

DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-3-72-80>

Молекулярные механизмы нейродегенерации при спинальной мышечной атрофии

А.И. Власенко¹, В.Д. Назаров², С.В. Лапин², А.В. Мазинг², Е.А. Суркова², Т.В. Блинова², М.П. Топузова¹, Т.М. Алексеева¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России; Россия, 197341 Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, 2;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Контакты: Владимир Дмитриевич Назаров nazarov19932@mail.ru

В последнее десятилетие были разработаны патогенетические методы терапии спинальной мышечной атрофии 5q, использующие разные стратегии, в том числе увеличение экспрессии гена *SMN2*, коррекцию сплайсинга *SMN2* или реэкспрессию гена *SMN1*. Несмотря на понимание генетических причин заболевания и имеющиеся методы терапии, до сих пор не до конца известно, какие молекулярные механизмы при дефиците белка SMN приводят к дегенерации моторных нейронов. Понимание молекулярных путей, вовлеченных в потерю двигательных нейронов, может помочь в разработке новых терапевтических стратегий. В статье приводятся генетические и биохимические данные, раскрывающие молекулярные механизмы нейродегенерации при спинальной мышечной атрофии 5q.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия 5q, *SMN1*, *SMN2*, белок выживаемости мотонейронов, молекулярно-генетический механизм

Для цитирования: Власенко А.И., Назаров В.Д., Лапин С.В. и др. Молекулярные механизмы нейродегенерации при спинальной мышечной атрофии. Нервно-мышечные болезни 2024;14(3):72–80.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-3-72-80>

Molecular mechanism of neurodegeneration in spinal muscular atrophy

A.I. Vlasenko¹, V.D. Nazarov², S.V. Lapin², A.V. Mazing², E.A. Surkova², T.V. Blinova², M.P. Topuzova¹, T.M. Alekseeva¹

¹V.A. Almazov National Medical Research Center, Ministry of Health of Russia; 2 Akkuratova St., Saint Petersburg 197341, Russia;

²I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 6–8 Lva Tolstogo St., Saint Petersburg 197022, Russia

Contacts: Vladimir Dmitrievich Nazarov nazarov19932@mail.ru

In the last decade, pathogenetic methods for the treatment of spinal muscular atrophy 5q have been developed. These include increased expression of the *SMN2* gene, correction of *SMN2* splicing, or reexpression of the *SMN1* gene. Despite the comprehension of the genetic causes of the disease and the existence of therapies, it is still not completely known which molecular mechanisms in SMN protein deficiency lead to the degeneration of motor neurons. Understanding the molecular pathways involved in the loss of motor neurons may help develop new therapeutic strategies. The article presents genetic and biochemical data that reveal the molecular mechanisms of neurodegeneration in spinal muscular atrophy 5q.

Keywords: spinal muscular atrophy 5q, *SMN1*, *SMN2*, motoneuron survival protein, molecular genetic mechanism

For citation: Vlasenko A.I., Nazarov V.D., Lapin S.V. et al. Molecular mechanism of neurodegeneration in spinal muscular atrophy. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2024;14(3):72–80. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2024-14-3-72-80>

Введение

Спинальная мышечная атрофия (СМА) 5q — прогрессирующее аутосомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, которое характеризуется дегенерацией α -мотонейронов передних рогов спинного мозга и двигательных ядер ствола головного мозга и клинически проявляется развитием периферических парезов, бульбарных и дыхательных расстройств разной степени выраженности [1, 2].

Причиной развития данной патологии является дефицит белка выживаемости мотонейронов (survival motor neuron, SMN), который кодируется одноименным геном. В 1995 г. S. Lefebvre и соавт. (1995) идентифицировали ген *SMN* и описали его как часть инвертированной дупликации размером 500 тыс. пар нуклеотидов, локализованную на длинном плече 5-й хромосомы, 5q13 [3]. Ген *SMN* представлен в геноме в 2 вариантах: *SMN1* и *SMN2*. Эти гены имеют структурное сходство. Они состоят из 9 экзонов (1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7, 8) и 8 интронов, однако различаются 5 нуклеотидами: 1 нуклеотид в интроне 6, 1 — в экзоне 7, 2 — в интроне 7, 1 — в экзоне 8. Единственным функционально значимым отличием является трансляционно молчащий переход цитозина в тимин в 7-м экзоне гена *SMN2*. Такая замена нуклеотида приводит к разрыву сайта связывания с экзонным энхансером сплайсинга. В результате инициируется альтернативный сплайсинг с пропуском 7-го экзона и экспрессируется укороченная, нестабильная форма белка SMN, которая быстро расщепляется протеасомным путем [2, 4]. Лишь 10 % транскриптов *SMN2* являются полноразмерными и кодируют полноценный белок, идентичный полученному из *SMN1*. Следовательно, мутации в гене *SMN1* приводят к дефициту белка SMN и развитию СМА. При нарушении экспрессии *SMN1* только ген *SMN2* способен продуцировать белок SMN. Небольшое количество полноразмерного белка, синтезируемого с *SMN2* (~10 %), частично компенсирует дефект *SMN1*, позволяя функционировать большинству клеток. Однако для выживания двигательных нейронов такого количества белка SMN недостаточно, что приводит к прогрессирующей мышечной слабости и атрофии [5]. Количество копий *SMN2* (возможно от 1 до 8 копий) обратно пропорционально степени тяжести заболевания [2, 4, 6].

Примерно 95 % пациентов являются гомозиготами, у которых происходит потеря гена *SMN1* в виде конверсии *SMN1* в *SMN2*, делеции *SMN1* или образования гибридных генов *SMN1/SMN2* [4]. Оставшиеся 5 % больных — сложные гетерозиготы, имеющие сочетание делеции или конверсии одного аллеля и точечной мутации второго [4].

Рассмотрим структуру и функции белка SMN для понимания межмолекулярных взаимодействий при СМА 5q.

