwiększeniem kurczliwości włókien mięśniowych. Lek poprawia funkcję mięśni szkieletowych w czasie choroby, kiedy sygnał nerwowy jest osłabiony [39]. Jego zastosowanie w SMA badano u 70 pacjentów z SMA2–4. Stwierdzono łagodną, ale istotną statystycznie poprawę w sześciominutowym teście marszu (6MWT) po 4 i 8 tygodniach leczenia [38].

Kolejnym lekiem z grupy szybkich aktywatorów troponiny jest tirasemtiv (CK-2127107). Badania przedkliniczne oraz I fazy wskazują na dobrą tolerancję leku oraz korzyści z jego stosowania [36].

Podsumowanie

Innowacyjne podejście terapeutyczne w leczeniu SMA zmieniło rokowanie u pacjentów z tą rzadką, wyniszczającą chorobą. W celu osiągnięcia najlepszej skuteczności, należy jak najszybciej postawić diagnozę oraz rozpocząć leczenie. Najlepsze rokowanie mają pacjenci, u których podaje się lek jeszcze przed zaobserwowaniem pierwszych objawów choroby, stąd tak ważne jest wdrożenie diagnostyki przesiewowej noworodków. Obecnie największe nadzieje pokłada się w terapii genowej lekiem onasemnogene abeparvovec. Mając na uwadze fakt, że terapia ta jest nowa, konieczne są dalsze badania, aby w pełni zweryfikować skuteczność leku, opisywaną jako efekt dożywności. Ponadto, istotną przeszkodą jest też koszt terapii, rzędu 2 mln dolarów, co sprawia, że nie każdy pacjent ma szansę na jej otrzymanie. Terapia ta jest obecnie dostępna tylko na terenie USA, niemniej jednak można mieć nadzieję na szybkie jej wdrożenie również na terenie Unii Europejskiej. Przełomem w leczeniu SMA jest także nusinersen, który hamuje rozwój choroby, przedłużając życie i oddalając wizję niepełnosprawności. Obecnie w Polsce terapia nusinersem jest refundowana. Ponadto, trwają badania kliniczne nad lekami stymulującymi wzrost oraz zwiększającymi siłę mięśni. SMA, do niedawna uważany za chorobę nieuleczalną, doczekał się terapii, które obecnie można uznać za bardzo obiecujące.

Piśmiennictwo

1. Kolb SJ. Spinal Muscular Atrophy. *Archives of Neurology*. 2011; 68(8): 979. doi: 10.1001/archneuro.2011.74.
2. Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, Akmaev VR, Zhou Z, Rohlf EM, Flynn K, Hendrickson BC, Scholl T, Sirko-Osada DA, Allitto BA. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet*. 2012; 20(1): 27–32. doi: 10.1038/ejhg.2011.134.
3. Tein I, Sloane AE, Donner E J, Lehotay DC, Millington DS, Kelley RI. Fatty acid oxidation abnormalities in childhood-onset spinal muscular atrophy: Primary or secondary defect(s)? *Pediatric Neurology*. 1995; 12(1): 21–30. doi: 10.1016/0887-8994(94)00100-G.
4. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*. 1995; 80(1): 155–165. doi: 10.1016/0092-8674(95)90460-3.
5. Chien SC, Su YN. Current Aspects in the Molecular Genetics and Diagnostics of Spinal Muscular Atrophy. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2005; 44(3): 201–208. doi: 10.1016/s1028-4559(09)60142-x.
6. Wysokiński D, Błasiak J. Perspektywy wykorzystania interferencji RNA w terapii chorób związanych z zaburzeniami alternatywnego składowania RNA. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2012; 66: 683–695. doi: 10.5604/17322693.1010502.
7. Paluszczak J. Proces składowania RNA jako cel oddziaływania terapeutycznego. *Farmacja Polska*. 2019; 75(11). doi: 10.32383/farm-pol/115754.
8. Nruputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H. Spinal muscular atrophy: from gene discovery to clinical trials. *Ann Hum Genet*. 2013; 77(5): 435–463. doi: 10.1111/ahg.1203
9. Jędrzejowska M, Kostera-Pruszycki A. Rdzeniowy zanik mięśni – nowe terapie, nowe wyzwania. *Neurol Dziecięca*. 2017; 26: 11–17. <https://doi.org/10.20966/chn.2017.52.400>.

