

DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2023-13-62-73>

Факторы, модифицирующие течение спинальной мышечной атрофии 5q

М.А. Ахьямова, О.А. Щагина, А.В. Поляков

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Мария Альбертовна Ахьямова albmasha@gmail.com

Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (СМА 5q) – это тяжелое аутосомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, характеризующееся прогрессирующими симптомами вялого паралича и мышечной атрофии вследствие дегенерации α -мотонейронов передних рогов спинного мозга. В настоящее время основным модифицирующим фактором СМА считают число копий гена *SMN2*, однако описано достаточное количество и других генетических и негенетических модификаторов течения СМА.

Расширенный неонатальный скрининг, стартовавший в РФ в 2023 г., позволяет обнаруживать СМА 5q до возникновения клинических проявлений. Однако для начала терапии и подбора правильного препарата важно знание не только основного модифицирующего фактора (числа копий *SMN2*), но и других генетических причин, которые могут повлиять на возраст манифестации болезни либо на эффективность терапии.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия 5q, *SMN1*, *SMN2*, модифицирующие факторы

Для цитирования: Ахьямова М.А., Щагина О.А., Поляков А.В. Факторы, модифицирующие течение спинальной мышечной атрофии 5q. Нервно-мышечные болезни 2023;13(4):62–73. DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2023-13-4-62-73>

Factors modifying the course of spinal muscular atrophy 5q

M.A. Akhkiamova, O.A. Shchagina, A.V. Polyakov

Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia

Contacts: Maria Albertovna Akhkiamova albmasha@gmail.com

Proximal spinal muscular atrophy 5q (SMA 5q) is a severe autosomal recessive neuromuscular disease characterized by progressive symptoms of flaccid paralysis and muscular atrophy due to degeneration of α -motor neurons of the anterior horns of the spinal cord. To date, the main modifying factor of spinal muscular atrophy is considered to be the number of copies of the *SMN2* gene. However, a sufficient number of other genetic and non-genetic modifiers of the course of SMA have been described.

Advanced neonatal screening, which started in the Russian Federation in 2023, allows detecting SMA 5q before the onset of clinical manifestations. However, to start therapy and select the right drug, it is important to know not only the main modifying factor (the number of copies of *SMN2*), but also other genetic causes that may affect the age of the disease manifestation or the effectiveness of therapy.

Keywords: spinal muscular atrophy 5q, *SMN1*, *SMN2*, modifying factors

For citation: Akhkiamova M.A., Shchagina O.A., Polyakov A.V. Factors modifying the course of spinal muscular atrophy 5q. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2023;13(4):62–73. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2023-13-4-62-73>

Введение

Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (СМА 5q) – тяжелое аутосомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, характеризующееся прогрессирующими симптомами вялого паралича и мышечной атрофии вследствие дегенерации α -мотонейронов передних рогов спинного мозга [1]. Частота носительства заболевания в мире составляет 1 случай на 40–60 чело-

век [2, 3], в России – 1 случай на 36 человек [4]. Распространенность заболевания в разных странах составляет 1 случай на 6–10 тыс. новорожденных [5], расчетная частота СМА 5q в России – 1 случай на 5184 новорожденного [4].

Причиной проксимальной СМА 5q являются патогенные варианты гена выживаемости мотонейрона (*SMN1*). Ген *SMN1* (OMIM: *600354) картирован

на хромосоме 5 в локусе 5q12.2—q13.3 и имеет центромерную копию — ген выживаемости мотонейрона 2 (*SMN2*; OMIM: *601627). Оба гена состоят из 9 экзонов (1, 2а, 2b, 3—8) и различаются 5 нуклеотидами в последовательности ДНК (три в интронах 6 и 7, двумя в экзонах 7 и 8). Замена с.840С>Т экзона 7 *SMN2*, создающая сайт связывания для репрессора сплайсинга, является причиной различия транскриптов генов. Белок выживаемости мотонейронов SMN состоит из 294 аминокислотных остатков с молекулярной массой 38 кДА и функционирует в ядре и цитоплазме. В ядрах полноразмерный функциональный белок SMN (FL-SMN) локализуется в сфероподобных структурах (гемах), ассоциированных с тельцами Кахаля. FL-SMN является продуктом гена *SMN1*. Ген *SMN2* продуцирует 90 % неполноразмерного белка и 10 % полноразмерного функционального протеина. Большая часть транскрипта *SMN2* не содержит ex7 (*SMNΔ7*), как следствие, экспрессируемый белок является функционально неполноценным, а убиквитин-протеазная система приводит к его деградации (рис. 1). SMN представляет собой белок «домашнего хозяйства» [6]. Биологическая роль белка SMN заключается в процессинге и сплайсинге пре-мРНК, аксональном транспорте мРНК в α-мотонейроны, нейрогенезе, биогенезе малых ядерных и ядрышковых рибонуклеопротеидов [7]. Снижение уровня белка SMN приводит к дефектам мотонейронов (усечение, разветвление, замедление роста

аксонов), нарушениям в нервно-мышечных синапсах (накопление нейрофиламентов в пресинаптических терминалях, формирование незрелых постсинаптических терминалей), функциональным аномалиям — нарушению процесса эндоцитоза и, как следствие, к формированию фенотипа СМА. Низкие уровни полноразмерного белка SMN влияют на минорную сплайсому U12, накапливаются aberrантно сплайсированные транскрипты. Неправильно сплайсированные транскрипты влияют на гомеостаз кальция и управляемую напряжением кластеризацию кальция — процессы, которые нарушаются у пациентов с СМА 5q [6].

Гомозиготные делеции экзонов 7 и 8 гена *SMN1* являются причиной СМА в 94—96 % случаев [8]. Наиболее распространена частичная делеция размером 6,3 т.п.н., включающая всю последовательность гена. Встречаются изолированные делеции экзона 7 протяженностью 1,9 т.п.н., ограниченные фланкирующими его интронами. Также делеции могут иметь большую протяженность и затрагивать соседние гены *NAIP*, *GTF2H2A* и *SERF1A*. В 3—6 % случаев СМА встречаются компаунд-гетерозиготы по делеции и малой мутации (миссенс, нонсенс либо малой делеции/инсерции) [9]. В литературе описаны единичные случаи СМА, вызванные биаллельными малыми вариантами [10].

Локус СМА представлен прямой дупликацией размером до 500 т.п.н., содержащей 4 гена: *SMN* (белок выживаемости мотонейронов), *NAIP* (белок — инги-

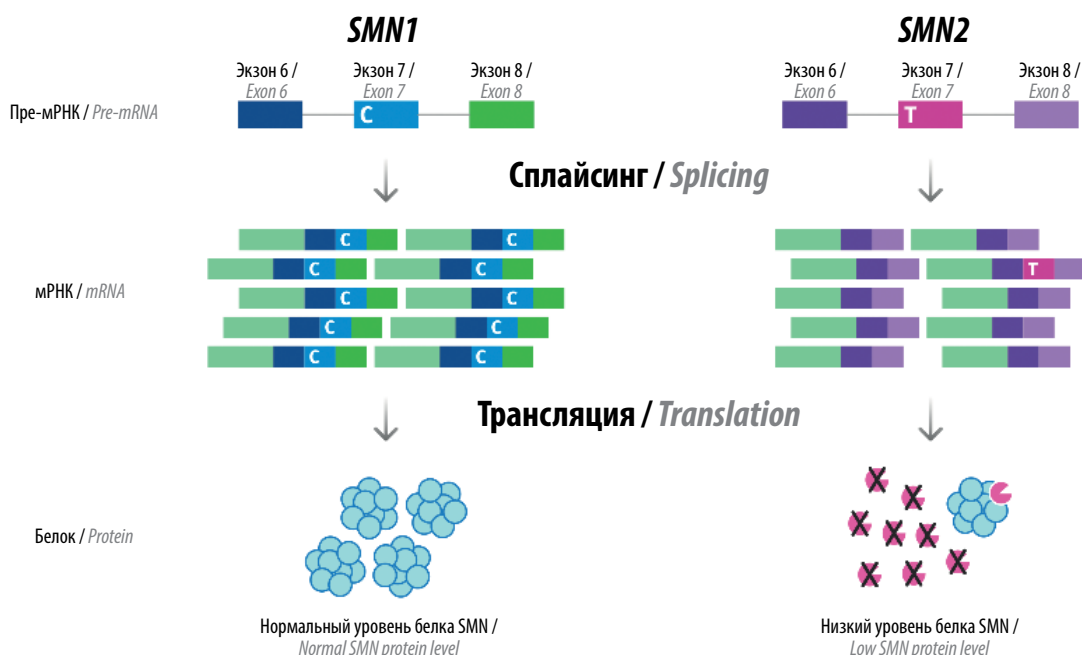


Рис. 1. Различия транскриптов генов *SMN1* и *SMN2* с последующим влиянием на белок. Экзон 7 гена *SMN1* содержит цитозин в положении с.840, что приводит к правильному сплайсингу и образованию полноразмерного функционального белка SMN. Замена с.840С>Т экзона 7 гена *SMN2* создает новый сайт сплайсинга, вырезает 7 экзон из пре-мРНК, что приводит к неполноразмерному нефункциональному белку SMN