SMN представляет собой белок, состоящий из 294 аминокислот, которые формируют 5 доменов:

гемин-2-связывающий домен (кодируется 2-м экзоном), тьюдоровский домен (кодируется 3-м экзоном), богатый пролином домен (кодируется экзонами 5 и 6), тирозин-глициновый бокс (кодируется экзонами 6 и 7) и последние 16 аминокислот (кодируются 7-м экзоном) [7–9]. Такая структура позволяет белку SMN олигомеризоваться и образовывать стабильный комплекс с группой белков-геминов (2–8). Важно, что гемины легко выделить с помощью коиммунопреципитации с использованием антител. Это свойство помогает исследователям изучать взаимосвязь компонентов комплекса с другими молекулами.

Белок SMN имеет множество функций в нейроне и воздействует на различные области внутриклеточного гомеостаза:

- 1) участвует в построении и поддержании стабильности комплекса рибонуклеопротеинов;
- 2) участвует в молекулярной сборке и организации телец Кахаля;
- 3) участвует в других этапах процессинга РНК, таких как локальная трансляция и транспорт;
- 4) участвует в важных функциях нейронов, таких как динамика цитоскелета и эндоцитоз;
- 5) регулирует жизненный цикл белков и убиквитин-протеасомный путь [9, 10].

Биогенез рибонуклеопротеидов

Биогенез малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП). МяРНП обеспечивают каталитические реакции, необходимые для идентификации промежуточных последовательностей интронов и лигирования последовательностей экзонов. Структура мяРНП представляет собой комплекс из малых ядерных РНК (мяРНК), гептамерного кольца белка Смита (Sm) и нескольких тканеспецифических белков. Сборка гептамерного кольца — самая важная стадия биогенеза, так как она определяет ядерную локализацию и функцию мяРНП. Именно белок SMN, а конкретно его тьюдоровский домен, вместе с несколькими белками-геминами и *unp*-взаимодействующим белком обеспечивают сборку кольца белка Sm [6, 10]. Из этого следует, что недостаток белка SMN приводит к уменьшению количества мяРНП. При этом отмечается преимущественное изменение числа минорных мяРНП в общей структуре. Минорные мяРНП ответственны за удаление интронов, содержащих U12 [6, 11].

Биохимическая основа дифференциальной чувствительности отдельных мяРНК к уменьшенной активности комплекса SMN в настоящее время не изучена. Однако недавно стало известно, что неправильный сплайсинг U12 приводит к нарушению экспрессии белка Stasimon (также известного как Tmem41b) (рис. 1). Stasimon — резидентный трансмембранный белок эндоплазматического ретикулума, который улучшает двигательную функцию в животных моделях СМА [11–13]. Было замечено, что сверхэкспрессия Stasimon в про-

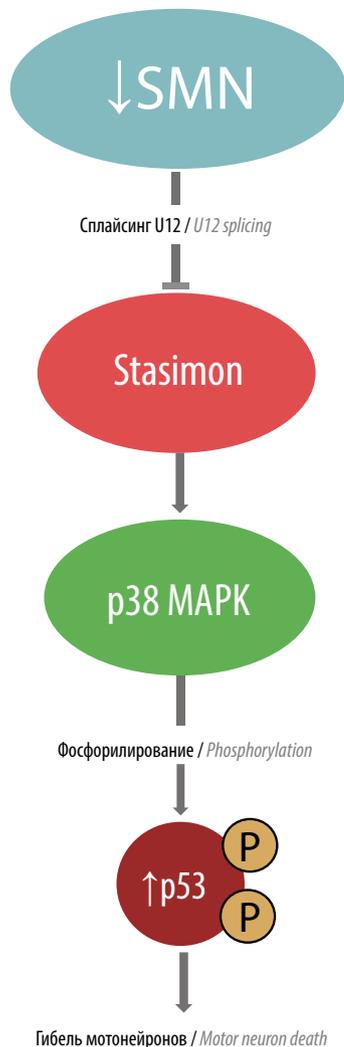


Рис. 1. Схематическое изображение роли белка Stasimon в дегенерации мотонейронов. P – фосфорилирование; p38 MAPK – p38 митоген-активируемая протеинкиназа

Fig. 1. Schematic representation of the role of Stasimon protein in motor neuron degeneration. P – phosphorylation; p38 MAPK – p38 mitogen-activated protein kinase

приоцептивных нейронах предотвращает потерю афферентных синапсов, усиливает сенсомоторную нейротрансмиссию и подавляет нейродегенерацию двигательных нейронов [14]. По какой причине при нарушении экспрессии Stasimon возникает деафферентация, до сих пор неизвестно. Но был предложен молекулярный механизм нейродегенерации мотонейронов. С.М. Simon и соавт. (2019) смогли показать взаимодействие данного белка с p38 MAPK*-зависимым сигнальным каскадом. При дефиците SMN неправильно функционирующий Stasimon активирует сигнальный путь p38 MAPK, в результате чего происходит фосфорилирование p53 и дальнейший апоптоз двигательных нейронов [14].

Открытие молекулярного механизма нейродегенерации в дальнейшем может использоваться как мишень для создания методов нейропротекции при СМА.

Биогенез малых ядрышковых рибонуклеопротеидов (мякРНП). МякРНП – рибонуклеопротеид, обеспечивающий посттранскрипционные модификации рибосомных РНК и мяРНК. Комплекс мякРНП состоит из малой ядрышковой РНК (мякРНК) (определяет тип модификации) и специфических белковых факторов. Выделяют 2 основных класса мякРНК: мякРНК с Н/АСА-боксами с функцией псевдоуридилирования и мяРНК с функцией метилирования [15].

Разные мяРНК взаимодействуют с различными специфическими белковыми факторами: основные белковые компоненты мякРНК Н/АСА-боксов – с GAR1, NHP2 и NOP10; основные белковые компоненты мяРНК С/Д-боксов – с 15.5K, NOP56, NOP58 и фибрилларинном.

L. Pellizzoni и соавт. (2001) с помощью метода иммунопреципитации продемонстрировали прямое взаимодействие комплекса SMN со специфическими белками обоих мякРНК: GAR1 и фибрилларинном [16]. Для дальнейшего изучения участия комплекса SMN в метаболизме мякРНП исследователи провели трансфекцию измененного белка SMN в клетках HeLa, в результате чего произошла реорганизация мякРНП [16].

