

ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ У ВЗРОСЛЫХ

З.М. Мурузева^{1,2,3}, М.Т. Абсальямова¹, Д.С. Трактиров¹, М.Н. Карпенко¹

¹ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

² Ленинградская областная клиническая больница, Ленинградская область, Россия

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В статье систематизированы данные о прогностической значимости различных биомаркеров при определении эффективности патогенетической терапии у пациентов со спинальной мышечной атрофией. Приведено клиническое наблюдение, иллюстрирующее, что на фоне применения патогенетической терапии нусинерсеном снижение уровня тяжелых цепей нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости у пациента со спинальной мышечной атрофией 3 типа коррелировало с улучшением двигательной функции, оцененной по стандартным функциональным шкалам.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия, биомаркеры, нусинерсен

Для цитирования: Мурузева З.М., Абсальямова М.Т., Трактиров Д.С., Карпенко М.Н.

Потенциальные биомаркеры эффективности патогенетической терапии спинальной мышечной атрофии у взрослых. *Российский неврологический журнал*. 2024;29(4):27–35. DOI 10.30629/2658-7947-2024-29-4-27-35

Для корреспонденции: Мурузева З.М., e-mail: zamira.muruzheva@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена по государственному заданию ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» № FGWG-2024-0015.

Информация об авторах

Мурузева З.М., <https://orcid.org/0000-0003-2789-8431>; e-mail: zamira.muruzheva@mail.ru

Абсальямова М.Т., <https://orcid.org/0000-0002-1326-7383>; e-mail: absalyamova.mt@edu.spbstu.ru

Трактиров Д.С., <https://orcid.org/0000-0003-0424-6545>; e-mail: ds.traktirov@gmail.com

Карпенко М.Н., <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>; e-mail: mnkarpenko@mail.ru

POTENTIAL BIOMARKERS OF THE EFFECTIVENESS OF PATHOGENETIC THERAPY OF SPINAL MUSCULAR ATROPHY IN ADULTS

Z.M. Muruzheva^{1,2,3}, M.T. Absalyamova¹, D.S. Traktirov¹, M.N. Karpenko¹

¹Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

²Leningrad Regional Clinical Hospital, Saint-Petersburg, Russia

³North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

The review summarizes and systematizes data on the prognostic significance of various biomarkers in determining the effectiveness of pathogenetic therapy for spinal muscular atrophy. The review includes a clinical case of a patient with type 3 spinal muscular atrophy. The case illustrates that a decrease in the level of heavy chains of neurofilaments in the cerebrospinal fluid of the patient during the use of pathogenetic therapy with nusinersen positively correlated with an improvement in motor function, assessed by standard functional scales.

Key words: spinal muscular atrophy, biomarkers, nusinersen

For citation: Muruzheva Z.M., Absalyamova M.T., Traktirov D.S., Karpenko M.N. Potential biomarkers of the effectiveness of pathogenetic therapy of spinal muscular atrophy in adults. *Russian Neurological Journal (Rossijskij Nevrologicheskij Zhurnal)*. 2024;29(4):27–35. (In Russian). DOI 10.30629/2658-7947-2024-29-4-27-35

For correspondence: Muruzheva Z.M., e-mail: zamira.muruzheva@mail.ru

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

Acknowledgements. The work was carried out according to the state order of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine" no. FGWG-2024-0015.

Information about authors

Muruzheva Z.M., <https://orcid.org/0000-0003-2789-8431>; e-mail: zamira.muruzheva@mail.ru

Absalyamova M.T., <https://orcid.org/0000-0002-1326-7383>; e-mail: absalyamova.mt@edu.spbstu.ru

Traktirov D.S., <https://orcid.org/0000-0003-0424-6545>; e-mail: ds.traktirov@gmail.com

Karpenko M.N., <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>; e-mail: mnkarpenko@mail.ru