Fig. 1. Differences in the transcripts of the *SMN1* and *SMN2* genes with subsequent effects on the protein. Exon 7 of the *SMN1* gene contains cytosine at position c.840, which leads to proper splicing and formation of a full-sized functional SMN protein. Replacing c.840C>T exon 7 of the *SMN2* gene creates a new splicing site, cuts out the 7 exon from the pre-mRNA, which leads to an incomplete non-functional SMN protein

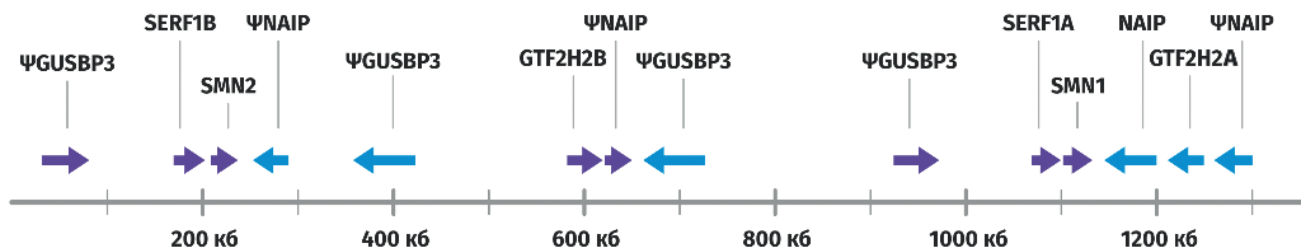


Рис. 2. Структура локуса *SMN*. Гены *SMN1* и *SMN2* располагаются на карте примерно на расстоянии 848 т.п.н. друг от друга и имеют одинаковую ориентацию. Примерно на 6,5 т.п.н. выше *SMN2* находится *SERF1B*, а на 16,4 т.п.н. ниже *SMN2* располагается псевдоген *NAIP*, содержащий экзоны 6–17 (экзоны Ensembl от ENSE00003489009 до ENSE00003505062). Ген *GTF2H2B* находится на 338 т.п.н. ниже *SMN2*, за ним следует второй псевдоген *NAIP*, содержащий экзон 3 (экзон Ensembl ENSE00003668305) и экзоны 6–9 (экзоны Ensembl ENSE00003489009 по ENSE00002219419). На 6,5 т.п.н. выше от *SMN1* расположен *SERF1A*, и на 16,4 т.п.н. ниже находится *NAIP*, на 80 т.п.н. ниже *SMN1* следует *GTF2H2A*, за которым определяется псевдоген *NAIP*, который содержит экзоны 6–13 (экзоны Ensembl от ENSE00003489009 до ENSE00003590701). Также определены 4 копии псевдогена *GUSBP3* (глюкуронидаза, бета-псевдоген 3), содержащие различные комбинации экзонов и в разной ориентации

Fig. 2. The structure of the *SMN* locus. The *SMN1* and *SMN2* genes are located on the map at a distance of approximately 848 kb from each other and have the same orientation. Approximately 6.5 kb above *SMN2* is the *SERF1B*, and 16.4 kb below *SMN2* is the *NAIP* pseudogene containing exons 6–17 (Ensembl exons from ENSE00003489009 to ENSE00003505062). The *GTF2H2B* gene is 338 kb lower than *SMN2*, followed by the second the pseudogene *NAIP*, containing exon 3 (exon Ensembl ENSE00003668305) and exons 6–9 (exons Ensembl ENSE00003489009 by ENSE00002219419). By 6.5 kb above *SMN1* is the *SERF1A* and 16.4 kb below is the *NAIP*, 80 kb below *SMN1* is the *GTF2H2A*, followed by the pseudogene *NAIP*, which contains exons 6–13 (Ensembl exons from ENSE00003489009 to ENSE00003590701). There are also 4 copies of *GUSBP3* (glucuronidase, beta-pseudogen 3) pseudogene containing various combinations of exons and in different orientations

битор апоптоза нейронов), *GTF2H2A* (общий транскрипционный фактор ПН, р44), *SERF1A* (малый EDRK-богатый фактор 1A, H4F5A). Центромерные копии генов либо идентичны своему гену-партнеру (*SERF1B*), либо являются псевдогенами (*ΨGTF2H2B*, *ΨNAIP15*) [9]. С. Ruhno и соавт. (2019) предложили карту региона СМА (рис. 2). Локус 5q13 является нестабильным регионом, состоящим из повторяющихся последовательностей, псевдогенов, ретротранспозонов; как следствие, нет согласованных карт локуса СМА. Перестройки региона происходят в результате неравного кроссинговера между повторяющимися элементами в процессе мейоза, что приводит к делециям, дупликациям разной протяженности и генным конверсиям [11].

Наличие Alu-повторов в интронах 6 и 7 генов *SMN* приводит к возникновению частичных делеций *SMN1*

или *SMN2* в результате неаллельной гомологичной рекомбинации, затрагивающих только последовательность экзона 7. Элементы Alu являются короткими диспергированными повторами (SINEs) и имеют длину около 300 пар оснований. Предполагаемым механизмом Alu-опосредованной делеции служит неомологичное соединение концов при репарации двунитевых разрывов в ДНК. Alu-повторы формируют структуры по типу петли, включающие интронные и/или экзонные последовательности, подвергающиеся выпадению вследствие сближения 5'- и 3'-сайтов сплайсинга [12, 13]. Alu-повторы находятся и в других интронных областях, что обуславливает формирование более редких вариантов перестроек: *SMN1del ex 5–6* [14], *SMN1del ex 2a–5* [15], *SMN1del ex 1–6* [16], *SMN1del ex 8* [9, 17] (рис. 3). До сих пор ведутся споры о патоген-

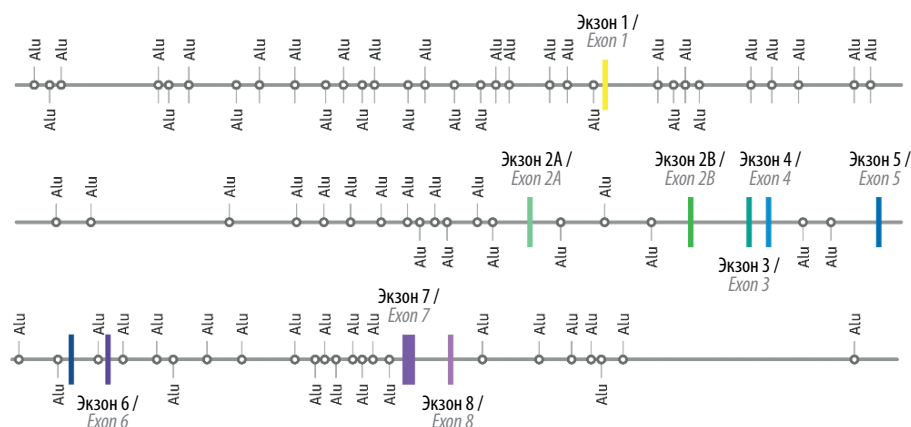


Рис. 3. *SMN1*, обогащенный Alu-повторами. Alu-повторы располагаются во всех интронах гена *SMN1*

Fig. 3. The *SMN1* enriched with Alu repeats. Alu repeats are located in all introns of the *SMN1* gene