Из этого следует, что дефект SMN вызывает нарушение сборки мякРНП, а вместе с ней – посттранскрипционной модификации рибосомной РНК и мяРНК, тем самым нарушая нормальную структуру клеток.

Биогенез частицы, распознающей сигнал. Частица, распознающая сигнал (ЧРС), представляет собой цитоплазматический рибонуклеопротеид, необходимый для котрансляционной доставки секреторных и мембранных белков в эндоплазматический ретикулум. ЧРС образована 1 7SL РНК и 6 специфическими белками. N. Piazzon и соавт. (2013) смогли показать *in vitro* способность белка SMN и гемин-2 взаимодействовать с 7S РНК, а затем подтвердили их взаимосвязь *in vivo*: метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией выявил снижение уровня 7SL РНК в спинном мозге мышей со СМА [17].

Молекулярная сборка и организация тельца Кахаля

Комплекс SMN локализуется как в цитоплазме, так и в ядре. Внутри ядра SMN концентрируется в тельцах Кахаля (ТК).

Тельца Кахаля – это внутриядерные органеллы, принимающие участие в заключительных этапах биогенеза сплайсосомных мяРНП. К специфичным компонентам ТК, помимо комплекса SMN, относят белок коилин (молекулярный маркер ТК), мяРНП, scaРНК (small Cajal

*МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа.

body-specific RNAs; специфичны только для ТК), белки ядрышек, различные базальные транскрипционные факторы, несколько киназ, голоэнзим TCAB1 [18, 19].

SMN напрямую взаимодействует с коилином через его RG-бокс. Эксперименты по трансфекции в клеточных линиях с нокаутом коилина показали, что RG-бокс необходим для рекрутирования комплекса SMN в ТК [20]. Кроме того, оказалось, что коилин конкурирует с белками Sm за связывание с SMN [20]. Возможно, это необходимо для разобщения комплекса SMN/мяРНП, сформировавшегося в цитоплазме. Используя процедуру диссоциации нейронов с дальнейшим иммуноцитохимическим и количественным анализом ядерных телц, О. Таря и соавт. (2012) продемонстрировали на мотонейронах пациентов со СМА I типа реорганизацию ТК. Исследователи наблюдали перераспределение коилина в ядрышки, нарушение накопления SMN и сплайсосомных мяРНП в ядерных телцах и уменьшение количества ТК [21].

Так, дефицит SMN не только нарушает цитоплазматический биогенез мяРНП, но и ограничивает заключительный этап биогенеза мяРНП в ядерных компартаментах, негативно влияя на сборку ТК. Подробный механизм реорганизации ТК при СМА требует дальнейшего изучения.

Влияние белка SMN на трансляцию белков

Белок SMN вовлечен в локализованную трансляцию белков в двигательных нейронах посредством участия SMN в транспорте мРНК и активации пути mTOR.

Участие белка SMN в транспорте мРНК представлено на рис. 2.

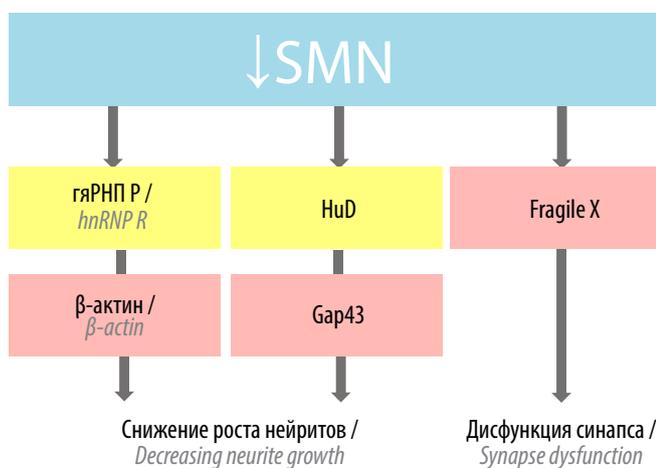


Рис. 2. Последствия отсутствия взаимодействия белка SMN с РНК-связывающими белками. гЯРНП R – гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин R; Gap43 – нейронспецифический белок 43, ассоциированный с ростом нейронов

Fig. 2. Consequences of the lack of interaction of the SMN protein with RNA-binding proteins. hnRNP R – heterogeneous nuclear ribonucleoproteins R; Gap 43 – growth associated protein 43

Известно, что белок SMN необходим для правильного транспорта РНК в аксональном компартменте. Такие РНК-связывающие белки, как гетерогенный ядерный РНП R, нейрогенный белок HuD и белок Fragile X, взаимодействуют с SMN [6].

Гетерогенный ядерный РНП R (гЯРНП) – комплекс, который обеспечивает транспорт мРНК β-актина в дистальную часть аксонов для роста нейритов в дифференцирующихся клетках PC12. W. Rossoll и соавт. (2003) продемонстрировали совместную локализацию гЯРНП R с белком SMN в пресинаптических окончаниях аксонов мотонейронов у мышей. При этом в SMN-дефицитных мотонейронах снижение роста нейритов коррелировало с уменьшением белка β-актина [22]. Данное открытие косвенно указывает на то, что количество молекул актина модифицируется в зависимости от количества SMN.

Нейрогенный белок HuD (HuD) – РНК-связывающий белок, который влияет на стабильность и транспорт мРНК. Одна из его мРНК-мишеней, Gap43, представляет собой нейронспецифический фосфопротеин, участвующий в развитии, регенерации и пластичности нейронов. Локализованная трансляция Gap43 в аксонах важна для их роста. P.Q. Du и соавт. (2017), используя модели рыбок данио, показали низкий уровень Gap43 как у мутантов HuD, так и у мутантов SMN. Важно отметить, что трансгенная экспрессия HuD в мотонейронах мутантов SMN устраняла дефекты движения и увеличивала уровни мРНК Gap43 [23].

