

DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-2-44-52>

# Исторические этапы поиска и разработки терапевтических подходов при миодистрофии Дюшенна. Часть II: этиотропные подходы

**К.С. Кочергин-Никитский, С.А. Смирнихина, А.В. Лавров**

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

**Контакты:** Константин Сергеевич Кочергин-Никитский [KochNik.KS@gmail.com](mailto:KochNik.KS@gmail.com)

Мышечная дистрофия Дюшенна – одна из самых распространенных наследственных миодистрофий с X-сцепленным рецессивным типом наследования. Развитие болезни обусловлено мутациями гена *DMD*, приводящими к отсутствию или нарушению функции кодируемого им белка дистрофина. Потеря дистрофина приводит к тяжелым дегенеративным процессам у пациентов, особенно в мышечных тканях, вызывающим нарушение функционирования мышц, утрату способности к самостоятельному перемещению, дыхательную недостаточность, кардиомиопатию и др.

Усилия множества исследователей, разрабатывавших различные терапевтические подходы с момента описания заболевания в XIX веке до настоящего времени, не привели к возможности излечивать миодистрофию Дюшенна или хотя бы значительно повлиять на заболевание. Последнее стало возможно только с внедрением в терапию глюкокортикостероидных препаратов. Их применение позволяет замедлить развитие болезни, продлить средний ожидаемый срок жизни до 30–40 лет, однако связано с серьезными осложнениями, негативно влияющими на качество жизни пациентов.

В последние десятилетия определенные надежды связаны с развитием этиотропной терапии миодистрофии Дюшенна, направленной на восстановление функции гена *DMD*. Некоторые из таких подходов связаны с попытками преодолевать эффекты, создаваемые преждевременными стоп-кодонами в гене *DMD*, при использовании антибиотиков группы аминогликозидов, аталурена и пр. Ряд более поздних исследований провели с целью изучения применимости подходов, основанных на пропуске экзонов в гене дистрофина, для исключения экзонов, содержащих патогенные генетические варианты. Основанием стала имеющаяся информация о более мягком течении заболевания, связанного с укороченным, но сохраняющим функциональность дистрофином. Еще с начала XX века изучалась возможность коррекции патологии посредством введения функционального гена *DMD* извне (генозаместительная терапия). Одним из наиболее перспективных направлений в последние годы представляется развитие подходов, связанных с геномным редактированием, позволяющих, в отличие от вышеперечисленных методик, на постоянной основе исправлять этиологическую основу генетических заболеваний. Некоторые из таких препаратов уже получили одобрение, другие же, относящиеся к генной терапии, находятся на стадии клинических исследований.

**Ключевые слова:** мышечная дистрофия Дюшенна, мышечная дистрофия Беккера, ген *DMD*, дистрофин, нервно-мышечные заболевания

**Для цитирования:** Кочергин-Никитский К.С., Смирнихина С.А., Лавров А.В. Исторические этапы поиска и разработки терапевтических подходов при миодистрофии Дюшенна. Часть II: этиотропные подходы. Нервно-мышечные болезни 2024;14(2):44–52. DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-2-44-52>

## Stages of research and development of therapeutic approaches for Duchenne myodystrophy. Part II: etiotropic approaches

**K.S. Kochergin-Nikitskiy, S.A. Smirnikhina, A.V. Lavrov**

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

**Contacts:** Konstantin Sergeevich Kochergin-Nikitskiy [KochNik.KS@gmail.com](mailto:KochNik.KS@gmail.com)

Duchenne muscular dystrophy is one of the most common inherited muscular dystrophies. The cause of this disease with an X-linked recessive type of inheritance is mutations in the *DMD* gene, leading to the absence of the dystrophin protein this gene encodes or its impaired function. Loss of dystrophin leads to severe degenerative processes in patients, especially in muscle tissue, with impaired muscle function, loss of ability to move independently, respiratory failure, cardiomyopathies, etc.

The collective efforts of many researchers over the years since the 19<sup>th</sup> century, when the diseases was described, not allowed to achieve a cure or significantly influencing the trajectory of the illness. The only notable impact on the disease course has come with the integration of corticosteroid medications into Duchenne muscular dystrophy therapy. While their application can decelerate disease progression and extend the average life expectancy up to 30–40 years, it comes with substantial adversely affects influencing patients' quality of life.

Certain hopes were associated in recent decades with the development of etiotropic therapy for Duchenne muscular dystrophy, aimed at restoration of the dystrophin's function. Some of such approaches were based on the overcoming of the effect of premature stop codons in the *DMD* gene using aminoglycoside antibiotics, ataluren, etc. Several subsequent studies were conducted to explore the applicability of exon-skipping approaches in the dystrophin gene, aimed at excluding exons carrying pathogenic genetic variants. The rationale for these studies was the available information about a milder course of the disease associated with a truncated but functional dystrophin. The possibility of the pathology correction by means of introduction of the exogenous functional *DMD* gene copy from the outside (gene replacement therapy) has been under study since the beginning of the 20<sup>th</sup> century. One of the most promising directions in recent years was the development of approaches related to genome editing, which, unlike the methods mentioned above, allows for the permanent correction of the underlying cause of genetic diseases. Some of corresponding drugs have already received approval, while others, related to gene therapy, are at the stage of clinical trials.