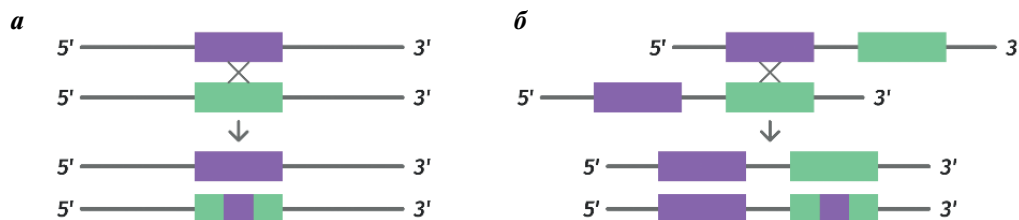


Рис. 4. Генная конверсия: а — аллельная: один аллель гена заменяет другой аллель этого же гена; б — неаллельная: аллель одного гена заменяется аллелем другого гена

Fig. 4. Gene conversion: а — allelic: one allele of a gene replaces another allele of the same gene; б — non-allelic: an allele of one gene is replaced by an allele of another gene

ности изолированной делеции экзона 8, так как он не кодирует последовательность белка SMN. Однако показано, что изолированные делеции экзона 8 могут влиять на стабильность мРНК *SMN1*, а также на пост-транскрипционную регуляцию генов [9].

К изменению числа копий генов *SMN1* и *SMN2* может приводить генная конверсия. Генная конверсия осуществляется путем переноса последовательности гена *SMN1* в высокоомологичный участок псевдогена *SMN2*. В результате конверсии происходит потеря гена *SMN1*, а новый ген *SMN2* примыкает к функциональному гену *NAIP* вместо соседства с псевдогеном *NAIP del ex 5* [18]. В основе генной конверсии лежит процесс репарации молекулы ДНК по механизму гомологичной рекомбинации. Когда в ходе гомологичной рекомбинации происходит комплементарное спаривание между 2 гомологичными последовательностями, в местах несоответствия 2 цепочек образуется гетеродуплекс, что запускает активацию репарации неспаренных оснований. Эта система и корректирует одну цепочку по матрице другой как по образцу (рис. 4).

Также причиной СМА 5q является формирование химерных генов *SMN1/2*. Гибридные варианты *SMN* представлены гомозиготной делецией 7-го экзона и гетерозиготной делецией 8-го экзона гена *SMN1*, а также реципрокным увеличением числа копий *SMN2*. Механизмом формирования гибридных генов *SMN1/2*, вероятно, являются Alu-обусловленные неаллельные гомологичные рекомбинации в локусе SMN, внутри-хромосомная делеция с последующим слиянием 5'-конца гена *SMN2* и 3'-конца *SMN1*, частичная конверсия *SMN1* в *SMN2*, при которой происходит слияние фланкирующих регионов 8-го экзона гена *SMN1* и 7-го экзона гена *SMN2* [12].

Клиническая классификация

Клиническая классификация проксимальной СМА 5q основывается на возрасте дебюта и двигательных навыках пациента исходя из критериев, разработанных Европейским консорциумом по изучению нервно-мышечных заболеваний. Выделяют 0, I, II, III, IV типы СМА 5q. В настоящее время в связи с появлением терапии предложена другая клиническая классификация

СМА с разделением пациентов на «не сидящие», «сидящие» и «ходячие» в зависимости от их фактического функционального состояния [13]. Предполагается обратная корреляция между числом копий *SMN2* и тяжестью болезни. Корреляция не является абсолютной. В литературе описаны пациенты с дискордантными состояниями [19–22].

Модифицирующие факторы

Модификаторы СМА 5q — это факторы генетической и экзогенной природы, влияющие напрямую или опосредованно на возраст дебюта, развитие клинической картины и тяжесть течения болезни.

Описаны редкие семейные случаи дискордантной клиники у sibсов с гомозиготной делецией *SMN1* и одинаковым числом копий *SMN2*, что позволяет предположить наличие модифицирующих факторов, не затрагивающих *SMN1* и *SMN2* [23]. Модификаторы разделяют на 2 группы: влияющие на уровень белка SMN (см. таблицу) и не оказывающие влияния на количество белка SMN.

Основным модифицирующим фактором СМА 5q является число копий гена *SMN2* [19]. Несмотря на вариант с.840C>T в экзоне 7 *SMN2*, ген способен продуцировать до 10 % мРНК нормальной длины (FL-SMN). Примерно 80 % людей в популяции имеют 1–2 копии *SMN2*. У 5–10 % здоровых людей обнаружены делеции гена *SMN2* в гомозиготном состоянии. У пациентов со СМА 5q число копий гена *SMN2* может варьировать от 1 до 6. Прослеживается обратная корреляция между числом копий *SMN2* и тяжестью болезни. Чем больше число копий гена *SMN2*, тем выше экспрессия полноценного белка SMN и тем мягче фенотип заболевания. Однако корреляция не является абсолютной. В литературе описаны пациенты, имеющие более легкий или более тяжелый фенотип с одинаковым числом копий *SMN2* [20–22].

По данным литературы, 38,3 % пациентов с СМА типа IIIa, 60,8 % пациентов с СМА типа IIIb и 75 % пациентов с СМА типа IV несут 4 копии *SMN2* [20–22]. Эти данные обеспечивают статистическую значимость корреляции ≥ 4 копий *SMN2* со СМА типа IIIb по сравнению с ≤ 3 копий *SMN2* со СМА типа IIIa. Число

Факторы, модифицирующие течение спинальной мышечной атрофии 5q
 Factors modifying the course of spinal muscular atrophy 5q

Группа факторов Group of factors	Название фактора Name of the factor
Факторы, влияющие на уровень белка SMN Factors affecting SMN protein levels	
Число копий гена <i>SMN2</i> Number of copies of the <i>SMN2</i> gene	<i>SMN2</i>
Точка-модификатор Modifier point	c.859G>C <i>SMN2</i>
Ацетилирование гистонов и метилирование Histone acetylation and methylation	CpG-островки промотора <i>SMN2</i> CpG islands of the <i>SMN2</i> promoter
Сплайсинг-регулирующие факторы Splicing-regulatory factors	Tra2 β (бета-гомолог белка трансформатора-2) Tra2 β (transformer 2 beta homolog)
	hnRNPA1 (гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин A1) hnRNPA1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1)
Факторы, регулирующие транскрипцию Factors regulating transcription	CREB1 (белок 1, связывающий чувствительный к цАМФ элемент) CREB1 (cAMP responsive element binding protein 1)
	IRF-1 (регуляторный фактор интерферона 1) IRF-1 (interferon regulatory factor 1)
	PRL (пролактин) PRL (prolactin)
	STAT5 (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 5) STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5)
Факторы, стабилизирующие мРНК Factors stabilizing mRNA	U1A (сплайсосомный белок U1A) U1A (spliceosomal protein)
	HuR/p38 (Hu антиген R, ELAV-подобный РНК-связывающий белок) HuR/p38 (Hu antigen R, ELAV-like RNA-binding protein)
Факторы, влияющие на посттрансляционную модификацию Factors influencing post-translational modification	PKA (протеинкиназа альфа) PKA (protein kinase A)
	GSK3 (киназа гликогенсинтазы-3) GSK3 (glycogen synthase kinase-3)
Экзогенные факторы Exogenous factors	Голодание Starvation
	Гипоксия Hypoxia
	Окислительный стресс Oxidative stress
Факторы, не влияющие на уровень белка SMN Factors that do not affect the SMN protein level	
Модификаторы, влияющие на динамику цитоскелета и F-актина Modifiers affecting the dynamics of the cytoskeleton and F-actin	PLS3 (пластин 3) PLS3 (plastin 3)
	ACTN (актин) ACTN (actin)
	ProA/Rho kinase (трансформирующая протеин ProA/Rho-ассоциированная протеинкиназа) Pro A/Rho kinase (protein transforming ProA/Rho associated protein kinase)
	CORO1C (коронин 1C) CORO1C (koronin 1C)
	NCALD (нейрокальцин дельта) NCALC (neurocalcin delta)
	CHP1 (кальцийневриноподобный белок) CHP1 (calcineurin like EF-hand protein 1)