Белок Fragile X (FMRP) – РНК-связывающий белок, который регулирует трансляцию около 1/3 всех белков пост- и пресинаптического протеома. Следовательно, правильное функционирование FMRP важно для развития и поддержания нейронных контактов [24]. О. Vinda и соавт. (2023) обнаружили, что белки SMN и FMRP совместно фракционируют с полисомами РНК-зависимым образом [25].

Взаимодействие белков SMN и mTOR. Мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) представляет собой белок, который относится к классу серин-треониновых протеинкиназ. mTOR является ключевым сигнальным белком, контролирующим скорость трансляции белков. Была установлена взаимосвязь между изменением количества белка SMN и mTOR [6, 26, 27].

По данному наблюдению выделяются 2 теории молекулярного механизма.

F. Gabanella и соавт. (2021) описали взаимосвязь между белками SMN, mTOR и нуклеолином. Нуклеолин – РНК-связывающий белок, который локализуется в ядрышке клеток и выполняет ключевую роль в продукции рибосом. Матричная РНК mTOR – основная мишень нуклеолина. Используя инновационный анализ PlaLock, который позволяет получить изображения колокализации мРНК с выбранным белково-белковым комплексом, исследователи доказали, что пул белков SMN перемещается в ассоциации с комплексом

нуклеолин-мРНК mTOR. А с помощью вестерн-блоттинга и иммуноокрашивания исследователи показали необходимость SMN в комплексе нуклеолин-мРНК mTOR для правильной компартиментализации нуклеолина [26].

М.Д. Купе и соавт. (2014) показали другую взаимосвязь, которая объединяет белки SMN, mTOR с миРНК-183. Исследователи установили повышенную экспрессию миРНК-183 в нейритах при дефиците белка SMN. С помощью измерения активности люциферазы светлячка продемонстрировано, что миРНК-183 негативно регулирует трансляцию гена *MTOR* посредством прямого связывания миРНК-183 с его 3'-нетранслируемой областью. Ингибирование экспрессии миРНК-183 в спинном мозге модели мышей СМА продлевает выживание и улучшает двигательную функцию SMN-мутантных мышей [27].

Прямая и косвенная роль белка SMN в динамике цитоскелета и везикулярного транспорта

Влияние белка SMN на динамику актина. Актиновый цитоскелет необходим для поддержания формы клеток, их движения, передачи сигналов и переноса различных молекул внутри клеток. В нервной системе целостность цитоскелета необходима для правильного функционирования синаптических окончаний, а также для роста аксонов. Полимеризация актиновых структур

вместе с сетью макрофиламентов создает физическую силу для продвижения конуса роста. Следовательно, регуляция актина необходима для правильного функционирования и выживания мотонейронов [6].

Проведенные исследования раскрывают фундаментальную роль динамики актина при СМА. Как было сказано ранее, количество молекул актина находится в прямой зависимости от связи белка SMN с гяРНП. Но существует и другой путь регуляции актина. Так, Т. Giesemann и соавт. (1999) показали взаимодействие белка SMN с профилином через богатый пролином фрагмент [28].

Профилин представляет собой мономерный актин-связывающий белок, присутствующий у млекопитающих в 2 изоформах. Он способствует росту актиновых филаментов (F-актин) за счет эффективного добавления мономеров актина к их колющему концу [29]. На моделях крыс продемонстрирована совместная локализация SMN и профилина II в цитоплазме дифференцирующихся клеток PC12 и в конусах роста нейритоподобных отростков [30]. Это позволило подумать о существовании комплекса SMN-профилин II. Действительно, А. Nölle и соавт. (2011), используя систему взаимодействия белков *in vivo*, основанную на транс-SUMOилировании белков, показали прямое взаимодействие SMN с профилином II [31]. Кроме того, они предположили молекулярный механизм возникающих изменений при СМА (рис. 3). Известно, что профилин II

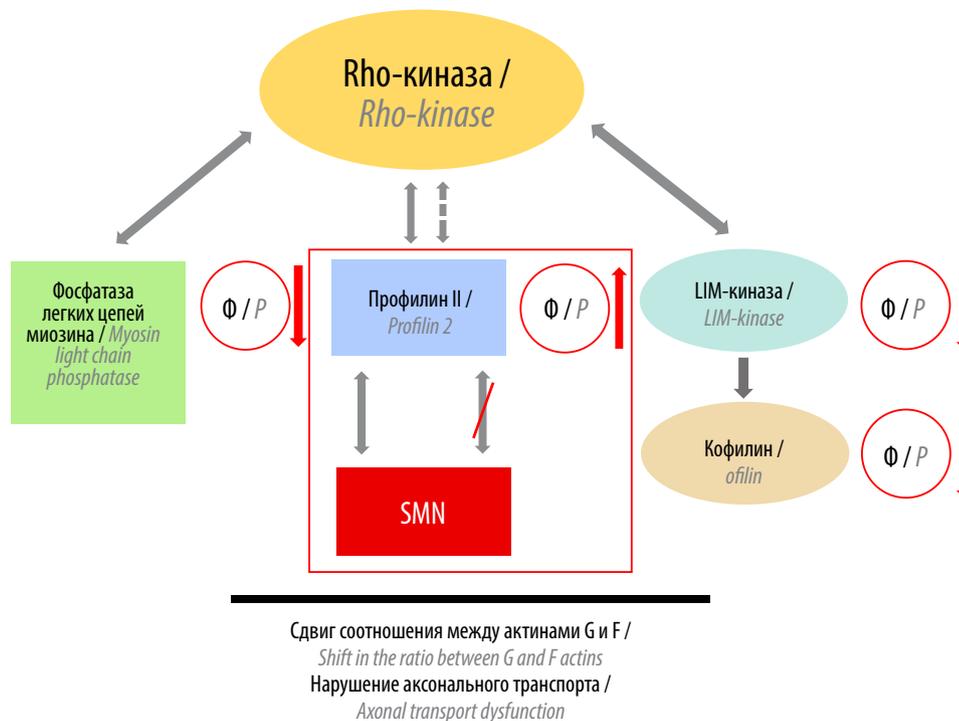


Рис. 3. Предлагаемая модель функционального взаимодействия SMN с Rho-киназой (адаптировано из А. Nölle и соавт., 2011 [31]). Φ – фосфорилирование

Fig. 3. A proposed model of functional interaction of SMN with Rho-kinase (adapted from A. Nölle et al., 2011 [31]). P – phosphorylation

отрицательно регулируется Rho-киназой (ROCK) посредством фосфорилирования. По мнению исследователей, между SMN и ROCK существует конкуренция за связывание с профилином II, что обосновывается 2 аргументами. Во-первых, при дефиците SMN происходит увеличение комплексов ROCK-профилин II. Во-вторых, другие белки, функция которых также определяется активностью Rho-киназы, становятся гипофосфорилированными [31]. Данные исследования указывают на прямую регулируемую роль SMN в функции профилина.