**Keywords:** Duchenne muscular dystrophy, Becker muscular dystrophy, *DMD* gene, dystrophin, neuromuscular disorders

**For citation:** Kochergin-Nikitskiy K.S., Smirnikhina S.A., Lavrov A.V. Stages of research and development of therapeutic approaches for Duchenne myodystrophy. Part II: etiotropic approaches. *Nervno-myshechnye bolezni* = Neuromuscular Diseases 2024;14(2):44–52. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-2-44-52>

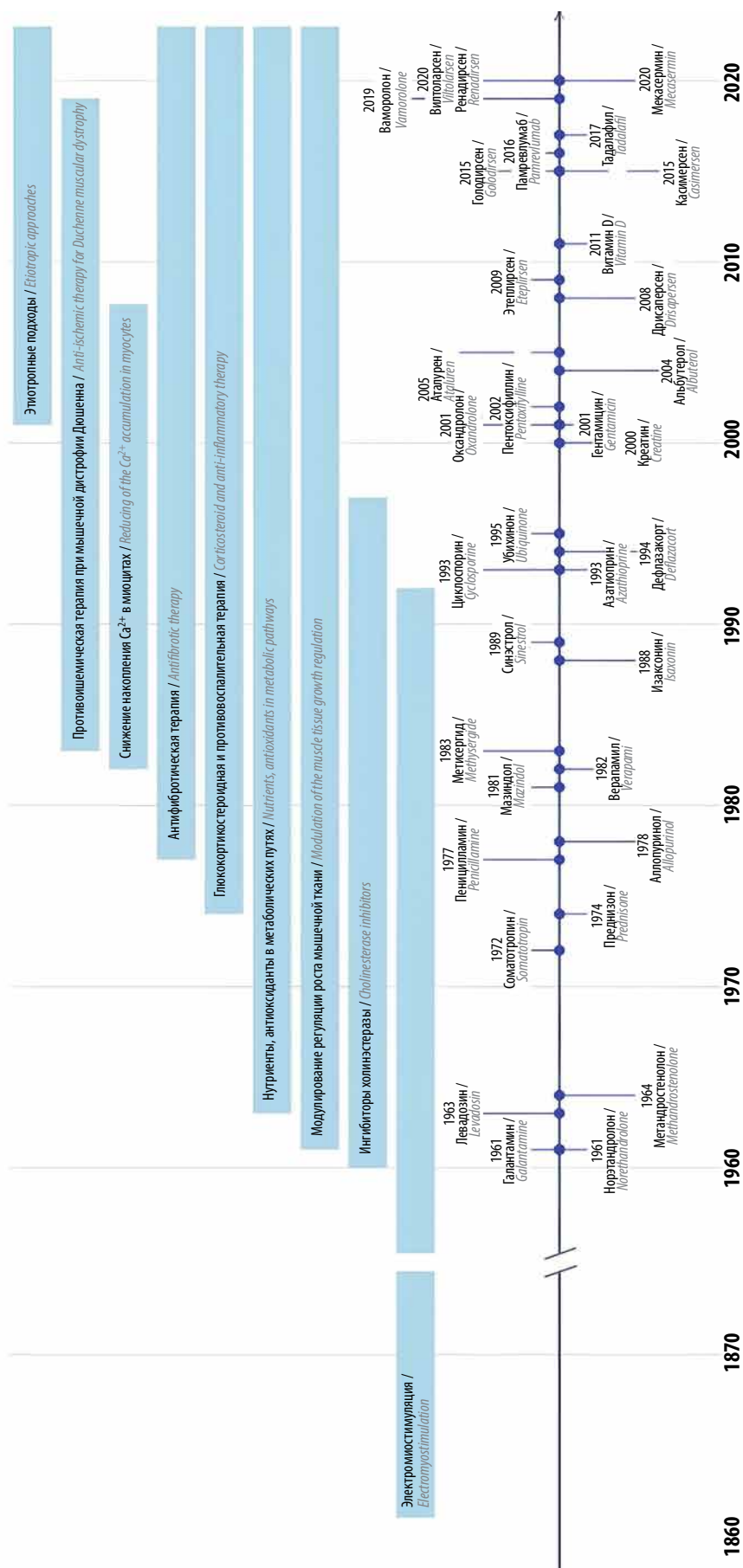
## Введение

Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД) — наследственное заболевание с X-сцепленным рецессивным типом наследования, связанное с нарушением функции белка дистрофина. Белок кодирует один из длиннейших генов (2,3 млн оснований, из которых 11 000 оснований входят в кодирующую последовательность), выявленных к настоящему времени, включающий 79 экзонов [1]. Данный белок обеспечивает стабилизацию мышечных волокон, связывая актин с комплексом внутриклеточных, трансмембранных и внеклеточных гликопротеинов [2]. Кроме того, его обнаруживают в области нервно-мышечного соединения [3]. Чаще всего причиной заболевания становятся крупные делеции (около 70 %), приводящие к потере 1 и более экзонов, сгруппированные преимущественно в 2 регионах: экзоны 45–55 и 2–20. Весомую долю (около 20 %) каузативных мутаций составляют небольшие мутации, из которых чаще всего (порядка 10 % случаев) встречаются точечные нонсенс-мутации. Выявляли также крупные дупликации (порядка 10 %), небольшие (от нескольких нуклеотидов) делеции и инсерции, нарушения сайтов сплайсинга [1, 4, 5]. Кроме того, имеются данные о влиянии иных генов на развитие МДД. Так, Е. Регогаго и соавт. в 2011 г. сообщали о влиянии аллеля гена *SPPI*, кодирующего остеопорин, на более быстрое прогрессирование заболевания и ответ на терапию глюкокортикостероидами [6].

Мышечная дистрофия Дюшенна считается одним из самых распространенных среди редких наследственных заболеваний. Частота, по разным оценкам, составляет в различных регионах до 1 случая на 3500–9000 новорожденных мужского пола [7, 8], возраст выявления заболевания — от 2 до 4 лет. Развитие заболевания связано с прогрессирующими дегенеративными процес-

сами в мышечных тканях, потерей мышечных волокон и фиброзом, приводящими к общей мышечной слабости и нарушениям двигательной активности. На более поздних этапах пациенты лишаются возможности независимой ходьбы, возникают фатальные нарушения сердечной и дыхательной деятельности. Уже к 10–12 годам многим пациентам требуется инвалидная коляска, а к 20 годам проблемы с дыхательной системой часто приводят к необходимости принудительной вентиляции легких. И даже при ее использовании средняя продолжительность жизни больных составляет от 20 до 40 лет [9, 10]. Нарушения функционирования миокарда часто наблюдаются уже с 6 лет, и у большинства (до 95 %) пациентов на терминальной стадии заболевания [11]. Также у детей наблюдают легкое отставание умственного развития.