Окончание табл. 1
End of table 1

Группа факторов Group of factors	Название фактора Name of the factor
Метилирование ДНК DNA methylation	SLC23A2 (котранспортер натрия аскорбата) SLC23A2 (sodium ascorbate cotransporter)
	SMRT (медиатор молчания для ретиноидов и рецепторов гормонов щитовидной железы) SMART (silent mediator for retinoids and thyroid hormone receptors)
	DYNC1H1 (тяжелая цепь 1 цитоплазматического динеина 1) DYNC1H1 (dynein cytoplasmic 1 heavy chain 1)
Ингибитор апоптоза моторных нейронов Inhibitor of motor neuron apoptosis	NAIP (белок – ингибитор апоптоза нейронов) NAIP (neuronal apoptosis inhibitor protein)
Агрегация белка SMN SMN protein aggregation	SERF1A (малый EDRK-богатый фактор 1A, H4F5A) SERF1A (small EDRK-rich factor 1A, H4F5A)
Делеция гена Gene deletion	GTF2H2A (общий транскрипционный фактор ПН, р44) GTF2H2A (general transcription factor II, p44)
Точечные мутации Point mutations	TLL2 (толлоидоподобный белок 2) TLL2 (tolloid-like protein 2)

копий гена *SMN2* >5 определяется у пациентов с очень легким течением СМА 5q. Важно отметить, что даже при наличии 6 копий *SMN2* все же могут возникать легкие симптомы болезни. Тем не менее, несмотря на достоверную обратную корреляцию, для каждого из клинических типов СМА 5q описаны пациенты с разным числом копий. Среди детей со СМА 5q типа I встречаются пациенты, имеющие 3 и даже 4 копии гена *SMN2*, а при типе III – пациенты с 2 копиями. Очевидно, существуют другие модифицирующие факторы, как связанные со структурой *SMN2*, такие как размер делеции и молекулярные перестройки, приводящие к неполным генам *SMN2*, которые не определяются при стандартном анализе [19], так и не связанные с ним.

Показано, что пациенты с химерным геном *SMN1–SMN2* ($n = 28$) имели более легкое течение болезни по сравнению с пациентами с таким же числом копий *SMN2*. Ни один из пациентов со СМА типа II и III на фоне 3- или 4-копийного гена *SMN2* с химерным геном *SMN1–SMN2* не нуждался в респираторной поддержке (средний возраст – 29 лет, медиана – 9 лет, диапазон – 2–69 лет), в отличие от 20 % ($n = 24$) пациентов без химерного гена с типом II и III и числом копий *SMN2* 3 или 4 (начало вентиляции: средний возраст 21 год, медиана – 14 лет, диапазон – 2–62 года) [24].

Не только число копий гена *SMN2*, но и его нуклеотидный состав может влиять на количество полноразмерного белка, получаемого с этого гена. Определено модифицирующее влияние замены с.859G>C *SMN2* с образованием нового энхансер-связывающего сайта сплайсинга с последующим включением экзона 7 в транскрипт гена *SMN2*. Данный вариант приводит

к увеличению количества FL-SMN [25–27]. Отмечается более мягкий фенотип СМА у пациентов с вариантом с.859G>C в гене *SMN2*. Обследуемые с вариантом с.859G>C в обеих копиях *SMN2* имели более мягкий фенотип, чем пациенты, несущие вариант только в 1 копии [28]. Описаны пациенты с комплексным аллелем, образованным 2 гаплотипами *SMN2*-859C в цис-положении. Варианты в интроне 6 (*SMN2* с.835-44G>A) [13] и в интроне 7 (*SMN2* с.888+100A>G) гена *SMN2*, возникающие в результате генной конверсии [9], могут также влиять на включение экзона 7 в сплайсированные мРНК *SMN*. Наличие паралогичных структурных вариантов (ПСВ) позволяет продуцировать большее количество белка SMN, чем ожидалось. Пациенты со СМА, имеющие ПСВ, имеют более мягкие клинические фенотипы. Вариант rs212216 был обнаружен у 6 пациентов с легким течением болезни и не обнаружен у пациентов с тяжелым течением заболевания [11]. Напротив, вариант с.863G>T нарушал сайт усиления экзонного сплайсинга для TRA2-β1 в экзоне 7 гена *SMN1* у 3 пациентов с разными фенотипами и вызывал пропуск экзона 7 [29].

На уровень полноценного FL-SMN2 могут влиять эпигенетические факторы, включая ацетилирование гистонов и метилирование CpG-островков в промоторе *SMN2*, которое снижает уровень экспрессии гена *SMN2*. Ингибиторы гистондеацетилазы (HDACi), такие как короткоцепочечные жирные кислоты, бутират натрия и фенилбутират, гидроксамовые кислоты LBH589, SANA, TSA, JNJ-26481585 и бензамид M344, повышают уровень мРНК *SMN* и белка *in vitro* [30].

Большинство модифицирующих факторов, влияющих на уровень белка SMN, но не связанных с геном

SMN2, были обнаружены с помощью транскриптомного анализа у пациентов с делецией *SMN1*, одинаковым числом копий *SMN2*, но с разной тяжестью СМА 5q.

К сплайсинг-регулирующим факторам относятся *Tra2β* (бета-гомолог белка трансформатора-2), *hnRNPA1* (гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин A1). Ген *TRA2-β1* кодирует ядерный белок, который функционирует как специфичный к последовательности серин/аргининовый фактор сплайсинга, участвует в процессинге мРНК, паттернах сплайсинга и экспрессии генов, увеличивает включение экзона 7 в транскрипт, снижает вероятность экзон-скиппинга [31]. Гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин A1 *hnRNPA1*, кодируемый геном *HNRNPA1*, является одним из распространенных коровых белков комплексов *hnRNP*, участвует в регуляции альтернативного сплайсинга, упаковке только что синтезированных транскриптов, транспорте молекулы мРНК и их локальной трансляции, регуляции стабильности мРНК, активации или репрессии трансляции, ингибирует включение 7 экзона в транскрипт *SMN* [32].

Факторы, регулирующие транскрипцию: *CREB1* (белок 1, связывающий чувствительный к цАМФ элемент), *IRF-1* (регуляторный фактор интерферона 1), *PRL* (пролактин), *STAT5* (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 5). Ген *CREB1* является членом семейства ДНК-связывающих белков лейциновой молнии. Белок индуцирует транскрипцию генов в ответ на гормональную стимуляцию пути цАМФ. В отношении белка *SMN* увеличивает его транскрипцию [33]. *IRF-1* действует как транскрипционный активатор или репрессор генов-мишеней. *IRF-1* регулирует экспрессию генов-мишеней путем связывания с интерферон-стимулируемым ответным элементом в их промоторах [34]. *PRL* повышает уровень *SMN* через активацию пути «сигнальный преобразователь и активатор транскрипции *STAT5*». Пролактин повышает уровни белка *SMN* в культивируемых нейронных клетках человека и мыши. Введение *STAT5*-специфической мРНК блокирует эффект пролактина. Следовательно, индуцированное пролактином транскрипционное повышение уровня *SMN* опосредовано активацией *STAT5*. *STAT5* взаимодействует с сайтом связывания в промоторе *SMN2* и стимулирует его транскрипцию. Конститутивная экспрессия *STAT5* (путем трансфекции *Stat5A1*6*) увеличивает количество клеток с *SMN* в ядре и длину аксонов в двигательных нейронах [35, 36].

Факторы, стабилизирующие мРНК: *U1A* (сплайсосомный белок *U1A*), *HuR/p38* (Hu антиген R, ELAV-подобный РНК-связывающий белок). В цитоплазме клеток *SMN* связывается с 7 белками Sm (*Sm B/B'*, *D1*, *D2*, *D3*, *E*, *F* и *G*) и собирает их в гептамерное кольцо на мРНК. После сборки кора Sm новые мРНК импортируются в ядро и направляются в тельца Кахала, где собираются с несколькими дополнительными мРНК-специфическими белками. После дальнейшего

созревания мРНК могут функционировать при сплайсинге пре-мРНК. *U1A* связывается напрямую, с высокой аффинностью и специфичностью с 3'-UTR *SMN*, прилегающим к сайту полиаденилирования. Экспрессия *U1A* в избытке вызывает ингибирование полиаденилирования *SMN* и снижает уровни белка *SMN* [37, 38]. Антиген R (*HuR*) является ARE-связывающим белком (*AREBP*), который повышает стабильность мРНК *SMN*. Активация пути *p38* посредством обработки анизомином *in vitro* индуцирует транслокацию *HuR* из ядра в цитоплазму, где он связывается с мРНК *SMN*, что приводит к более высокой экспрессии белка *SMN* [39].