Следует отметить, что не все согласны с данной теорией. M. Antoine и соавт. (2020) предложили механизм опосредованной регуляции. Анализ SMN-дефицитных делящихся дрожжей показал дефект сплайсинга в гене профилина. При этом исследователям не удалось обнаружить признаков непосредственного взаимодействия SMN и профилина [32]. Важно отметить, что делящиеся дрожжи экспрессируют только 1 изоформу профилина, которая может отличаться по своей регуляции от изоформ млекопитающих. Поэтому данная теория не может быть ведущей.

Несмотря на наличие противоречий, все исследователи сходятся на том, что дефицит SMN приводит к дисфункции профилина, которая выражается в изменении соотношения G/F актина и приводит к нарушению роста нейритов.

Влияние белка SMN на динамику макрофиламентов. Микротрубочки (MT) – самые крупные и наиболее динамичные филаменты цитоскелета, состоящие из гетеродимеров α - и β -тубулина. Они участвуют во всех клеточных процессах: делении, дифференцировке, поляризации и миграции, а также обеспечивают внутриклеточный транспорт и позиционирование органелл. В зрелых нейронах стабильные MT обеспечивают структурную целостность клеток, включая аксоны и дендриты. Более того, они являются критическим компонентом аксонального транспортного механизма и участвуют в формировании и функционировании синапсов. Стабильность MT обеспечивается посттрансляционно модифицированными тубулинами и связывающимися белками: статмином (STMN1) и белком, ассоциированным с MT (MAP) [6, 33].

Неоднократно сообщалось о нарушении регуляции микротрубочек на различных моделях СМА [33–38]. В исследовании H.R. Fuller и соавт. (2016) было продемонстрировано снижение количества тубулина в мотонейронах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток у пациентов со СМА I типа [35]. Можно предположить, что SMN влияет на белки, регулирующие сборку и дезинтеграцию MT.

Так, H.L. Wen и соавт. (2010) в исследованиях *in vitro* и *in vivo* показали aberrантную активацию статмина в SMN-дефицитных клетках, которая приводила к снижению уровня полимеризованного тубулина [36]. В дальнейшем H.L. Wen и соавт. (2013) обнаружили, что сни-

жение количества статмина не предотвращало гибель мотонейронов в образцах спинного мозга мышцей со СМА [37]. Также есть исследование, демонстрирующее нормальный уровень статмина у мышцей с промежуточной формой СМА [38]. Поэтому ключевая роль статмина в снижении количества тубулина при СМА не доказана и данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Напротив, ведущую функцию MAP в дестабилизации MT удалось подтвердить. G. Voга и соавт. (2020) обнаружили выраженное снижение детирозированного α -тубулина в SMN-дефицитных клетках (детирозирование используется в качестве маркера стабильности), что помогло в дальнейшем описать молекулярный механизм дестабилизации MT при снижении концентрации MAP. Исследователи пришли к выводу, что SMN приводит к повышению общего уровня MAP1B, это увеличивает активность его мишени – белка TTL (обеспечивает ретирозирование тубулина). Гиперактивность TTL снижает детирозирование α -тубулина. В результате MT становятся более динамичными и менее стабильными [33].

Дефекты везикулярного транспорта, влияющие на фенотип СМА. Мотонейроны нуждаются в надлежащей системе транспорта для переноса молекул РНК или белков в компартменты аксонов и конусов роста [6]. Среди партнеров по связыванию SMN особый интерес представляют коаномерная субъединица альфа (КОПА) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) [6].

Коаномерная субъединица альфа – субъединица гептамерного комплекса КОПИ. Составляющие комплекса покрывают везикулы и участвуют в ретроградном транспорте белков из аппарата Гольджи в эндоплазматический ретикулум. На образцах культивируемых нейронов было показано, что КОПА взаимодействует с SMN и транспортирует его в конус роста аксона [39]. Также было продемонстрировано отсутствие SMN в конусе роста при дефиците КОПА [40]. В эксперименте S.K. Custer и соавт. (2019) с трансгенной экспрессией коаомера наблюдались увеличение медианы выживаемости мышцей с 11 до 18 дней и снижение степени тяжести фенотипа СМА. Однако такой результат не был связан с увеличением количества SMN. По мнению авторов, это объясняется необходимостью КОПА в перераспределении низких уровней доступного белка SMN [41].

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа является белком «домашнего хозяйства» и участвует в гликолитическом пути, апоптозе, передаче сигналов и везикулярном транспорте [6]. ГАФДГ как важный источник энергии прикрепляется к везикулам и обеспечивает клетки АТФ для быстрого аксонального транспорта [6]. Более того, ГАФДГ взаимодействует с несколькими кальциевыми каналами и необходима для регуляции передачи сигналов кальция в клетках [6]. Снижение количества ГАФДГ при СМА было показано в протомных исследованиях [42]. Это позволяет предполо-

жить, что снижение концентрации ГАФДГ при СМА может изменить процесс везикулярного транспорта и секреции. Но данное утверждение является спорным из-за малого количества исследований.

Взаимосвязь SMN с ферментами убиквитин-протеасомного пути

Для поддержания гомеостаза всех клеток и тканей необходима правильная деградация белка.

Гидролиз белков регулируется с помощью убиквитин-протеасомной системы (УПС). УПС идентифицирует и маркирует белки для протеолиза путем ковалентного связывания убиквитина с 1 или несколькими остатками лизина. Эта реакция опосредована ферментативным каскадом E1–E2–E3** [43]. Известно, что белок SMN взаимодействует с УПС для регуляции собственной стабильности [44].