Сокращения: АТФ — аденозинтрифосфорная кислота; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; ДЕ — двигательная единица; ДТВ — диффузно-тензорная визуализация; ИЛ — интерлейкин; ИНФ — интерферон; КК — креатинкиназа; ЛНФ — легкая цепь нейрофиламента; мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота; МРТ — магнитно-резонансная томография; мяРНП — малые ядерные рибонуклеопротеины; НФ — нейрофиламенты; СМА — спинальная мышечная атрофия; СНФ — средняя цепь нейрофиламента; СПДМ — суммарный потенциал действия мышц; ТНФ — тяжелая цепь нейрофиламента; ФНО — фактор некроза опухоли; ЦНС — центральная нервная система; ЦСЖ — цереброспинальная жидкость; 6MWT — 6 Minute Walk Test/тест 6-минутной ходьбы; CHOP-INTEND — Children's Hospital Of Philadelphia Infant Test Of Neuromuscular Disorders/ Тест детской больницы Филадельфии для оценки двигательных функций при нейромышечных заболеваниях у новорожденных; СМАР — Compound Muscle Action Potential/ суммарный потенциал действия мышцы; HFMSE — Hammersmith Functional Motor Scale — Expanded/ Расширенная шкала оценки двигательных функций больницы Хаммерсмит; MUNE — Motor Unit Number Estimation/ приблизительное определение числа двигательных единиц; RULM — Revised Upper Limb Module/ пересмотренный «Модуль для оценки двигательной функции верхних конечностей»; SMN — Survival Motor Neuron.

Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (СМА) — аутомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, обусловленное мутацией в гене *SMN1* (Survival Motor Neuron — ген выживаемости мотонейрона), характеризующееся прогрессирующими симптомами вялого паралича вследствие дегенерации α -мотонейронов передних рогов спинного мозга, реже двигательных ядер ствола головного мозга [1]. В зависимости от возраста манифестации симптомов и темпа прогрессирования СМА подразделяют на несколько клинических типов: наиболее тяжелые формы — СМА 0 и 1 типа, развивающиеся внутриутробно и на ранних сроках постнатального развития (до 6 месяцев), промежуточная — СМА 2 типа (возраст дебюта 7–18 мес.), СМА 3 типа, юношеская форма, развивающаяся в возрастном диапазоне от 18 мес. до 20 лет и, наиболее легкая форма, СМА 4 типа с дебютом на 3–4-м десятилетиях жизни [2].

В настоящее время одобрено три препарата для терапии СМА, из них два — нусинерсен и рисдиплам — были рекомендованы для применения у взрослых пациентов. Нусинерсен — антисмысловый олигонуклеотид, действие которого направлено на модулирование сплайсинга предшественника матричной рибонуклеиновой кислоты (пре-мРНК) гена *SMN2*, что способствует включению экзона 7 в транскрипт мРНК и повышению продукции полно-размерного белка SMN. Препарат вводится интратекально, с периодичностью 1 раз в 4 месяца, одобрен

к применению у детей и взрослых независимо от возраста, типа или стадии заболевания. Рисдиплам — пероральный препарат для ежедневного приема также является модификатором сплайсинга пре-мРНК гена *SMN2*, применяется для терапии СМА у взрослых и детей старше 2 мес.

С появлением патогенетической терапии возникла острая необходимость в определении биологических маркеров, позволяющих оценить эффективность лечения, особенно у взрослых пациентов. Функциональные шкалы, такие как пересмотренный «Модуль для оценки двигательной функции верхних конечностей» (Revised Upper Limb Module (RULM)) [3], «Расширенная шкала оценки двигательных функций больницы Хаммерсмит» (Hammersmith Functional Motor Scale — Expanded (HFMSE)) [4] и тест 6-минутной ходьбы (6 Minute Walk Test 6MWT)) [5], которые обычно используются для оценки двигательных функций, не всегда эффективны для мониторинга лечения у взрослых пациентов, в связи с наличием у них ортопедических осложнений (сколиоз, контрактуры суставов), которые ограничивают точность тестов. *Цель работы* — систематизировать имеющиеся на сегодняшний день данные о потенциальных биомаркерах, которые могут быть использованы для оценки эффективности патогенетической терапии у взрослых пациентов со СМА.