Факторы, влияющие на посттрансляционную модификацию: *PKA* (протеин киназа альфа), *GSK3* (киназа гликогенсинтазы-3). Активация *PKA* ингибирует деградацию *SMN* [40]. Инактивация *GSK3* уменьшает фосфорилирование *SMN* и повышает стабильность белка. *VIP-135* избирательно ингибирует изоформу *GSK3β*, увеличивает уровень *SMN* в фибробластах, играет окислительно-протективную роль, как показано в исследовании N.R. Makhortova и соавт. (2011), в культивируемых кортикальных нейронах, незначительно увеличивает продолжительность жизни мышечной модели с тяжелой формой *SMNΔ7* [41, 42].

Также изучено влияние экзогенных факторов на уровень белка *SMN*, таких как голодание, гипоксия, окислительный стресс. Голодание снижает вероятность сплайсинга в гене *SMN1* у мышей с СМА, замедляет анаболические процессы, снижает выживаемость мышей [43]. Гипоксия снижает уровень FL-*SMN2*. В соответствии с наблюдениями T.W. Bebee и соавт. (2012) респираторное вмешательство показало значительное улучшение у мышей со СМА [44]. Возможными механизмами являются окислительный стресс, деградация протеасом, увеличенные aberrантно сплайсированные транскрипты, которые в совокупности могут вызвать быструю смерть пациентов со СМА 5q типа I или у тяжело пораженных мышей [45, 46].

Описано достаточное количество факторов, не влияющих на уровень белка *SMN*. В последнее время интерес прикован к ряду белков, улучшающих процесс эндоцитоза в синапсах, так как недавно было установлено, что именно нарушение эндоцитоза является одним из ключевых механизмов патогенеза СМА 5q. Эти белки представлены пластином 3 (*PLS3*), коронином 1C (*CORO1C*), нейрокальцином дельта (*NCALD*) и кальцийневриноподобным белком (*CHP1*).

Модификаторы, влияющие на динамику цитоскелета и F-актина: *PLS3* (пластин 3), *ACTN* (актин), *ProA/Rho kinase* (трансформирующая протеин *ProA/Rho*-ассоциированная протеинкиназа), *CORO1C* (коронин 1C), *NCALD* (нейрокальцин дельта), *CHP1* (кальцийневриноподобный белок). *SMN*-истощенные клетки демонстрируют пониженное количество F-актина, что может быть связано с нарушением транспорта мРНК β-актина вдоль аксонов. Динамика

F-актина важна во многих клеточных процессах, включая развитие аксонов, клеточную полярность, миграцию, перенос везикул и эндоцитоз.

Ген *PLS3* картирован на X-хромосоме и является специфическим для пола защитным модификатором. Пластин 3 сверхэкспрессируется в лимфобластах женщин со СМА 5q. *PLS3* представляет собой Ca^{2+} -зависимый белок, связывающий F-актин и влияющий на соотношение G/F-актин [47]. В настоящее время неясно, почему повышенная экспрессия *PLS3* обнаруживается у одних женщин в большей степени, чем у других. Кроме того, существуют исключительные случаи сверхэкспрессии *PLS3* у мужчин, которые, скорее всего, обоснованы действием других модифицирующих факторов. При изучении семей с дискордантными братьями и сестрами было обнаружено, что уровни мРНК *PLS3* выше у женщин с более легкой СМА 5q, чем у братьев и сестер с более тяжелой клиникой. Сверхэкспрессия *PLS3*, белка, связывающего F-актин, защищает от СМА у людей, мышей, рыбок данио, мух и нематод [48, 49]. Сверхэкспрессия трансгенного аллеля *PLS3* привела к выживанию более 250 дней у 60 % мышей [50]. Актин (*ACTN*) играет роль в важных клеточных процессах, таких как цитокинез, миграция и адгезия, участвует в формировании синапсов. Актин конкурирует с кальмодулином за связывание и дальнейшую нацеленность и стабилизацию экспрессии Ca^{2+} -канала L-типа на поверхности мембраны первичных нейронов гиппокампа. Нарушение регуляции этого взаимодействия приводит к перегрузке кальцием и запускает Ca^{2+} -зависимый эндоцитоз. Ингибирование пути ROCK (ProA/Rho kinase) путем лечения фасудилом (одобрено FDA) и Y-27632 приводит к значительному увеличению выживаемости мышей *Smn2B*. Наблюдается увеличение размера миофибрилл, связанное со снижением экспрессии миогенина [51–54]. Последние данные показали, что *CORO1C* также участвует в эндоцитозе и имеет второй сайт связывания актина, который обеспечивает кооперативное связывание с F-актином. Наличие более чем 1 сайта связывания F-актина позволяет *CORO1C* действовать как белок, связывающий F-актин, подобно *PLS3*. По результатам исследований S. Hosseinibarkooie и соавт. (2016), сверхэкспрессия *CORO1C*, а также *PLS3* способна восстановить эндоцитоз в клетках у рыбок данио с нокаутом *SMN* [47]. В ходе многочисленных экспериментов *in vitro* и *in vivo* L. Torres-Benito и соавт. (2019) продемонстрировали, что снижение *NCALD* восстанавливает нарушенный эндоцитоз при СМА. Нейрокальцин дельта представляет собой Ca^{2+} -зависимый негативный регулятор эндоцитоза, так как нокаун *NCALD* улучшает эндоцитоз в моделях СМА 5q и фармакологически индуцированные дефекты эндоцитоза у рыбок данио. Таким образом, аналогично генетически индуцированному снижению *NCALD* однократная инъекция *NCALD* ASO3 внутривенно снижает количество

NCALD, особенно в наиболее критический период развития и созревания нервно-мышечного соединения, способствует эндоцитозу синаптических пузырьков и нейротрансмиссии [55]. *CHP1* является ингибитором кальцинейрина, который дефосфорилирует (приводит в неактивное состояние) белки, участвующие в эндоцитозе. Уровень *CHP1* был повышен в спинном и головном мозге мышей со СМА с тяжелым поражением (*Smn^{ko/ko}*; *SMN2^{tg/0}*) по сравнению с гетерозиготными мышами со СМА. Нокаун *CHP1* привел к увеличению длины нейритов и полному восстановлению до контрольных уровней. Вместо этого сверхэкспрессия *CHP1*-GFP приводила к более коротким нейритам. Как показали E. Janzen и соавт. (2018), снижение *CHP1* улучшает аксональный фенотип СМА не только *in vitro*, но и *in vivo* на модели рыбок данио со СМА [56].

Особый интерес представляет метилирование ДНК как наиболее стабильная модификация, изменяющая характер экспрессии генов. Исследователи провели анализ метилирования всего генома и выявили около 40 сайтов CpG, связанных с генами, которые значительно различаются по метилированию у пациентов со СМА и у здоровых людей того же возраста. Уровень метилирования 2 сайтов: CpG1 и CpG4 в 5' UTR *SLC23A2* (член 2 семейства 23 переносчиков растворенных веществ) был снижен на 14–17 % у пациентов со СМА 5q III–IV типа по сравнению с пациентами со СМА I типа. Кроме того, только у мужчин со СМА 5q уровень метилирования мишени CpG2 и близлежащих участков CpG1 был ниже на 19–22 % у пациентов со СМА 5q III–IV типа по сравнению с пациентами со СМА I типа. Ген *SLC23A2* кодирует белок *SLC23A2*, котранспортер натрия аскорбата, который обеспечивает высокую концентрацию аскорбата в центральной нервной системе. Аскорбат выполняет функции, критически важные для центральной нервной системы: антиоксидантную защиту, амидирование пептидов, образование миелина, синаптическое потенцирование и защиту от токсичности глутамата. Следовательно, более низкие уровни метилирования могут свидетельствовать о более высоком уровне экспрессии *SLC23A2*. Сравнение между пациентами мужского пола со СМА 5q III–IV и I типа продемонстрировало 16 % снижение уровней метилирования сайта-мишени CpG4, принадлежащего 5'UTR *NCOR2* (корепрессор 2 ядерных рецепторов). Ген *NCOR2* играет важную роль в регуляции транскрипции, кодирует белок SMRT (медиатор молчания для ретиноидов и рецепторов гормонов щитовидной железы). SMRT вместе с белком *NCOR1* образует сердцевину многосубъединичных комплексов, которые содержат 1 из 3 разных классов гистоновых деацетилаз (HDAC) и репрессируют транскрипцию разных генов [57]. Согласно базам данных генома человека, ген *DYNC1H1* (тяжелая цепь 1 цитоплазматического динеина 1), состоящий из 78 экзонов, имеет 2 значимых CpG-островка: в его промоторной области