Однако существуют мнения о непосредственной роли SMN в гомеостазе самого убиквитина. Так, в последние годы исследователи обнаружили изменение количества убиквитин-активирующего фермента E1 (UBA1) при формировании нейродегенеративного процесса [45–47].

R.A. Powis и соавт. (2016) с помощью вестерн-блот-анализа продемонстрировали снижение уровня белка UBA1 в двигательных нейронах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов со СМА I типа, примерно на 40 % [45]. Также исследователи показали увеличение двигательной активности и выживаемости мышей со СМА (тайваньской линии) с помощью инъекции AAV9-UBA1 [45].

Используя метод иммуноблоттинга, T.M. Wishart и соавт. (2014) продемонстрировали возможное физическое взаимодействие UBA1 и SMN в цитоплазме нейронов *in vivo* [46].

В 2018 г. впервые была предложена концепция нейродегенеративного процесса при участии UBA1. H.K. Shorrock и соавт. (2018) с помощью иммуногистохимического мечения везикулярных переносчиков глутамата 1 (транспортёры нейротрансмиттеров) заметили увеличение проприоцептивных входов на нижние двигательные нейроны после инъекции AAV9-UBA1 мышам со СМА (тайваньской линии). В результате была определена функция фермента как основного регулятора сенсорно-моторной связи при СМА. Чтобы идентифицировать нижележащие мишени UBA1, исследователи провели безмаркерную протеомику на клетках HEK293. Оказалось, что UBA1 регулирует экспрессию аминоксил-тРНК-синтазы, а именно белок GARS. Основываясь на данных анализа белково-специфического убиквитинирования, H.K. Shorrock и соавт. (2020) предположили, что регуляция экспрессии белка GARS не зависит от убиквитинирования с помощью UBA1, а осуществляется пока неизвестным неканоническим для фермента способом [47]. Известно, что aberrации

в гене *GARS* связаны с дистальной СМА V типа и болезнью Шарко–Мари–Тута 2D типа [48]. Эти данные поддерживают предложенную теорию механизма действия UBA1 посредством регуляции экспрессии белка GARS. Но до сих пор неизвестно, каким образом происходит снижение количества фермента UBA1 и действительно ли на данный процесс влияет дефицит белка SMN.

Таким образом, возможно влияние SMN на изменение глубокой чувствительности через нарушение гомеостаза убиквитина.

Заключение

В данной обзорной статье мы продемонстрировали множество функций, которые выполняет белок SMN в нейроне, его воздействие на различные области внутриклеточного гомеостаза: участие в биогенезе рибонуклеопротеидов, молекулярной сборке и организации ТК и трансляции белков, регуляции динамики цитоскелета, везикулярного транспорта и убиквитин-протеасомного пути. В результате мы показали взаимодействие SMN с другими белковыми структурами и те изменения, которые возникают вследствие дефицита SMN при СМА 5q. Так, дефицит SMN приводит к aberrантному биогенезу мЯРНП, вследствие чего нарушается экспрессия белка Stasimon, защищающего мотонейроны от дегенерации.

Функция SMN в поддержании биогенеза мЯРНП и ЧРС важна для всех типов клеток и определяет поражение многих органов и тканей и высокую летальность при тяжелых типах СМА. Особого внимания заслуживают взаимосвязь SMN с GARI и фибриллинном для биогенеза мЯРНП и взаимосвязь SMN с 7SL РНК для биогенеза ЧРС.

SMN способствует локализованной трансляции белков, необходимых для правильного роста и созревания двигательных нейронов. Такая функция реализуется при взаимодействии SMN с РНК-связывающими белками гЯРНП, HuD и его мишени Gap43 и FMRP, а также с комплексами mTOR–нуклеолин и mTOR–миРНК-183.

Неоспорима важность участия SMN в сборке актиновых филаментов, МТ и везикулярном транспорте. Для осуществления этих функций SMN взаимодействует с профилином II, MAP, КОПА и ГАФДГ.

Роль SMN в гомеостазе убиквитина раскрывает основу нарушений пути глубокой чувствительности при СМА. Для компенсации дефекта проприоцепции необходимо обратить внимание на взаимосвязи в триаде SMN–UBA1–GARS.

Возможно, пути для поиска новых методов терапии СМА 5q будут связаны с разработкой способов дополнительного поддержания уровня перечисленных белков. Однако молекулярные механизмы всех взаимодействий изучены недостаточно подробно и требуют проведения дальнейших исследований.