Со времен описания МДД во второй половине XIX века было исследовано немалое количество терапевтических подходов и связанных с ними препаратов, призванных если не излечить, то по крайней мере уменьшить тяжесть течения заболевания. Мы постарались зафиксировать некоторые исторические вехи в развитии таких подходов (см. рисунок). В первой части обзора не были охвачены этиотропные подходы, получившие развитие в последние десятилетия и направленные на устранение самой причины заболевания — генетического дефекта либо снижение его эффекта при воздействии на первые звенья патогенетической цепи — экспрессию дистрофина. Такие методы, как стимуляция прохождения стоп-кодонов (преодоление нонсенс-мутаций), провокация пропуска экзона, содержащих высокопатогенные генетические варианты, и, наконец, генотерапевтические подходы, в частности методы геномного редактирования, мы постарались рассмотреть в историческом ключе в данной части.



Временная шкала, отражающая развитие терапевтических подходов и появление препаратов, применявшихся при терапии мышечной дистрофии Дюшенна  
 Timeline showing the development of therapeutic approaches and introduction of the drugs, used in Duchenne muscular dystrophy therapy

## Развитие этиотропных подходов к терапии миодистрофии Дюшенна

С 2000-х годов. Преодоление нонсенс-мутаций. Аминогликозиды. Нонсенс-мутации в гене дистрофина достаточно часто (5–13 % случаев) лежат в основе этиологии МДД, и восстановление синтеза белка посредством трансляции «сквозь» преждевременный стоп-кодон представляется многообещающим подходом. С 70–80-х годов XX века известна способность антибиотиков группы аминогликозидов провоцировать «проскок» стоп-кодонов при синтезе белка в клетках эукариот. Связываясь с рибосомной РНК в А-сайте 80S-субъединицы, аминогликозиды снижают специфичность декодирования и делают возможным добавление к полипептидной цепочке аминокислоты в позиции стоп-кодона [12, 13]. Ограничения использования аминогликозидов связаны со специфичностью в отношении стоп-кодонов и их достаточно высокой токсичностью (особенно нефро- и ототоксическими эффектами [14, 15]). Для гентамицина, например, показано преимущественное прохождение кодона TGA, но не TAA и TAG [16].

Первые клинические исследования по применению аминогликозидов при МДД были проведены в начале 2000-х годов. Об улучшении клинической картины или повышении силовых показателей не сообщали ни K.R. Wagner и соавт. в 2001 г. по результатам 2-недельного исследования фазы I с 4 пациентами, имевшими нонсенс-мутации в гене *DMD*, ни L. Politano и соавт. в 2003 г. Во втором случае, однако, повышение уровня дистрофина было зафиксировано серологическими методами в биоптатах мышечных тканей у 3 из 4 пациентов с преждевременными стоп-кодонами UGA [17, 18]. Такую специфичность в отношении стоп-кодона (а также его окружения) не зафиксировали V. Malik и соавт. в 2010 г., наблюдавшие в среднем 50 % снижение уровня креатинфосфокиназы у пациентов 5–15 лет с различными стоп-кодонами в гене дистрофина, получавших гентамицин, а также восстановление экспрессии дистрофина у пациентов, прошедших 6-месячный курс терапии гентамицином, особенно у пациентов с ненулевым (>0,8 % от нормы) базовым уровнем его экспрессии, с потенциально клинически значимыми 13–15 % от нормы у 3 из них (у mdx-мышей такое повышение позволяло улучшить силовые показатели [19]). Хотя показана неплохая переносимость препарата без серьезных побочных эффектов при выбранных режимах, значимых улучшений в функциональных тестах и силовых показателях при достигаемых уровнях экспрессии не наблюдалось [20].

**Аталурен.** Одним из новых препаратов, позволяющих преодолевать стоп-кодоны, стал PTC124, или аталурен (трансларна), полученный PTC Therapeutics в результате скрининга 800 тыс. различных соединений [21], провоцирующий введение в полипептидную цепь аминокислот Gln, Lys или Tyr на место UAA и UAG стоп-кодонов и аминокислот Trp, Arg или Cys на место

UGA. Наблюдается избирательность препарата в отношении именно преждевременных стоп-кодонов даже при длительной экспозиции. Важным преимуществом аталурена называется возможность перорального введения, а также значительно более низкая концентрация препарата, необходимая для максимального эффекта, по сравнению с аминогликозидами в целом и гентамицином в частности.