Белок SMN. Белок SMN человека состоит из 294 аминокислот и синтезируется во всех типах клеток. SMN выполняет несколько функций — является частью большого молекулярного комплекса, участвующего в сборке малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП) и сплайсинге мРНК, а также участвует в аксональном транспорте и росте аксонов [6,7]. Точная функция SMN в мотонейронах и избирательная уязвимость нижних мотонейронов к дефициту SMN еще полностью не изучены. Содержание белка SMN отражает степень экспрессии гена *SMN2*, в связи с чем этот показатель рассматривался как наиболее перспективный для мониторинга лечения пациентов со СМА модификаторами сплайсинга гена *SMN2*. Было показано, что уровень белка SMN в крови у пациентов со СМА ниже, чем в контрольной группе [8]. Кроме того, выявлена положительная корреляция уровня белка SMN в крови с возрастом и тяжестью денервации мышц у пациентов со СМА. Пациенты со СМА, у которых были более низкие значения суммарного потенциала действия мышц (СПДМ), имели более низкий уровень циркулирующего в крови SMN [9]. При этом терапия нусинерсеном не влияла на содержание белка SMN в крови, что обусловлено введением препарата непосредственно в центральную нервную систему (ЦНС) и ограниченной проницаемостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). При применении рисдиплама было показано увеличение уровня функционального белка SMN в крови у людей [10], а в животных моделях СМА рисдиплам увеличивал уровень SMN не только в периферической крови, но и в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) [11]. Однако, несмотря на то что уровень белка SMN может дать некоторое

представление о текущем состоянии заболевания он не меняется с течением времени, что делает его плохим «кандидатом» для мониторинга прогрессирования заболевания и ответа на терапию. Кроме того, SMN, измеренный в крови, не обязательно отражает уровень белка в ЦНС, особенно при терапии нусинерсеном.

Белки нейрофиламентов. Белки нейрофиламентов (НФ) представляют собой нейрон-специфические компоненты цитоскелета, принадлежащие к семейству промежуточных филаментов IV типа. Они собраны в гетерополимерную структуру, состоящую из трех субъединиц различной молекулярной массы: легкой цепи нейрофиламента (ЛНФ, 68 кДа), средней цепи нейрофиламента (СНФ, 150 кДа) и тяжелой цепи нейрофиламента (ТНФ, 200 кДа) [12]. Белки ТНФ обладают уникальными свойствами — в аксональных НФ сериновые остатки ТНФ, содержащиеся в повторах лизин-серин-пролин, фосфорилированы, что придает белку устойчивость к действию протеаз после выхода из поврежденных аксонов [13]. При аксональном повреждении НФ высвобождаются и могут быть обнаружены в крови и в ЦСЖ, отражая выраженность гибели нейронов. Проведенные исследования демонстрируют высокую клиническую значимость ТНФ при боковом амиотрофическом склерозе [14–16] и других нейродегенеративных заболеваниях [17, 18]. За последние несколько лет возросло число исследований, изучающих прогностический потенциал белков НФ при СМА, особенно у пациентов, получающих терапию препаратом нусинерсен. Было показано, что у младенцев со СМА 1 типа уровни ТНФ и ЛНФ в плазме крови и ЦСЖ были повышены до лечения при сравнении с контрольной группой того же возраста и значительно снижались во время лечения нусинерсеном [19,20]. Однако по результатам исследований по изучению уровней НФ в ЦСЖ у взрослых пациентов получены противоречивые данные. Так, в работе С. Д. Wurster и соавт. проводилась оценка содержания ЛНФ и ТНФ в ЦСЖ у 25 подростков и взрослых (медианный возраст — 34 года) со СМА 2 типа ($n = 9$) и 3 типа ($n = 16$), получающих лечение нусинерсеном. Уровни НФ измерялись до начала терапии и после четвертой инъекции, полученные результаты сопоставлялись с показателями контрольной группы, сопоставимой по возрасту и полу. По результатам исследования, не было выявлено значимой разницы по содержанию НФ в ЦСЖ у пациентов СМА и контрольной группой ни на исходном уровне, ни после четырех инъекций нусинерсена [21]. Аналогичные результаты были получены и в другой работе, где исследовались уровни НФ в сыворотке крови и ЦСЖ взрослых пациентов со СМА ($n = 33$) до терапии и на фоне лечения нусинерсеном [22]. Несколько иные данные были получены в исследовании I. Faravelli и соавт., в котором изучались уровни ЛНФ и ТНФ в СМЖ 12 пациентов со СМА 3 типа (средний возраст — 28,5 лет), получавших терапию нусинерсеном. Исходные уровни ЛНФ и ТНФ в ЦСЖ были сопоставимы с контрольной группой, однако через 6 мес.