и в области экзонов 36 и 37. CpG-островки, встречающиеся в большинстве промоторов, должны быть метилированными для связывания факторов транскрипции и РНК-полимеразы II, тогда как CpG-островки внутри генных тел должны быть метилированы для предотвращения такого несанкционированного связывания. Тяжелые фенотипы СМА 5q, связанные с более низкими уровнями метилирования экзона 37 гена *DYNC1H1*, указывают на то, что даже небольшое отклонение от гиперметилированного состояния тела гена может иметь существенные последствия. Было показано, что α -моторные нейроны особенно чувствительны к нарушению функции динеина, которая частично кодируется геном *DYNC1H1*. Такое специфическое повреждение α -моторных нейронов, вызванное отсутствием действия динеина, аналогично эффекту дефицита SMN, приводящему к СМА 5q. Нарушение способности динеина к полному ретроградному аксональному транспорту, по-видимому, является основной причиной повышенной чувствительности двигательных нейронов к нарушению функции динеина [58].

Данные литературы указывают на модифицирующее действие гена *NAIP* как ингибитора апоптоза моторных нейронов и гена *SERF1A*, который может регулировать агрегацию белка SMN. Делеция гена *SERF1A* была обнаружена у всех пациентов со СМА 5q типа I, у 50 % пациентов с типом II и у 31 % пациентов с типом III. Одна копия *SERF1A* определена в 60 % случаев СМА 5q типа I, две копии — у пациентов со СМА типа II и III. Уровни экспрессии генов *SERF1A* и *NAIP* были ниже у пациентов со СМА типа I [59]. Наблюдалась значительная разница между контрольной группой и группой пациентов с делецией *NAIP* ($p = 0,0095$) и делецией *GTF2H2* ($p = 0,0049$), но не было обнаружено существенной разницы между подтипами СМА. В исследовании корреляции генотип–фенотип, проведенном на Кипре, было подчеркнуто, что гомозиготная делеция *NAIP* и *GTF2H2* может вызвать тяжелый фенотип у пациентов со СМА 5q [60].

Полноэкзомное секвенирование дискордантной семьи со СМА 5q выявило варианты нуклеотидной последовательности в гене *TLL2* (толлоидоподобный белок 2) у братьев и сестер с более мягким фенотипом. *TLL2* кодирует протеиназу семейства белков BMP-1/TLD и способен активировать миостатин (MSTN; фактор дифференцировки роста 8), который ингибирует рост скелетных мышц. Предполагается, что точечные мутации *TLL2* снижают активацию MSTN. Ингибиторы MSTN (такие как SRK-015) показали терапевтический эффект у J. Jiang и соавт. (2019) на моделях СМА на мышах и в настоящее время проходят клинические испытания у пациентов со СМА 5q [61].

Таким образом, на тяжесть клинической картины могут влиять факторы, изменяющие экспрессию белка SMN. К ним относятся количество копий гена *SMN2*, точки-модификаторы, факторы, регулирующие транскрипцию, стабилизирующие мРНК, влияющие на пост-

трансляционную модификацию, экзогенные факторы. Факторы, не влияющие на белок: модификаторы, изменяющие динамику цитоскелета и F-актина, метилирование ДНК, делеции других генов, расположенных в локусе SMN.

Медикаментозная терапия СМА 5q

Знание молекулярных основ патогенеза СМА позволило исследователям разработать 2 подхода к терапии: этиотропная генная терапия и патогенетическая терапия с помощью модификаторов сплайсинга гена *SMN2*, увеличивающих экспрессию полноразмерного функционального белка.

Препарат онасемноген абепарвовек содержит трансген, представляющий собой полную копию стабильного функционирующего гена *SMN1* человека, который комбинируют с гибридным энхансером цитомегаловируса и промотором β -актина птиц, обеспечивающими непрерывную и стабильную экспрессию гена *SMN1*. Для доставки генной конструкции используют аденоассоциированный вирусный вектор серотипа 9 (AAB9), способный проникать через гематоэнцефалический барьер и обладающий тропизмом к нейронам. AAB9 — нереплицирующийся вирус, поэтому он не интегрирует и не модифицирует ДНК пациента. Попадая в ядро, трансген, сворачиваясь, образует кольцевую episому.

Препарат нусинерсен основан на работе антисмыслового олигонуклеотида, который связывается со специфической последовательностью незрелой мРНК гена *SMN2*, что приводит к включению экзона 7 в мРНК. Молекула *SMN2* с экзоном 7 является стабильной и может практически в полном объеме выполнять функции *SMN1*.

Рисдиплам представляет собой модификатор сплайсинга пре-мРНК гена выживаемости двигательных нейронов *SMN2* и направлен на включение экзона 7 в транскрипт мРНК, что приводит к образованию функционального и стабильного белка SMN. Рисдиплам является первым пероральным препаратом в терапии СМА, проникает через гематоэнцефалический барьер, противопоказан во время беременности.

Кроме этиотропной и патогенетической терапии активно исследуются и другие подходы.

Клеточная терапия направлена на повышение мышечной массы и улучшение моторных функций пациентов со СМА. Наиболее перспективными являются ингибиторы миостатина и активаторы тропонина скелетных мышц (FSTA). Миостатин является одним из соединений, трансформирующих фактор роста TGF β , которые подавляют избыточный рост мышц и экспрессируются в основном в скелетных мышцах. Применение ингибитора миостатина SRK-015 у мышей с моделью СМА улучшало функцию мышц и повышало их массу. Соединение FSTA, например СК-2127107, замедляет высвобождение ионов кальция, что приводит

к повышению сократимости мышечных волокон и мышечной функции. Проведены клинические испытания фазы I на здоровых добровольцах. В настоящее время проводится фаза II двойного слепого плацебоконтролируемого исследования фармакодинамического эффекта СК-2127107 на функцию скелетных мышц и утомляемость у пациентов со СМА типов II–IV [62].

Системное введение пролактина мышам индуцировало экспрессию SMN в головном и спинном мозге, улучшало двигательную функцию и повышало выживаемость в модели тяжелой СМА на мышах. Полученные данные позволили рассматривать пролактин в качестве потенциальной лекарственной субстанции для лечения больных СМА.

Активация пути p38 MAPK индуцирует экспрессию SMN за счет запуска HuR-опосредованной стабилизации мРНК SMN, увеличивает пул транскриптов, доступных для трансляции, тем самым повышая уровни функциональных белков SMN. Целекоксиб способен преодолевать гематоэнцефалический барьер. Чтобы исследовать потенциальную роль целекоксиба в регуляции экспрессии гена *SMN in vitro*, клетки NT2, MN-1 вместе с фибробластами пациентов со СМА I типа обрабатывали целекоксибом (5 нМ) в течение 24 ч, а затем собирали для вестерн-блоттинга. Было обнаружено, что уровни белка SMN повышались во всех

клеточных линиях при обработке целекоксибом. Результаты работы F. Fargoоq и соавт. (2013) показывают, что низкие дозы целекоксиба увеличивают уровни белка SMN в линиях нервных клеток человека и мыши, а также в фибробластах пациентов со СМА [63].

Заключение

Введение в России с 2023 г. расширенного неонатального скрининга поставило проблемы выбора терапевтической стратегии для бессимптомных детей. Согласно клиническим рекомендациям, у новорожденных, имеющих 4 и более копий гена *SMN2*, необходимо ждать появления первых симптомов для начала терапии, хотя у пациентов с 4 копиями *SMN2* может наблюдаться любой тип СМА 5q.