После обнадеживающих результатов исследований на клеточных культурах и животных моделях [22] и демонстрации хорошей переносимости препарата в 28-дневном предварительном исследовании (а также повышенной экспрессии дистрофина у 23 из 38 его участников [23]) было проведено несколько исследований, связанных с применением аталурена в терапии МДД. В 2014 г. K. Bushby и соавт. сообщили о результатах фазы IIb рандомизированного двойного слепого исследования под контролем плацебо длительностью 48 нед с участием 174 пациентов от 5 лет с нонсенс-мутациями в гене *DMD* [24]. Были показаны в среднем 30-кратное увеличение содержания дистрофина в мышцах по сравнению с группой плацебо (2,8 и 0,09 % соответственно), уменьшение числа падений (максимум до 2,5 раза по сравнению с группой плацебо), а также увеличенное на 28–44 м расстояние, проходимое за 6 мин (6MWT; в норме в соответствующих возрастных группах составляет ~500–700 м [25, 26]), а в отдельных подгруппах – на 50 м ( $p = 0,0096$ ) и 68 м ( $p = 0,005$ ). В целом по параметру 6MWT к окончанию испытаний замедление и отсутствие прогрессирования заболевания отмечались у 74 % пациентов (против 56 % в группе плацебо). Исследования фазы III (48 нед) с критериями отбора пациентов, соответствовавшими таковым подгруппы с наиболее статистически значимыми различиями в предыдущей фазе (7–16 лет, базовое значение 6MWT >150 м, но <80 % от нормы), не выявили статистически значимой разницы в показателе 6MWT между группами исследования и плацебо, за исключением единственной подгруппы с базовым значением 6MWT 300–400 м, где средняя разница составила 43 м ( $p = 0,007$ ) и ни один пациент не утратил амбулаторного статуса. Улучшения качества жизни пациентов не отмечалось, хотя, по некоторым данным, даже небольшое увеличение показателя 6MWT может иметь клиническую значимость [27]. Авторы исследования указывали на ограничения корректной оценки результатов из-за гетерогенности выборки (при базовом значении 6MWT <150 м колебания показателя весьма высоки, при значении >400 м зачастую за год может не наблюдаться его снижения) [28].

Клинические исследования (NCT04336826, NCT03179631, NCT02369731) аталурена в терапии МДД продолжаются. Результаты более чем 6-летнего ретроспективного исследования с включением 11 пациентов с МДД и медианным сроком приема аталурена 2312 дней, проведенного E. Michael и соавт., и промежуточные

результаты длительного проспективного международного исследования с участием более чем 400 пациентов с МДД, проводимого международной исследовательской группой STRIDE Registry and Cooperative International Neuromuscular Research Group с 2006 г., подтверждают данные о замедлении прогрессирования заболевания, ухудшения моторных функций верхних конечностей, отсрочке потери амбулаторного статуса пациентами, а также о хорошей переносимости аталурена [29–31]. В настоящее время для аталурена продлено условное одобрение от Европейского агентства лекарственных средств (EMA). От Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) одобрение не получено [32, 33].

Продолжается поиск эффективных и малотоксичных препаратов с аналогичными свойствами. В 2003 г. сообщали о препарате негамицин, тестируемом на mdx-мышцах. За 2 нед авторам удалось достичь содержания дистрофина в исследованных мышцах порядка 10 % от нормы и снижения уровня креатинфосфокиназы на 35 % [34]. Синтезирован аналог негамицина, в 1,4 раза более активный и менее токсичный, а также не имеющий антимикробной активности [35]. Результатом скрининга более чем 34 тыс. соединений стало выявление RTC13, обладающего более высокой, по сравнению как с гентамицином, так и с аталуреном, эффективностью в отношении преодоления UAA стоп-кодона и восстановления синтеза дистрофина у mdx-мышей при отсутствии изменений в печени или почках, связанных с токсическим эффектом препарата [36].

Со второй половины 2010-х годов. Внедрение препаратов, провоцирующих экзон-скиппинг, на основе антисмысловых олигонуклеотидов. Основанием для развития в терапии МДД подходов, связанных с пропуском экзонов, являются данные о значительно более мягком фенотипе заболевания при in-frame-делециях в дистрофине (часто это мышечная дистрофия Беккера), по сравнению с фенотипом заболевания, развивающегося в отсутствие функции дистрофина [37–40]. В качестве материального агента, обеспечивающего искомый эффект пропуска экзонов, рассматриваются, например, так называемые антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), гибридизация которых с РНК-транскриптами в районе сайтов сплайсинга приводит к их экранированию и исключению нижележащего экзона из мРНК [41]. В контексте МДД примерно 47 % каузативных мутаций могут быть скорректированы пропуском 1 экзона и до 90 % — пропуском пары, что, однако, требует разработки ASO для пропуска 68 из 79 экзонов [42]. При этом множественный пропуск, например, экзонов 45–55, позволяющий охватить до 47 % МДД-ассоциированных нонсенс-мутаций, также связан с относительно мягким фенотипом мышечной дистрофии Беккера [43–45].

По-видимому, впервые модулирование сплайсинга мРНК дистрофина посредством ASO было предложено исследователями из Японии еще в начале-сере-

дине 1990-х годов [46, 47]. К настоящему времени множество ASO, в основном представляющих собой модифицированные олигонуклеотиды, для пропуска различных экзонов в гене дистрофина было предложено и проверено в клинических исследованиях. В 2016 г. одобрение FDA получил этеплирсен (Sarepta Therapeutics) — препарат на основе морфолиновых олигонуклеотидов (РМО), предназначенный для обеспечения пропуска экзона 51. Одобрение вызвало дебаты в том числе из-за малой выборки, для которой были продемонстрированы достоверные результаты. Препарат прошел ряд клинических исследований (NCT00159250, NCT00844597, NCT01396239, NCT01540409, NCT02255552), однако решение FDA было основано на показателях 6MWT, полученных для подгруппы из 12 пациентов с нонсенс-мутациями в экзоне 51. В подгруппе по окончании 24-недельного курса было зафиксировано увеличение количества мышечных волокон, содержащих дистрофин, в среднем до 23 % и до 43 и 50 % спустя 48 нед. Спустя 180 нед содержание дистрофина в биоптатах мышечных тканей также оставалось повышенным, в среднем в 11,6 раза (с 0,08 до 0,93 % от нормы) [48]. Спустя 36 мес пациенты, получавшие препарат, демонстрировали более низкую скорость прогрессирования заболевания (средняя разница в показателе 6MWT — 151 м,  $p = 0,01$ ), меньшую частоту потери амбулаторного статуса и стабилизацию дыхательной функции по сравнению с историческими данными [49, 50].