10. Calucho M., Bernal S, Alias L, March F, Venceslá A, Rodríguez-Álvarez FJ, Aller E, Fernández RM, Borrego S, Millán JM, Hernández-Chico C, Cuscó I, Fuentes-Prior P, Tizzano, EF. Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscular Disorders*. 2018; 28(3): 208–215. doi: 10.1016/j.nmd.2018.01.003.
11. Dangouloff T, Servais L. Clinical Evidence Supporting Early Treatment Of Patients With Spinal Muscular Atrophy: Current Perspectives. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2019; 15: 1153–1161. <http://doi.org/10.2147/TCRM.S172291>.
12. Rao VK, Kapp D, Schroth M. Gene therapy for spinal muscular atrophy: an emerging treatment option for a devastating disease. *J. Manag. Care Spec. Pharm.* 2018; 24(12-a Suppl): 3–16. doi: 10.18553/jmcp.2018.24.12-a.s3.
13. 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. *The American Journal of Human Genetics*. 2002; 70(2): 358–368. doi: 10.1086/338627.
14. Klug C, Schreiber-Katz O, Thiele S, Schorling, E, Zowe J, Reilich P, et al. Disease burden of spinal muscular atrophy in Germany. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2016; 11(1). doi: 10.1186/s13023-016-0424-0.
15. Kissel JT, Elsheikh B, King WM, Freimer M, Scott CB, Kolb SJ, Reyna SP, Crawford TO, Simard LR, Krosschell KJ, Acsadi G, Schroth MK, D'anjou G, Lasalle B, Prior TW, Sorenson S, Maczulski J, Swoboda KJ. Sma valiant trial: a prospective, double-blind, placebocontrolled trial of valproic acid in ambulatory adults with spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2014; 49: 187–92. doi: 10.1002/mus.23904
16. Kirschner J, Schorling D, Hauschke B, Rensing-Zimmermann C, Wein U, Grieben U, Schottmann G, Schara U, Konrad K, Müller-Felberf W, Thiele S, Wilichowski E, Hobbiebrunken E, Stettner GM, Korinthenberg R. Somatropin treatment of spinal muscular atrophy: A placebo-controlled, double-blind crossover pilot study. *Neuromuscular Disorders*. 2013; 24: 134–142. doi: 10.1016/j.nmd.2013.10.011.
17. Merlini L, Solari A, Vita G, Bertini E, Minetti C, Mongini T, Mazzoni E, Angelini C, Morandi L. Role of Gabapentin in Spinal Muscular Atrophy: Results of a Multicenter, Randomized Italian Study. 2003; 18: 537–541. doi: 10.1177/08830738030180080501.
18. Fundacja SMA. Stanowisko fundacji SMA na temat terapii genowej AVXS-101. (online) 2019. Dostępny w Internecie: <https://www.fsma.pl/2019/11/stanowisko-fundacji-sma-na-temat-terapii-genowej-avxs-101/>.
19. Hoy SM. Onasemnogene Apeparvovec: First Global Approval. *Drugs*. 2019; 79: 1255–1262. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01162-5>.
20. Foust KD, Wang X, McGovern VL, Braun L, Bevan AK, Haidet AM, et al. Rescue of the spinal muscular atrophy phenotype in a mouse model by early postnatal delivery of SMN. *Nature Biotechnology*. 2010; 28(3): 271–274. doi: 10.1038/nbt.1610.
21. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N Engl J Med*. 2017; 377(18): 1713–1722. doi: 10.1056/nejmoa1706198.
22. U.S. Food and Drug Administration. Dokument pdf. (online) 2019. Dostępny w Internecie: <https://www.fda.gov/media/126109/download>.
23. Shell R, Al-Zaidy S, Arnold W, Rodino-Klapac L, Prior T, Kothaet K, et al. AVXS-101 phase 1 gene therapy clinical trial in spinal muscular atrophy type 1: improvement in respiratory and bulbar function reduces frequency and duration of hospitalizations compared to natural history [abstract]. *Neuromuscul Disord*. 2018; 28 (Suppl 2): 82. doi: 10.1016/j.nmd.2018.06.206.
24. Lowes LP, Alfano LN, Arnold WD, Shell R, Prior TW, McColly M, et al. Impact of Age and Motor Function in a Phase 1/2A Study of Infants With SMA Type 1 Receiving Single-Dose Gene Replacement Therapy. *Pediatric Neurology*. 2019; 98: 39–45. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.05.005.