после начала терапии уровни как ЛНФ, так и ТНФ значительно снизились при сравнении с исходными данными, в то время как двигательная функция, оцененная по шкалам HFMSE и 6MWT, улучшилась незначительно [23]. Противоречивость данных вероятнее всего обусловлена коротким периодом наблюдения. В подтверждение этого предположения свидетельствуют данные, полученные в недавно опубликованной работе, посвященной изучению биохимических и клинических биомаркеров у взрослых пациентов со СМА 3 и 4 типа, получавших нусинерсен в течение 22 мес. Было показано, что концентрация ТНФ в ЦСЖ значительно снизилась во время лечения нусинерсеном, тогда как концентрация ТНФ в сыворотке не изменилась по сравнению с исходным уровнем [24].

Таким образом, белки НФ отражают ранние биохимические эффекты нусинерсена, которые предшествуют изменениям клинических показателей, и могут рассматриваться в качестве потенциального биомаркера СМА.

Сывороточная креатинкиназа и креатинин. Креатинкиназа (КК) — фермент, катализирующий образование из креатина и АТФ высокоэнергетического соединения креатинфосфата, который действует как быстро мобилизуемый запас энергии, прежде всего, в скелетных мышцах. При СМА наблюдается повышение активности КК в крови, особенно у пациентов с более легкими типами заболевания, вероятно, из-за большей сохранности мышечной массы, в связи с чем активность КК может рассматриваться как маркер тяжести заболевания [25]. Креатинин — конечный продукт реакции, катализируемой креатин-фосфатазой, который образуется в мышцах и затем выделяется в кровь. Пациенты со СМА имеют более низкие концентрации сывороточного креатинина по сравнению со здоровыми людьми того же возраста. В недавнем исследовании, в которое были включены данные 238 пациентов со СМА выявлена отрицательная корреляционная зависимость между типом СМА и уровнем сывороточного креатинина. Самый высокий уровень креатинина наблюдался у пациентов со СМА 3 типа — в 2,2 раза выше при сравнении со СМА 1 типа (доверительный интервал 1,52–1,82; $p < 0,0001$) и 1,7 раза выше, чем у пациентов со СМА 2 типа (доверительный интервал 1,93–2,49; $p < 0,0001$). Значимые ассоциации сохранялись даже после поправок на возраст и безжировую массу, свидетельствующие в пользу того, что причина снижения креатинина связана не только с атрофией мышц, а является маркером степени денервации при прогрессировании СМА [26]. При анализе сывороточной КК и креатина у 266 взрослых пациентов (средний возраст 36,2 года) со СМА 2 типа ($n = 70$) и СМА 3 типа ($n = 136$) ранее не получавших лечение, оба показателя положительно коррелировали с двигательной функцией, оцененной по шкалам оценки двигательных функций (HFMSE, RUML) и степени тяжести заболевания. Более высокий уровень КК наблюдался у амбулаторных пациентов со СМА 3 типа и у пациентов с 4 копиями

гена *SMN2*. Неамбулаторные пациенты имели более низкий уровень креатинина по сравнению с амбулаторными пациентами. У пациентов, получавших нусинерсен в течение 18 мес., наблюдалось улучшение двигательной функции, оцененной по шкале HFMSE, в сочетании со снижением активности КК и небольшим повышением уровня креатинина. Наиболее значимое снижение активности КК было выявлено у пациентов со СМА 3 типа и амбулаторных пациентов [27]. Таким образом, содержание сывороточного креатинина и активность КК отражают тяжесть течения СМА и являются многообещающими биомаркерами для мониторинга эффективности лечения. Снижение активности КК в сочетании с тенденцией к увеличению концентрации сывороточного креатинина во время лечения нусинерсеном свидетельствует о снижении интенсивности потери мышечной массы и улучшении метаболизма мышц.