Изучение аналогичного препарата дрисаперсена, дошедшего до III фазы клинических исследований, было в итоге прекращено из-за низких показателей эффективности и статистической значимости отличий [51, 52].

Среди внутривенных ASO, получивших первичное одобрение, — ASO на основе РМО голодирсен (одобрен FDA в 2019 г. [53]) и вилтоларсен (одобрен в США и Японии в 2020 г. [54, 55]) для пропуска экзона 53, касимерсен (одобрен в США в 2021 г. [56]). Некоторые другие, такие как, например, препарат для подкожного введения ренадирсен [57], относящийся к тиофосфатным производным РНК с 2'-О-метилованной рибозой, проходят клинические исследования (JapicCTI-153072). Ведутся исследования, связанные с различными новыми классами ASO, такими как пептидные конъюгаты РМО (пептидная часть, богатая аргинином, обеспечивает улучшение доставки незаряженного РМО в клетки, в том числе кардиомиоциты) [58], трицикло-ДНК-олигомеры, демонстрирующие повышенную способность вызывать пропуск экзонов и более высокую аффинность в отношении РНК [59]. Исследуются преимущества стереочистых ASO с избирательной хиральностью [41].

**Генотерапевтические подходы, связанные с экспрессией экзогенного функционального дистрофина (генозаместительная терапия).** Попытки доставки кодирующих гены последовательностей в эукариотические клетки, в том числе путем трансдукции специально собранными вирусными векторами, с целью экспрессии данных

генов предпринимались, по-видимому, еще в 60-х годах XX века [60]. В контексте МДД, связанной с отсутствием функционального дистрофина, экспрессия экзогенного белка в целевых клетках представляется многообещающей стратегией. Однако полный размер только кодирующей последовательности гена *DMD* составляет около 11,5 Кб, что превышает пакующую способность как рекомбинантных аденоассоциированных векторов, так и векторов на основе адено- или ретровирусов. В ряде исследований на животных моделях была продемонстрирована функциональность разрабатываемых безынтронных вариантов гена *DMD*, содержащих протяженные делеции и кодирующих укороченные дистрофины, так называемые мини- и микродистрофины. Ранние работы опубликованы еще в начале 2000-х годов [61–63]. В настоящее время некоторые из таких препаратов проходят клинические исследования. Микродистрофин под контролем специфического для мышечной ткани промотора МНСК7 в составе вектора на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса (рААВ) серотипа rh47, демонстрирующего повышенную тропность в отношении мышечной ткани, предложен Sarepta Therapeutics совместно с госпиталем Nationwide Children's Hospital (США). Препарат на его основе (SRP-9001/Elevidys/RG 6356) в настоящее время проходит клинические исследования фазы III, но для него уже получено одобрение FDA в июне 2023 г. [64]. В исследованиях фазы I–II (NCT03375164) с участием 4 пациентов было показано отсутствие значимых побочных эффектов, а также наличие экспрессии микродистрофина и присутствие белка в области сарколеммы в 81 % мышечных волокон через год после однократной инфузии, стабильные улучшения в функциональных тестах [65].

PF-06939926 (Pfizer) – еще один генотерапевтический препарат, в настоящее время участвующий в фазе III клинических исследований (NCT04281485), начатых в 2020 г. Препарат создан на основе минидистрофина, аналогичного микродистрофину, используемому в SRP-9001, но в составе рААВ 9-го серотипа. Проводится набор пациентов, первичные данные ожидаются в 2024 г. Результаты исследований фазы I (NCT03362502) указывали на безопасность и эффективность препарата после однократного введения, что позволило FDA выдать заявке статус fast-track, в связи с чем сразу после фазы I были инициированы исследования фазы III [66, 67].

Среди аналогичных препаратов SGT-001 (на основе рААВ9), разрабатываемый Solid Biosciences, сейчас

участвует в стартовавших в 2017 г. открытых исследованиях фазы I–II (NCT03368742), включивших 16 пациентов 4–17 лет. В группах пациентов, получавших препарат, показаны улучшения в функциональных тестах. В то же время у некоторых пациентов наблюдались побочные эффекты, потребовавшие медицинского вмешательства.

Другой пример – GNT 0004, разработка компании Genethon в сотрудничестве с Sarepta Therapeutics. Клинические испытания I–III фазы (2020-002093-27, European Union Clinical Trials Register) препарата стартовали в 2020 г. [66–68].

### Заключение

С середины XIX века предложено множество подходов к терапии МДД. Большинство из них оказались малоэффективными и неспособными кардинальным образом изменить течение и исход заболевания или значительно повысить качество жизни пациентов. Внедрение глюкокортикостероидных препаратов позволило замедлить развитие заболевания и продлить амбулаторный период и средний срок ожидаемой жизни больных. Однако при этом низкое качество жизни пациентов с МДД дополнительно усугубляется серьезными побочными эффектами при длительном применении глюкокортикостероидных препаратов. В последние десятилетия развитие этиотропных подходов позволяет надеяться на возможность исправления самой причины заболевания. Препараты, дающие возможность пропускать преждевременные стоп-кодоны или целые экзоны и частично восстанавливать функциональность белка, пока не позволяют добиться кардинального улучшения клинической картины. Особые надежды связаны с генотерапевтическими препаратами, большинство из которых пока остаются на стадии разработки или клинических исследований.

Как вариант генной терапии рассматриваются методы геномного редактирования, позволяющие исправить генетический дефект, лежащий в основе причины заболевания. При этом рассматривают 3 основных стратегии: пропуск экзонов посредством разрушения сайтов сплайсинга, получение протяженных делеций посредством парных разрезов, а также восстановление рамки считывания за счет внедрения коротких инсерций и делеций [69–71]. Данные подходы начали развиваться относительно недавно и в настоящее время далеки от получения одобрения или внедрения в клиническую практику.

# ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bladen C.L., Salgado D., Mongeset S. et al. The TREAT-NMD DMD Global Database: Analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat* 2015;36(4):395–402. DOI: 10.1002/humu.22758
2. Blake D.J., Weir A., Newey S.E., Davies K.E. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev* 2002;82(2):291–329. DOI: 10.1002/humu.22758
3. Van der Pijl E.M., van Putten M., Niks E.H. et al. Characterization of neuromuscular synapse function abnormalities in multiple Duchenne muscular dystrophy mouse models. *Eur J Neurosci* 2016;43(12):1623–35. DOI: 10.1111/ejn.13249
4. Tuffery-Giraud S., Bérout C., Leturcq F. et al. Genotype–phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD–DMD database: A model of nationwide knowledgebase. *Hum Mutat* 2009;30(6):934–45. DOI: 10.1002/humu.20976
5. Oshima J., Magner D.B., Lee J.A. et al. Regional genomic instability predisposes to complex dystrophin gene rearrangements. *Hum Genet* 2009;126(3):411–23. DOI: 10.1007/s00439-009-0679-9
6. Pegoraro E., Hoffman E.P., Pivalet L. et al. SPP1 genotype is a determinant of disease severity in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2011;76(3):219–26. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318207afeb
7. Nowak K.J., Davies K.E. Duchenne muscular dystrophy and dystrophin: pathogenesis and opportunities for treatment. *EMBO Rep* 2004;5(9):872–6. DOI: 10.1038/sj.embor.7400221
8. Crisafulli S., Sultana J., Fontana A. et al. Global epidemiology of Duchenne muscular dystrophy: An updated systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):141. DOI: 10.1186/s13023-020-01430-8
9. Mercuri E., Bönnemann C.G., Muntoni F. Muscular dystrophies. *Lancet* 2019;394(10213):2025–38. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32910-1
10. Landfeldt E., Thompson R., Sejersen T. et al. Life expectancy at birth in Duchenne muscular dystrophy: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 2020;35(7):643–53. DOI: 10.1007/s10654-020-00613-8
11. Nigro G., Comi L.I., Limongelli F.M. et al. Prospective study of X-linked progressive muscular dystrophy in campania. *Muscle Nerve* 1983;6(4):253–62. DOI: 10.1002/mus.880060403
12. Burke J.F., Mogg A.E. Suppression of a nonsense mutation in mammalian cells *in vivo* by the aminoglycoside antibiotics G-418 and paromomycin. *Nucleic Acids Res* 1985;13(17):6265–72. DOI: 10.1093/nar/13.17.6265
13. Martin R., Mogg A.E., Heywood L.A. et al. Aminoglycoside suppression at UAG, UAA and UGA codons in *Escherichia coli* and human tissue culture cells. *Mol Gen Genet* 1989;217(2–3):411–8. DOI: 10.1007/BF02464911
14. Uis S., Gonzalez I., Spencer J.P. Aminoglycosides: A practical review. *Am Fam Physician* 1998;58(8):1811–20.
15. Rosenberg C.R., Fang X., Allison K.R. Potentiating aminoglycoside antibiotics to reduce their toxic side effects. *PLoS One* 2020;15(9):e0237948. DOI: 10.1371/journal.pone.0237948
16. Kimura S., Ito K., Miyagi T. et al. A novel approach to identify Duchenne muscular dystrophy patients for aminoglycoside antibiotics therapy. *Brain Dev* 2005;27(6):400–5. DOI: 10.1016/j.braindev.2004.09.014
17. Politano L., Nigro G., Nigro V. et al. Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon. Preliminary results. *Acta Myol* 2003;22(1):15–21.
18. Wagner K.R., Hamed S., Hadley D.W. et al. Gentamicin treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophy due to nonsense mutations. *Ann Neurol* 2001;49(6):706–11. DOI: 10.1002/ana.1023
19. Barton-Davis E.R., Cordier L., Shoturma D.I. et al. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 1999;104(4):375–81. DOI: 10.1172/JCI7866
20. Malik V., Rodino-Klapac L.R., Viollet L. et al. Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2010;67(6):771–80. DOI: 10.1002/ana.22024
21. Welch E.M., Barton E.R., Zhuo J. et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007;447(7140):87–91. DOI: 10.1038/nature05756
22. Du M., Liu X., Welch E.M. et al. PTC124 is an orally bioavailable compound that promotes suppression of the human CFTR-G542X nonsense allele in a CF mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(6):2064–9. DOI: 10.1073/pnas.0711795105
23. Finkel R.S., Flanigan K.M., Wong B. et al. Phase 2a study of ataluren-mediated dystrophin production in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One* 2013;8(12):e81302. DOI: 10.1371/journal.pone.0081302
24. Bushby K., Finkel R., Wong B. et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve* 2014;50(4):477–87. DOI: 10.1002/mus.24332
25. De Cateau L.A.P., de Santana-Filho V.J., Maynard L.G. et al. Reference values for the six-minute walk test in healthy children and adolescents: A systematic review. *Braz J Cardiovasc Surg* 2016;31(5):381–8. DOI: 10.5935/1678-9741.20160081
26. Kasović M., Štefan L., Petrić V. Normative data for the 6-min walk test in 11–14 year-olds: A population-based study: 1. *BMC Pulm Med* 2021;21(1):1–6. DOI: 10.1186/s12890-021-01666-5
27. Henricson E., Abresch R., Han J.J. et al. The 6-minute walk test and person-reported outcomes in boys with Duchenne muscular dystrophy and typically developing controls: Longitudinal comparisons and clinically-meaningful changes over one year. *PLoS Curr* 2013;5:ecurrents.md.9e17658b007eb79fcd6f723089f79e06. DOI: 10.1371/currents.md.9e17658b007eb79fcd6f723089f79e06
28. McDonald C.M., Campbell C., Torricelli R.E. et al. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl* 2017;390(10101):1489–98. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31611-2
29. Morkous S.S. Treatment with ataluren for Duchene muscular dystrophy. *Pediatr Neurol Briefs* 2020;34:12. DOI: 10.1584/pedneurbriefs-34-12
30. Mercuri E., Muntoni F., Osorio A.N. et al. Safety and effectiveness of ataluren: Comparison of results from the STRIDE Registry and CINRG DMD Natural History Study. *J Comp Eff Res* 2020;9(5):341–60. DOI: 10.2217/ce-2019-0171
31. Michael E., Sofou K., Wahlgren L. et al. Long term treatment with ataluren – the Swedish experience. *BMC Musculoskelet Disord* 2021;22(1):837. DOI: 10.1186/s12891-021-04700-z
32. Ryan N.J. Ataluren: First global approval. *Drugs* 2014;74(14):1709–14. DOI: 10.1007/s40265-014-0287-4
33. FDA Advisory Committee: More Study Needed Before It Can Recommend Approval of Translarna. Available at: <https://www.pharmacypracticenews.com/Online-First/Article/09-17/FDA-Advisory-Committee-More-Study-Needed-Before-It-Can-Recommend-Approval-of-Translarna/44750?ses=ogst>.
34. Arakawa M., Shiozuka M., Nakayama Y. et al. Negamycin restores dystrophin expression in skeletal and cardiac muscles of mdx mice. *J Biochem (Tokyo)* 2003;134(5):751–8. DOI: 10.1093/jb/mvg203
35. Taguchi A., Nishiguchi S., Shiozuka M. et al. Negamycin analogue with readthrough-promoting activity as a potential drug candidate for Duchenne muscular dystrophy. *ACS Med Chem Lett.* 2012;3(2):118–22. DOI: 10.1021/ml200245t
36. Kayali R., Ku J.-M., Khitrov G. et al. Read-through compound 13 restores dystrophin expression and improves muscle function in the mdx mouse model for Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2012;21(18):4007–20. DOI: 10.1093/hmg/dds223
37. Monaco A.P., Bertelson C.J., Liechti-Gallati S. et al. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 1988;2(1):90–5. DOI: 10.1016/0888-7543(88)90113-9
38. Heald A., Anderson L.V., Bushby K.M. et al. Becker muscular dystrophy with onset after 60 years. *Neurology* 1994;44(12):2388–90. DOI: 10.1212/wnl.44.12.2388