25. Shahryari A, Saghaeian J, Mohammadi M, Nikoo SR, Nazari H, Hosseini Z, et al. Development and Clinical Translation of Approved Gene Therapy Products for Genetic Disorders. *Frontiers in Genetics*. 2019; 10: 8–9. doi: 10.3389/fgene.2019.00868.
26. Shell R, Day J, Chiriboga C, Crawford T, Darras BT, Finkel R, Connolly AM, et al. AVXS-101 gene-replacement therapy (GRT) for spinal muscular atrophy type 1 (SMA1): pivotal phase 3 study (STRIVE) update [abstract]. *Neurology*. 2019; 92(15 Suppl). https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A2789.
27. Finkel R, Day J, Darras B, Kuntz N, Connolly AM, Crawford T, et al. Phase 1 study of intrathecal administration of AVXS-101 gene-replacement therapy (GRT) for spinal muscular atrophy type 2 (SMA2) (STRONG) [abstract]. *Neurology*. 2019; 92 (15 Supplement).
28. Bąkowska-Zywicka K, Tyczewska A, Twardowski T. Choroby cywilizacyjne – terapeutyczne zastosowania strategii antysensu. *Nauka*. 2008; 45–62. Dostępny w Internecie: http://www.pan.poznan.pl/nauki/N_108_04_Twardowski.pdf.
29. Havens MA, Hastings ML. Splice-switching antisense oligonucleotides as therapeutic drugs. *Nucleic Acids Res*. 2016; 44: 6549–6563. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw533>.
30. De Vivo DC, Bertini E, Swoboda KJ, Hwu WL, Crawford TO, Finkel RS, 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. *Neuromuscular Disorders*. 2019. doi: 10.1016/j.nmd.2019.09.007.
31. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, Connolly AM, Kuntz NL, Kirschner J, et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(18): 1723–1732. doi: 10.1056/nejmoa1702752.
32. Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA, Day JW, Campbell C, Connolly AM, Iannaccone ST, Kirschner J, Kuntz NL, Saito K, Shieh PB, Tulinius M, Mazzone ES, Montes J, Bishop KM, Yang Q, Foster R, Gheuens S, Bennett CF, Farwell W, Schneider E, De Vivo DC, Finkel RS. Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. *New England Journal of Medicine*. 2018; 378(7): 625–635. doi: 10.1056/NEJMoa1710504.
33. Bennett CF. Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age. *Annu Rev. Med.* 2019; 70: 307–321. Dostępny w Internecie: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-041217-010829>.
34. Poirier A, Weetall M, Heinig K, Bucheli F, Schoenlein K, Alsenz J, Bassett S, Ullah M, Senn C, Ratni H, Naryshkin N, Paushkin S, Mueller L. Risdiplam distributes and increases SMN protein in both the central nervous system and peripheral organs. *Pharmacol Res Perspect* 2018; 6: e00447. doi: 10.1002/prp2.447.
35. Ramdas S, Servais L. New treatments in spinal muscular atrophy: an overview of currently available data. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2020; 21(3): 307–315. doi: 10.1080/14656566.2019.1704732.
36. Kariyawasam D, Carey KA, Jones KJ, Farrar MA. New and developing therapies in spinal muscular atrophy. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2018. doi: 10.1016/j.prrv.2018.03.003.
37. Long KK, O'Shea KM, Khairallah RJ, Howell K, Paushkin S, Chen KS, Cote SM, Webster MT, Stains JP, Treece E, Buckler A, Donovan A. Specific inhibition of myostatin activation is beneficial in mouse models of SMA therapy. *Human Molecular Genetics*. 2019; 28: 1076–1089. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy382>.
38. Schorling DC, Pechmann A, Kirschner J. Advances in Treatment of Spinal Muscular Atrophy – New Phenotypes, New Challenges, New Implications for Care. *Journal of neuromuscular diseases*. 2019; 1–13. doi: 10.3233/JND-190424.
39. Andrews JA, Miller TM, Vijayakumar V, Stoltz R, James JK, Meng L, Wolff AA, Malik F. Ck-2127107 amplifies skeletal muscle response to nerve activation in humans. *Muscle & Nerve*. 2017; 57: 729–734. doi: 10.1002/mus.26017.