Хитотриоксидаза, хитиназо-3-подобный белок 1, цитокины. Хитотриоксидаза представляет собой эндохитиназу человека, которая экспрессируется полиморфноядерными нейтрофилами и активированными макрофагами и, как предполагается, участвует в реакциях врожденного иммунитета [28]. Было показано, что уровни хитотриоксидазы повышены в сыворотке и ЦСЖ при различных заболеваниях, включая болезнь Гоше, идиопатический легочный фиброз, саркоидоз и нейродегенеративные/воспалительные заболевания — болезнь Альцгеймера, лобно-височная деменция, рассеянный склероз и боковой амиотрофический склероз [29–32]. Недавно было вынесено предположение, что при СМА активация микроглии, вызванная дефицитом белка SMN, вносит вклад в фенотип СМА и даже предшествует потере двигательных нейронов, что послужило толчком к проведению ряда исследований, посвященных выявлению биомаркеров воспаления при СМА [33]. При исследовании содержания хитотриоксидазы в ЦСЖ 58 взрослых пациентов со СМА (средний возраст — 31 год), ранее не получавших терапию, было выявлено значимое повышение ее концентрации при сопоставлении с контрольной группой (1838 (1035–3133) пг/мл против 563 (563–971) пг/мл, $p < 0,0001$), что свидетельствует в пользу вовлечения нейровоспаления в патофизиологию СМА. Вопреки ожиданиям в течение 14 мес. лечения нусинерсеном уровни хитотриоксидазы значительно увеличилась по сравнению с исходными значениями. Также концентрация хитотриоксидазы не коррелировала с тяжестью заболевания и не отличалась у пациентов с различными типами заболевания, в связи с чем данный показатель не может быть использован в качестве маркера прогрессирования заболевания и эффективности терапии [34]. В работе De Wel B. и соавт. получены аналогичные результаты — у 16 взрослых пациентов наблюдалось значимое повышение уровней хитотриоксидазы в ЦСЖ за 22-месячный период лечения нусинерсеном. В этой же работе был исследован другой маркер воспаления — хитиназо-3-подобный белок 1. Оказалось, что уровни этого белка значительно снились в ЦСЖ пациентов, имеющих

положительную динамику по двигательным функциям на фоне терапии нусинерсеном [24]. Таким образом, хитиназо-3-подобный белок 1 можно рассматривать как потенциальный биомаркер эффективности терапии. В недавнем исследовании было выявлено значительное повышение содержания ряда цитокинов (интерлейкин (ИЛ)-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17A, ИЛ-22, ИЛ-23, ИЛ-31 и ИЛ-33, фактор некроза опухоли (ФНО) и интерферон- γ (ИНФ- γ)) в сыворотке крови детей и взрослых со СМА при сравнении с контрольными группами. Уже через 6 мес. после начала терапии нусинерсеном наблюдалось значимое снижение уровней ИЛ-4, ИНФ- γ , ИЛ-22, ИЛ-23 и ИЛ-33 в сыворотке крови детей со СМА и снижение уровней ИЛ-4, ИЛ-6, ИНФ- γ и ИЛ-17A в сыворотке крови взрослых пациентов со СМА по сравнению с исходными значениями. При этом в ЦСЖ как детей, так и взрослых пациентов со СМА существенных различий между исходным содержанием цитокинов и через 6 мес. лечения нусинерсеном выявлено не было. Примечательно, что более высокий исходный уровень ИЛ-23 в сыворотке коррелировал с выраженностью нарушений двигательных функций после лечения у детей. Более того, через 6 мес. лечения пациенты с более высокой концентрацией ИЛ-10 в сыворотке показали лучший показатель по шкале HFMSE [35]. Приведенные выше исследования подтверждают, что показатели воспаления могут выступать в качестве биомаркеров прогрессирования СМА и мониторинга лечения заболевания.