39. Shiga N., Takeshima Y., Sakamoto H. et al. Disruption of the splicing enhancer sequence within exon 27 of the dystrophin gene by a non-sense mutation induces partial skipping of the exon and is responsible for Becker muscular dystrophy. *J Clin Invest* 1997;100(9):2204–10. DOI: 10.1172/JCI119757
40. Wang R.T., Barthelemy F., Martin A.S. et al. DMD genotype correlations from the Duchenne Registry: Endogenous exon skipping is a factor in prolonged ambulation for individuals with a defined mutation subtype. *Hum Mutat* 2018;39(9):1193–202. DOI: 10.1002/humu.23561
41. Echevarría L., Aupy P., Goyenvalle A. Exon-skipping advances for Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2018;27(R2):R163–72. DOI: 10.1093/hmg/ddy171
42. Yokota T., Duddy W., Echigoya Y. et al. Exon skipping for nonsense mutations in Duchenne muscular dystrophy: Too many mutations, too few patients? *Expert Opin Biol Ther* 2012;12(9):1141–52. DOI: 10.1517/14712598.2012.693469
43. Nakamura A., Shiba N., Miyazaki D. et al. Comparison of the phenotypes of patients harboring in-frame deletions starting at exon 45 in the Duchenne muscular dystrophy gene indicates potential for the development of exon skipping therapy. *J Hum Genet* 2017;62(4):459–63. DOI: 10.1038/jhg.2016.152
44. Echigoya Y., Lim K.R.Q., Nakamura A. et al. Multiple exon skipping in the Duchenne muscular dystrophy hot spots: Prospects and challenges. *J Pers Med* 2018;8(4):41. DOI: 10.3390/jpm8040041
45. Sheikh O., Yokota T. Advances in genetic characterization and genotype–phenotype correlation of Duchenne and Becker muscular dystrophy in the personalized medicine era. *J Pers Med* 2020;10(3):111. DOI: 10.3390/jpm10030111
46. Takeshima Y., Nishio H., Sakamoto H. et al. Modulation of *in vitro* splicing of the upstream intron by modifying an intra-exon sequence which is deleted from the dystrophin gene in dystrophin Kobe. *J Clin Invest* 1995;95(2):515–20. DOI: 10.1172/JCI117693
47. Pramono Z.A., Takeshima Y., Alimsardjono H. et al. Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226(2):445–9. DOI: 10.1006/bbrc.1996.1375
48. Charleston J.S., Schnell F.J., Dworzak J. et al. Eteplirsen treatment for Duchenne muscular dystrophy: Exon skipping and dystrophin production. *Neurology* 2018;90(24):e2146–54. DOI: 10.1212/WNL.00000000000005680
49. Mendell J.R., Rodino-Klapac L.R., Sahenk Z. et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013;74(5):637–47. DOI: 10.1002/ana.23982
50. Mendell J.R., Goemans N., Lowes L.P. et al. Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2016;79(2):257–71. DOI: 10.1002/ana.24555
51. McDonald C.M., Wong B., Flanigan K.M. et al. Placebo-controlled phase 2 trial of drisapersen for Duchenne muscular dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol* 2018;5(8):913–26. DOI: 10.1002/acn3.579
52. Goemans N., Mercuri E., Belousova E. et al. A randomized placebo-controlled phase 3 trial of an antisense oligonucleotide, drisapersen, in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord Elsevier* 2018;28(1):4–15. DOI: 10.1016/j.nmd.2017.10.004
53. Heo Y.-A. Golodirsen: First approval. *Drugs* 2020;80(3):329–33. DOI: 10.1007/s40265-020-01267-2
54. Dhillon S. Viltolarsen: First approval. *Drugs* 2020;80(10):1027–31. DOI: 10.1007/s40265-020-01339-3
55. Komaki H., Takeshima Y., Matsumura T. et al. Viltolarsen in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients: A phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol* 2020;7(12):2393–408. DOI: 10.1002/acn3.51235
56. Shirley M. Casimersen: First approval. *Drugs* 2021;81(7):875–9. DOI: 10.1007/s40265-021-01512-2
57. Lee T., Awano H., Yagi M. et al. 2'-O-methyl RNA/ethylene-bridged nucleic acid chimera antisense oligonucleotides to induce dystrophin exon 45 skipping. *Genes* 2017;8(2):67. DOI: 10.3390/genes8020067
58. Moulton H.M., Moulton J.D. Morpholinos and their peptide conjugates: Therapeutic promise and challenge for Duchenne muscular dystrophy. *Biochem Biophys Acta* 2010;1798(12):2296–303. DOI: 10.1016/j.bbame.2010.02.012
59. Goyenvalle A., Griffith G., Babbs A. et al. Functional correction in mouse models of muscular dystrophy using exon-skipping tricyclo-DNA oligomers. *Nat Med* 2015;21(3):270–5. DOI: 10.1038/nm.3765