Изучение модифицирующих факторов СМА, связанных с нуклеотидной структурой гена *SMN2*, является необходимым диагностическим шагом для назначения своевременного лечения препаратами этиотропной или патогенетической терапии. С другой стороны, идентификация модификаторов открывает новые перспективы для развития терапии СМА 5q. Изучение факторов, влияющих на уровень протеина SMN и не связанных с геном *SMN2*, важно для поиска лекарственных веществ, дополняющих препараты патогенетической и этиотропной терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tisdale S., Pellizzoni L. Disease mechanisms and therapeutic approaches in spinal muscular atrophy. *J Neurosci* 2015;35(23):8691–700. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0417-15.2015
2. Ogino S., Leonard D.G., Rennert H. et al. Genetic risk assessment in carrier testing for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet* 2002;110:301–7. DOI: 10.1002/ajmg.10425
3. Prior T.W., Snyder P.J., Rink B.D. et al. Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A* 2010; 152A:1605–7. DOI: 10.1002/ajmg.a.33474
4. Zabnenkova V.V., Dadali E.L., Spiridonova M.G. et al. Spinal muscular atrophy carrier frequency in Russian Federation. *ASHG* 2016;2476. DOI: 10.13140/RG.2.2.16245.60642
5. Sugarman E.A., Nagan N., Zhu H. et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: Clinical laboratory analysis of >72400 specimens. *Eur J Hum Genet* 2012;20:27–32. DOI: 10.1038/ejhg.2011.134
6. Chaytow H., Huang Y.T., Gillingwater T.H., Faller K.M.E. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci* 2018;75:3877–94. DOI: 10.1007/s00018-018-2849-1
7. Singh R.N., Howell M.D., Ottesen E.W. Singh N.N. Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochim Biophys Acta* 2017;1860(3):299–315. DOI: 10.1016/j.bbagr.2016.12.008
8. Lefebvre S., Bürglen L., Reboullet S. et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995;80(1):155–65. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90460-3
9. Butchbach M.E.R. Genomic variability in the survival motor neuron genes (*SMN1* and *SMN2*): Implications for spinal muscular atrophy phenotype and therapeutics development. *Int J Mol Sci* 2021;22(15):7896. DOI: 10.3390/ijms22157896
10. Ogino S., Wilson R.B. Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4(1):15–29. DOI: 10.1586/14737159.4.1.15
11. Ruhno C., McGovern V.L., Avenarius M.R. et al. Complete sequencing of the *SMN2* gene in SMA patients detects *SMN* gene deletion junctions and variants in *SMN2* that modify the SMA phenotype. *Hum Gen* 2019;138(3):241–56. DOI: 10.1007/s00439-019-01983-0
12. Диль А.В., Назаров В.Д., Сидоренко Д.В. и др. Исследование особенностей генетических изменений гена *SMN1* при спинальной мышечной атрофии 5q. *Нервно-мышечные болезни* 2022;12(3):36–44. DOI: 10.17650/2222-8721-2022-12-3-36-44
13. Dil A.V., Nazarov V.D., Sidorenko D.V. et al. Characteristics of genetic changes in the *SMN1* gene in spinal muscular atrophy 5q. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2022;12(3): 36–44. (In Russ.). DOI: 10.17650/22228721-2022-12-3-36-44
14. Wu X., Wang S.H., Sun J. et al. A-44G transition in *SMN2* intron 6 protects patients with spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2017;26(14):2768–80. DOI: 10.1093/hmg/ddx166
15. Wirth B., Herz M., Wetter A. et al. Quantitative analysis of survival motor neuron copies: Identification of subtle *SMN1* mutations in patients with spinal muscular atrophy, genotype-phenotype correlation and implications for genetic counseling. *Am J Hum Gene* 1999;64(5):1340–56. DOI: 10.1086/302369
16. Jedličková I., Přistoupilová A., Nosková L. et al. Spinal muscular atrophy caused by a novel Alu-mediated deletion of exons 2a–5 in *SMN1* undetectable with routine genetic testing. *Mol Genet Genomic Med* 2020;8(7):e1238. DOI: 10.1002/mgg3.1238
17. Thauvin-Robinet C., Drunat S., Saugier Véber P. et al. Homozygous *SMN1* exons 1–6 deletion: Pitfalls in genetic counseling and