**E1 – убиквитин-активирующий фермент, E2 – убиквитин-присоединяющий фермент, E3 – убиквитин-связывающий фермент.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Mercuri E., Sumner C., Muntoni F. et al. Spinal muscular atrophy. *Nat Rev Dis Primers* 2022;8(1):52. DOI: 10.1038/s41572-022-00380-8
- López-Cortés A., Echeverría-Garcés G., Ramos-Medina M. Molecular pathogenesis and new therapeutic dimensions for spinal muscular atrophy. *Biology* 2022;11(6):894. DOI: 10.3390/biology11060894
- 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
- Farrar M., Kiernan M. The genetics of spinal muscular atrophy: progress and challenges. *Neurotherapeutics* 2015;12(2):290–302. DOI: 10.1007/s13311-014-0314-x
- Fallini C., Bassel, G., Rossoll W. Spinal muscular atrophy: The role of SMN in axonal mRNA regulation. *Brain Res* 2012;1462:81–92.
- Hosseiniarkooie S., Schneider S., Wirth B. Advances in understanding the role of disease-associated proteins in spinal muscular atrophy. *Expert Rev Proteomics* 2017;14(7):581–92. DOI: 10.1080/14789450.2017.1345631
- Lefebvre S., Sarret C. Pathogenesis and therapeutic targets in spinal muscular atrophy (SMA). *Arch Pédiatrie* 2020; 27(7):7S3–8. DOI: 10.1016/S0929-693X(20)30269-4
- Chaytow H., Huang Y., Gillingwater T., Faller K. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci* 2018;75:3877–94.
- Singh R., Howell M., Ottesen E., Singh N. Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 2017;1860(3):299–315. DOI: 10.1016/j.bbgrm.2016.12.008
- Coady T., Lorson C. SMN in spinal muscular atrophy and snRNP biogenesis. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2011;2(4):546–64. DOI: 10.1002/wrna.76
- Doktor T., Hua Y., Andersen H. et al. RNA-sequencing of a mouse-model of spinal muscular atrophy reveals tissue-wide changes in splicing of U12-dependent introns. *Nucleic Acids Res* 2017;45(1): 395–416. DOI: 10.1093/nar/gkw731
- Lotti F., Imlach W., Saieva L. et al. An SMN-dependent U12 splicing event essential for motor circuit function. *Cell* 2012;151(2):440–54. DOI: 10.1016/j.cell.2012.09.012
- Van Alstyne M., Lotti F., Dal Mas A. et al. Stasimon/Tmem41b localizes to mitochondria-associated ER membranes and is essential for mouse embryonic development. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;506(3):463–70. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.10.073
- Simon C., Van Alstyne M., Lotti F. et al. Stasimon contributes to the loss of sensory synapses and motor neuron death in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Cell* 2019;29(12):3885–901. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.11.058
- Назипова Н.Н. Разнообразие некодирующих РНК в геномах эукариот. *Математическая биология и биоинформатика* 2021;16(2):256–98. DOI: 10.17537/2021.16.256
- Nazipova N.N. Diversity of non-coding RNAs in eukaryotic genomes. *Matematicheskaya biologiya i bioinformatika = Mathematical Biology and Bioinformatics* 2021;16(2):256–98. (In Russ.). DOI: 10.17537/2021.16.256
- Pellizzoni L., Baccon J., Charroux B., Dreyfuss G. The survival of motor neurons (SMN) protein interacts with the snoRNP proteins fibrillarin and GAR1. *Curr Biol* 2001;11(14):1079–88. DOI: 10.1016/S0960-9822(01)00316-5
- Piazzon N., Schlotter F., Lefebvre S. et al. Implication of the SMN complex in the biogenesis and steady state level of the signal recognition particle. *Nucleic Acids Res* 2013;41(2):1255–72. DOI: 10.1093/nar/gks1224
- Morris G. The Cajal body. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2008;1783(11):2108–15. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.016
- Ходюченко Т.А., Красикова А.В. Тельца Кахала и тельца гистонового локуса: молекулярный состав и функции. *Онтогенез* 2014;45(6):363–79. DOI: 10.7868/S0475145014060068
- Khodyuchenko T.A., Krasikova A.V. Cajal bodies and histone locus bodies: molecular composition and functions. *Ontogenез = Ontogenesis* 2014;45(6):363–79. (In Russ.). DOI: 10.7868/S0475145014060068
- Hebert M., Szymczyk P., Shpargel K., Matera A. Coilin forms the bridge between Cajal bodies and SMN, the spinal muscular atrophy protein. *Genes Develop* 2001;15(20):2720–9. DOI: 10.1101/gad.908401
- Tapia O., Bengoechea R., Palanca A. et al. Reorganization of Cajal bodies and nucleolar targeting of coilin in motor neurons of type I spinal muscular atrophy. *Histochem Cell Biol* 2012;137:657–67. DOI: 10.1007/s00418-012-0921-8
- Rossoll W., Jablonka S., Andreassi C. et al. Smn, the spinal muscular atrophy-determining gene product, modulates axon growth and localization of β -actin mRNA in growth cones of motoneurons. *Cell Biol* 2003;163(4):801–12. DOI: 10.1083/jcb.200304128
- Duy P.Q., An M., Talbot J. et al. HuD and the survival motor neuron protein interact in motoneurons and are essential for motoneuron development, function, and mRNA regulation. *Neuroscience* 2017;37(48):11559–71. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1528-17.2017
- Переверзева Д.С., Тюшкевич С.А., Горбачевская Н.Л. и др. Гетерогенность клинической картины при синдромах, ассоциированных с динамическими мутациями гена *FMRI*. *Журнал неврологии и психиатрии* 2019;119(7):70–8. DOI: 10.17116/jnevro2019119071103
- Pereverzeva D.S., Tyushkevich S.A., Gorbachevskaya N.L. et al. Heterogeneity of the clinical picture in syndromes associated with dynamic mutations of the *FMRI* gene. *Zhurnal neurologii i psikiatrii = Journal of Neurology and Psychiatry* 2019;119(7):70–8. (In Russ.). DOI: 10.17116/jnevro2019119071103
- Binda O., Juillard F., Ducassou J.N. et al. SMA-linked SMN mutants prevent phase separation properties and SMN interactions with FMRP family members. *Life Sci Alliance* 2022;6(1):e202201429. DOI: 10.26508/lsa.202201429
- Gabanello F., Barbato C., Fiore M. et al. Fine-tuning of mTOR mRNA and nucleolin complexes by SMN. *Cells* 2021;10(11):3015. DOI: 10.1093/hmg/11.9.1017
- Kye M.J., Niederst E.D., Wertz M.H. et al. SMN regulates axonal local translation via miR-183/mTOR pathway. *Hum Mol Genet* 2014;23(23):6318–31. DOI: 10.1093/hmg/ddu350
- Giesemann T., Rathke-Hartlieb S., Rothkegel M. et al. A role for polyproline motifs in the spinal muscular atrophy protein SMN: Profilins bind to and colocalize with SMN in nuclear gems. *J Biol Chem* 1999;274(53):37908–14. DOI: 10.1074/jbc.274.53.37908
- Carlier M.F., Shekhar S. Global treadmilling coordinates actin turnover and controls the size of actin networks. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18(6):389–401. DOI: 10.1038/nrm.2016.172
- Sharma A., Lambrechts A., Hao Le T. et al. A role for complexes of survival of motor neurons (SMN) protein with gemins and profilin in neurite-like cytoplasmic extensions of cultured nerve cells. *Exp Cell Res* 2005;309(1):185–97. DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.05.014
- Nölle A., Zeug A., van Bergeijk J. et al. The spinal muscular atrophy disease protein SMN is linked to the Rho-kinase pathway via profilin. *Hum Mol Genet* 2011;20(24):4865–78. DOI: 10.1093/hmg/ddr425
- Antoine M., Patrick K.L., Soret J. et al. Splicing defects of the profilin gene alter actin dynamics in an *S. pombe* SMN mutant. *Iscience* 2020;23(1):100809. DOI: 10.3389/fncel.2015.00506
- Bora G., Hensel N., Rademacher S. et al. Microtubule-associated protein 1B dysregulates microtubule dynamics and neuronal mitochondrial transport in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2020;29(24):3935–44. DOI: 10.1093/hmg/ddaa275