60. Friedmann T., Roblin R. Gene therapy for human genetic disease? *Science* 1972;175(4025):949–55. DOI: 10.1126/science.175.4025.949
61. Wang B., Li J., Xiao X. Adeno-associated virus vector carrying human minidystrophin genes effectively ameliorates muscular dystrophy in mdx mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(25):13714–9. DOI: 10.1073/pnas.240335297
62. Harper S.Q., Hauser M.A., DelloRusso C. et al. Modular flexibility of dystrophin: Implications for gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Nat Med* 2002;8(3):253–61. DOI: 10.1038/nm0302-253
63. Fabb S.A., Wells D.J., Serpente P. et al. Adeno-associated virus vector gene transfer and sarcolemmal expression of a 144 kDa micro-dystrophin effectively restores the dystrophin-associated protein complex and inhibits myofibre degeneration in nude/mdx mice. *Hum Mol Genet* 2002;11(7):733–41. DOI: 10.1093/hmg/11.7.733
64. FDA Approves First Gene Therapy for Treatment of Certain Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. FDA, 2023. Available at: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapy-treatment-certain-patients-duchenne-muscular-dystrophy>.
65. Mendell J.R., Sahenk Z., Lehman K. et al. Assessment of systemic delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in children with Duchenne muscular dystrophy: A nonrandomized controlled trial. *JAMA Neurol* 2020;77(9):1122–31. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.1484
66. Лавров А.В., Заклязьминская Е.В. Генная терапия кардиомиопатий: возможности и ближайшие перспективы. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского 2023;11(1):32–46. DOI: 10.33029/2308-1198-2023-11-1-32-46  
Lavrov A.V., Zaklyazminskaya E.V. Gene therapy for cardiomyopathies: Opportunities and immediate prospects. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya khirurgiya. Zhurnal im. akad. B.V. Petrovskogo* 2023;11(1):32–46. (In Russ.). DOI: 10.33029/2308-1198-2023-11-1-32-46
67. Elangkovan N., Dickson G. Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis*;8(Suppl 2):S303–16. DOI: 10.3233/JND-210678
68. Wilton-Clark H., Yokota T. Antisense and gene therapy options for Duchenne muscular dystrophy arising from mutations in the N-terminal hotspot. *Genes* 2022;13(2):257. DOI: 10.3390/genes13020257
69. Зайнитдинова М.И., Смирнихина С.А., Лавров А.В. и др. Генотерапевтические подходы к лечению миодистрофии Дюшенна. Гены и клетки 2019;14(4):6–18. DOI: 10.23868/201912026  
Zaynitdinova M.I., Smirnikhina S.A., Lavrov A.V. et al. Gene therapeutic approaches to the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Geny i kletki = Genes and Cells* 2019;14(4):6–18. (In Russ.). DOI: 10.23868/201912026
70. Kupatt C., Windisch A., Moretti A. et al. Genome editing for Duchenne muscular dystrophy: A glimpse of the future? *Gene Ther* 2021;28(9):542–8. DOI: 10.1038/s41434-021-00222-4
71. Erkut E., Yokota T. CRISPR therapeutics for Duchenne muscular dystrophy. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1832. DOI: 10.3390/ijms23031832

**Вклад авторов**

К.С. Кочергин-Никитский: изучение источников литературы, написание статьи;  
С.А. Смирнихина: разработка методологии, редактирование статьи;  
А.В. Лавров: написание статьи.

**Authors' contributions**

K.S. Kochergin-Nikitskiy: study of the literature sources, writing the article;  
S.A. Smirnikhina: development of methodology, editing the article;  
A.V. Lavrov: writing the article.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

К.С. Кочергин-Никитский / K.S. Kochergin-Nikitskiy: <https://orcid.org/0000-0002-0096-4542>  
С.А. Смирнихина / S.A. Smirnikhina: <https://orcid.org/0000-0002-1558-3048>  
А.В. Лавров / A.V. Lavrov: <https://orcid.org/0000-0003-4962-6947>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00482, <https://rscf.ru/project/23-15-00482/>.

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-15-00482, <https://rscf.ru/project/23-15-00482/>.

**Статья поступила:** 15.01.2024. **Принята к публикации:** 28.02.2024.

**Article submitted:** 15.01.2024. **Accepted for publication:** 28.02.2024.