- general recommendations for spinal muscular atrophy molecular diagnosis. *Am J Med Genet* 2012;158A(7):1735–41. DOI: 10.1002/ajmg.a.35402
17. Gambardella A., Mazzei R., Toscano A. et al. Spinal muscular atrophy due to an isolated deletion of exon 8 of the telomeric survival motor neuron gene. *Ann Neurol* 1998;44(5):836–9. DOI: 10.1002/ana.410440522
 18. Mercer J.M. Unequal crossing over. *Ref Mod Life Sci* 2017. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.07324-6
 19. Wirth B., Brichta L., Schrank B. et al. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased *SMN2* copy number. *Hum Genet* 2006;119(4):422–8. DOI: 10.1007/s00439-006-0156-7
 20. Crawford T.O., Paushkin S., Kobayashi D.T. et al. Evaluation of SMN protein, transcript and copy number in the Biomarkers for Spinal Muscular Atrophy (BforSMA) clinical study. *PLoS One* 2012;7(4):33572. DOI: 10.1371/journal.pone.0033572
 21. Zhang Y., He J., Zhang Y. et al. The analysis of the association between the copy numbers of survival motor neuron gene 2 and neuronal apoptosis inhibitory protein genes and the clinical phenotypes in 40 patients with spinal muscular atrophy. *Observational study. Medicine* 2020;99(3):e18809. DOI: 10.1097/MD.00000000000018809
 22. Calucho M., Bernal S., Alías L. et al. Correlation between SMA type and *SMN2* copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscul Disord* 2018;28(3):208–15. DOI: 10.1016/j.nmd.2018.01.003
 23. Wirth B., Mendoza-Ferreira N., Torres-Benito L. Spinal muscular atrophy disease modifiers. *Spinal Muscular Atrophy Disease Mechanisms and Therapy* 2020:191–210. DOI: 10.1016/B978-0-12-803685-3.00012-4
 24. Wadman R., Jansen M., Stam M. et al. Intragenic and structural variation in the SMN locus and clinical variability in spinal muscular atrophy. *Brain Communications* 2020;2(2):fcaa075. DOI: 10.1093/braincomms/fcaa075
 25. Prior T.W., Krainer A.R., Hua, Y. et al. A positive modifier of spinal muscular atrophy in the *SMN2* gene. *Am J Hum Genet* 2009;85(3):408–13. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.08.002
 26. Vézain M., Saukkonen A.M., Goina, E. et al. A rare *SMN2* variant in a previously unrecognized composite splicing regulatory element induces exon 7 inclusion and reduces the clinical severity of spinal muscular atrophy. *Hum Mutat* 2010;31(1):1110–E1125. DOI: 10.1002/humu.21173
 27. Bernal S., Alías L., Barceló M.J. et al. The c.859G>C variant in the *SMN2* gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet* 2010;47(9):640–2. DOI: 10.1136/jmg.2010.079004
 28. Blasco-Pérez L., Costa-Roger M., Leno-Colorado J. Deep molecular characterization of milder spinal muscular atrophy patients carrying the c.859G>C variant in *SMN2*. *Int J Mol Sci* 2022;23(15):82–9. DOI: 10.3390/ijms23158289
 29. Qu Y.-J., Bai J.-L., Cao Y.-Y. et al. A rare variant (c.863G>T) in exon 7 of *SMN1* disrupts mRNA splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Gen* 2016;24(6):864–70. DOI: 10.1038/ejhg.2015.213
 30. Garbes L., Riessland M., Wirth B. Histone acetylation as a potential therapeutic target in motor neuron degenerative diseases. *Curr Pharm Des* 2013;19(28):5094–104. DOI: 10.2174/13816128113199990356
 31. Nasim M., Chernova T.K., Chowdhury H.M. et al. HnRNP G and Tra2β: opposite effects on splicing matched by antagonism in RNA binding. *Hum Mol Gen* 2003;12(11):1337–48. DOI: 10.1093/hmg/ddg136
 32. Kashima T., Rao N., David C.J., Manley J.L. hnRNP A1 functions with specificity in repression of *SMN2* exon 7 splicing. *Hum Mol Gen* 2007;16(24):3149–59. DOI: 10.1093/hmg/ddm276
 33. Majumder S., Varadharaj S., Ghoshal K. et al. Identification of a novel cyclic AMP-response element (CRE-II) and the role of CREB-1 in the cAMP-induced expression of the survival motor neuron (*SMN*) gene. *J Biol Chem* 2004;279(15):14803–11. DOI: 10.1074/jbc.M308225200
 34. Baron-Delage S., Abadie A., Echaniz-Laguna A. et al. Interferons and IRF-1 induce expression of the survival motor neuron (*SMN*) genes. *Mol Med* 2000;6(11):957–68.
 35. Ting C.H., Lin C.W., Wen S.L. et al. Stat5 constitutive activation rescues defects in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2007;16(5):499–514. DOI: 10.1093/hmg/ddl482
 36. Markham K., Schuurmans C., Weiss S. STAT5A/B activity is required in the developing forebrain and spinal cord. *Mol Cell Neurosci* 2007;35(2):272–82. DOI: 10.1016/j.mcn.2007.03.001
 37. Workman E., Veith A., Battle D.J. U1A regulates 3 processing of the survival motor neuron mRNA. *J Biol Chem* 2014;289(6):3703–12. DOI: 10.1074/jbc.M113.538264
 38. Kaida D., Berg M.G., Younis I. et al. U1 snRNP protects premRNAs from premature cleavage and polyadenylation. *Nature* 2010;468(7324):664–8. DOI: 10.1038/nature09479
 39. Farooq F., Balabanian S., Liu X. et al. Mitogen-activated protein kinase stabilizes SMN mRNA through RNA binding protein HuR. *Hum Mol Genet* 2009;18(21):4035–45. DOI: 10.1093/hmg/ddp352
 40. Burnett B.G., Munoz E., Tandon A. et al. Regulation of SMN protein stability. *Mol Cell Biol* 2009;29(5):1107–15. DOI: 10.1128/MCB.01262-08
 41. Makhortova N.R., Hayhurst M., Cerqueira A. et al. A screen for regulators of survival of motor neuron protein levels. *Nat Chem Biol Nat Chem Biol* 2011;7(8):544–52. DOI: 10.1038/nchembio.595
 42. Chen P.C., Gaisina I.N., El-Khodori B.F. et al. Identification of a maleimide-based glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibitor, BIP-135, that prolongs the median survival time of Δ7 SMA KO mouse model of spinal muscular atrophy. *ACS Chem Neurosci* 2012;3(1):5–11. DOI: 10.1021/cn200085z
 43. Sahashi K., Hua Y., Ling K.K. et al. TSUNAMI: an antisense method to phenocopy splicing-associated diseases in animals. *Genes Dev* 2012;26(16):1874–84. DOI: 10.1101/gad.197418.112
 44. Bebee T.W., Dominguez C.E., Samadzadeh-Tarighat S. et al. Hypoxia is a modifier of *SMN2* splicing and disease severity in a severe SMA mouse model. *Hum Mol Genet* 2012;21(19):4301–13. DOI: 10.1093/hmg/dds263
 45. Zhang Z., Lotti F., Dittmar K. et al. *SMN* deficiency causes tissue specific perturbations in the repertoire of snRNAs and wide spread defects in splicing. *Cell* 2008;133(4):585–600. DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.031
 46. Wan L., Ottinger E., Cho S., Dreyfuss G. Inactivation of the SMN complex by oxidative stress. *Mol Cell* 2008;31(2):244–54. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.06.004
 47. Hosseinibarkooie S., Peters M., Torres-Benito L. 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):647–65. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.07.014
 48. Oprea G.E., Krober S., McWhorter M.L. et al. Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008;320(5875):524–7. DOI: 10.1126/science.1155085
 49. Dimitriadis M., Sleight J.N., Walker A. et al. Conserved genes act as modifiers of invertebrate SMN loss of function defects. *PLoS Genet* 2010;6(10):e1001172. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001172
 50. Hao L.T., Wolman M., Granato M., Beattie C.E. Survival motor neuron affects plastin 3 protein levels leading to motor defects. *J Neurosci* 2012;32(15):5074–84. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5808-11.2012
 51. Kremerskothen J., Plaas C., Kindler S. et al. Synaptopodin, a molecule involved in the formation of the dendritic spine apparatus, is a dual actin/alpha-actinin binding protein. *J Neurochem* 2005;92(3):597–606. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02888.x
 52. Schulz T.W., Nakagawa T., Licznarski P. et al. Actin/alpha-actinin-dependent transport of AMPA receptors in dendritic spines: role of the PDZ-LIM protein RIL. *J Neurosci* 2004;24(39):8584–94. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2100-04.2004

53. Dobbins G.C., Luo S., Yang Z. et al. Alpha-actinin interacts with rapsyn in agrin-stimulated AChR clustering. *Mol Brain* 2008;1:18. DOI: 10.1186/1756-6606-1-18
54. Hall D.D., Dai S., Tseng P.Y. et al. Competition between α -actinin and Ca^{2+} -calmodulin controls surface retention of the L-type Ca^{2+} channel $\text{Ca}_v1.2$. *Neuron* 2013;78(3):483–97. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.02.032
55. Torres-Benito L., Schneider S., Rombo R., Ling K.K. *NCALD* antisense oligonucleotide therapy in addition to nusinersen further ameliorates spinal muscular atrophy in mice. *Am J Hum Genet* 2019;105(1):221–30. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.05.008
56. Janzen E., Mendoza-Ferreira N., Hosseinibarkooie S. et al. *CHP1* reduction ameliorates spinal muscular atrophy pathology by restoring calcineurin activity and endocytosis. *Brain* 2018;141(8):2343–61. DOI: 10.1093/brain/awy167
57. Zheleznyakova Yu.G., Nilsson E.K., Kiselev A.V. et al. Methylation levels of *SLC23A2* and *NCOR2* genes correlate with spinal muscular atrophy severity. *PLoS One* 2015;10(3): e0121964. DOI: 10.1371/journal.pone.0121964
58. Maretina M., Egorova A., Baranov V., Kiselev A. *DYNCH1* gene methylation correlates with severity of spinal muscular atrophy. *Ann Hum Genet* 2019;83(2):73–81. DOI: 10.1111/ahg.12288
59. Zhuri D., Gurkan H., Eker D. et al. Investigation on the effects of modifying genes on the spinal muscular atrophy phenotype. *Glob Med Genet* 2022; 9(3):226–36. DOI: 10.1055/s-0042-1751302
60. Karasu N., Acer H., Akalin H. Molecular analysis of *SMN2*, *NAIP* and *GTF2H2* gene deletions and relation with clinical subtypes of spinal muscular atrophy. 2022. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1442537/v1
61. Jiang J., Huang J., Gu J. et al. Genomic analysis of a spinal muscular atrophy (SMA) discordant family identifies a novel mutation in *TLL2*, an activator of growth differentiation factor 8 (myostatin): a case report. *BMC Med Genet* 2019;20. DOI: 10.1186/s12881-019-0935-3
62. Bharucha-Goebel D., Kaufmann P. Treatment advances in spinal muscular atrophy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2017;17(11):91. DOI: 10.1007/s11910-017-0798-y
63. Farooq F., Abadia-Molina F., MacKenzie D. Celecoxib increases SMN and survival in a severe spinal muscular atrophy mouse model via p38 pathway activation. *Hum Mol Gen* 2013;22(17):3415–24. DOI: 10.1093/hmg/ddt191

Вклад авторов

М.А. Ахьямова: обзор публикаций по теме статьи, написание статьи, дизайн рисунков и таблицы;

О.А. Шагина: обзор публикаций по теме статьи, редактирование статьи;

А.В. Поляков: редактирование статьи.

Authors' contributions

M.A. Akhiamova: review of publications on the topic of the article, writing the article, design of figures and table;

O.A. Shchagina: review of publications on the topic of the article, editing the article;

A.V. Polyakov: editing the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.А. Ахьямова / M.A. Akhiamova: <https://orcid.org/0000-0002-7244-9654>

О.А. Шагина / O.A. Shchagina: <https://orcid.org/0000-0003-4905-1303>

А.В. Поляков / A.V. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.