34. Torres-Benito L., Neher M.F., Cano R. et al. SMN requirement for synaptic vesicle, active zone and microtubule postnatal organization in motor nerve terminals. *PLoS One* 2011;6(10):e26164. DOI: 10.1371/journal.pone.0026164
35. Fuller H.R., Mandefro B., Shirran S.L. et al. Spinal muscular atrophy patient iPSC-derived motor neurons have reduced expression of proteins important in neuronal development. *Front Cell Neurosci* 2016;9:506. DOI: 10.3389/fncel.2015.00506
36. Wen H.L., Lin Y.T., Ting C.H. et al. Stathmin, a microtubule-destabilizing protein, is dysregulated in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2010;19(9):1766–78. DOI: 10.1093/hmg/ddq058
37. Wen H.L., Ting C.H., Liu H.C. et al. Decreased stathmin expression ameliorates neuromuscular defects but fails to prolong survival in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Neurobiol Dis* 2013;52:94–103. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.11.015
38. Villalón E., Kline R.A., Smith C.E. et al. AAV9-Stathmin1 gene delivery improves disease phenotype in an intermediate mouse model of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2019;28(22):3742–54. DOI: 10.1093/hmg/ddz188
39. Donlin-Asp P.G., Bassell G.J., Rossoll W. A role for the survival of motor neuron protein in mRNP assembly and transport. *Curr Opin Neurobiol* 2016;39:53–61. DOI: 10.1016/j.conb.2016.04.004
40. Custer S.K., Foster J.N., Astroski J.W., Androphy E.J. Abnormal Golgi morphology and decreased COPI function in cells with low levels of SMN. *Brain Res* 2019;1706:135–46. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.11.005
41. Custer S.K., Astroski J.W., Li H.X., Androphy E.J. Interaction between alpha-COP and SMN ameliorates disease phenotype in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Biochem Biophys Res Commun* 2019;514(2):530–37. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.04.176
42. Fuller H.R., Gillingwater T.H., Wishart T.M. Commonality amid diversity: Multi-study proteomic identification of conserved disease mechanisms in spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 2016;26(9):560–9. DOI: 10.1016/j.nmd.2016.06.004
43. Groen E.J., Gillingwater T.H. UBA1: at the crossroads of ubiquitin homeostasis and neurodegeneration. *Trends Mol Med* 2015;21(10):622–32. DOI: 10.1016/j.molmed.2015.08.003
44. Chang H.C., Hung W.C., Chuang Y.J., Jong Y.J. Degradation of survival motor neuron (SMN) protein is mediated via the ubiquitin/proteasome pathway. *Neurochem Int* 2004;45(7):1107–12. DOI: 10.1016/j.neuint.2004.04.005
45. Powis R.A., Karyka E., Boyd P. et al. Systemic restoration of UBA1 ameliorates disease in spinal muscular atrophy. *JCI Insight* 2016;1(11):e87908. DOI: 10.1172/jci.insight.87908
46. Wishart T.M., Mutsaers C.A., Riessland M. et al. Dysregulation of ubiquitin homeostasis and β -catenin signaling promote spinal muscular atrophy. *J Clin Invest* 2014;124(4):1821–34. DOI: 10.1172/JCI1318
47. Shorrock H.K., van der Hoorn D., Boyd P.J. et al. UBA1/GARS-dependent pathways drive sensory-motor connectivity defects in spinal muscular atrophy. *Brain* 2018;141(10):2878–94. DOI: 10.1093/brain/awy237
48. Markovitz R., Ghosh R., Kuo M.E. et al. GARS-related disease in infantile spinal muscular atrophy: Implications for diagnosis and treatment. *Am J Med Genet A* 2020;182(5):1167–76. DOI: 10.1002/ajmg.a.61544

Вклад авторов

А.И. Власенко: обзор публикаций по теме статьи, написание статьи, подготовка иллюстраций;
 В.Д. Назаров: разработка концепции и дизайна статьи, редактирование статьи;
 С.В. Лапин, А.В. Мазинг, Е.А. Суркова, Т.В. Блинова, М.П. Топузова, Т.М. Алексеева: редактирование статьи.

Authors' contributions

A.I. Vlasenko: review of publications on the topic of the article, writing the article, preparing illustrations;
 V.D. Nazarov: development of the concept and design of the article, editing the article;
 S.V. Lapin, A.V. Mazing, E.A. Surkova, T.V. Blinova, M.P. Topuzova, T.M. Alekseeva: editing the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.И. Власенко / A.I. Vlasenko: <https://orcid.org/0000-0003-3727-8017>
 В.Д. Назаров / V.D. Nazarov: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>
 С.В. Лапин / S.V. Lapin: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>
 А.В. Мазинг / A.V. Mazing: <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>
 Е.А. Суркова / E.A. Surkova: <https://orcid.org/0000-0001-8503-0759>
 Т.В. Блинова / T.V. Blinova: <https://orcid.org/0000-0003-4896-3319>
 М.П. Топузова / M.P. Topuzova: <https://orcid.org/0000-0002-0175-3085>
 Т.М. Алексеева / T.M. Alekseeva: <https://orcid.org/0000-0002-4441-1165>

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.

Статья поступила: 27.06.2024. **Принята к публикации:** 25.07.2024. **Опубликована онлайн:** 23.09.2024.
Article submitted: 27.06.2024. **Accepted for publication:** 25.07.2024. **Published online:** 23.09.2024.