Суммарный потенциал действия мышцы (англ. Compound Muscle Action Potential (CMAP)) и приблизительное определение числа двигательных единиц (англ. Motor Unit Number Estimation (MUNE)). Количественная оценка сохранных двигательных единиц (ДЕ) рассматривается как биомаркер в оценке эффективности новых разработываемых технологий лечения болезни двигательного нейрона, в связи с чем, на протяжении последних десятилетий ведется поиск электрофизиологических методов оценки количества ДЕ [36]. CMAP (синоним М-ответ) — потенциал, регистрируемый с мышцы, обычно в ответ на прямую или непрямую стимуляцию иннервирующего ее нерва. представляет собой результат суммации почти синхронно генерируемых потенциалов действия мышечных волокон. М-ответ является косвенным показателем числа интактных и доступных двигательных нейронов, отражающий общее функциональное состояние двигательной единицы [37]. Оценка электрофизиологических показателей нервно-мышечной передачи на мышечной модели СМА в раннем постнатальном периоде показала значимое снижение CMAP и MUNE ко 2-й неделе постнатального периода, при этом применение терапии, повышающей уровень белка SMN способствовало вначале стабилизации, а затем постепенному восстановлению нейрофизиологических показателей [37].

У людей со СМА также наблюдается снижение CMAP и MUNE при естественном течении

заболевания, при этом показана корреляционная зависимость данных показателей с количеством копий гена *SMN2*, типом СМА и возрастом пациентов [38, 39]. В исследовании D. Kariyawasat с коллегами изучались изменения нейрофизиологических показателей на фоне терапии нусинерсеном у 20 детей в возрастном диапазоне от 4 мес. до 16 лет, с различными типами СМА (1 тип $n = 6$, 2 тип $n = 10$, 3 тип $n = 4$) и различной продолжительностью заболевания. Было показано, что у детей с меньшим стажем заболевания наблюдалась более значимое повышение СМАР и MUNE на фоне терапии, при сравнении с пациентами с длительным стажем заболевания. Кроме того, оказалось, что нейрофизиологические показатели положительно коррелировали с двигательными функциями, оцененными с помощью шкал CHOP-INTEND (англ. Children's Hospital Of Philadelphia Infant Test Of Neuromuscular Disorders — тест детской больницы Филадельфии для оценки двигательных функций при нейромышечных заболеваниях у новорождённых) и HFMSE [40]. В другом исследовании изучались показатели СМАР и MUNE у 28 детей с поздним началом СМА (возраст 2–15 лет), получавших терапию нусинерсеном в течение 3 лет. Несмотря на то что двигательная функция, согласно шкалам, HFMSE и RULM у детей улучшилась, значимого повышения показателей СМАР и MUNE выявлено не было. Однако данные показатели оставались стабильными весь период наблюдения, что свидетельствует в пользу возможности их использования в качестве маркеров эффективности терапии [41]. Таким образом, электрофизиологические показатели могут выступать в качестве маркеров для мониторинга прогрессирования заболевания и эффективности применяемой терапии.

Магнитно-резонансная томография. Магнитно-резонансная томография (МРТ) ценный диагностический инструмент, который позволяет неинвазивно оценить дегенерацию не только мышц, но и мотонейронов передних рогов спинного мозга [42]. При СМА наблюдается атрофия мышц и жировое замещение мышечной ткани. H. Durmus и соавт. показали специфическую картину поражения мышц у 25 пациентов со СМА 3 типа — выраженное жировое замещение мышечной ткани в подвздошно-поясничной и большой ягодичной мышцах, а также в трехглавой и двуглавой мышцах плеча [42]. В недавней работе были опубликованные МРТ-данные продолжительного наблюдения двух взрослых пациентов со СМА 3 типа, получавших лечение нусинерсеном. Жировое замещение оценивалось с использованием режима диффузно-тензорной визуализации (ДТВ), было выявлено увеличение количества, длины и организации дорожек мышечных волокон через 10 и 24 месяцев при сравнении с исходными данными. Авторы предположили, что проведение МРТ мышц в ДТВ-последовательности может использоваться для мониторинга эффективности терапии у взрослых пациентов со СМА [43]. При проведении количественной МРТ мышц

взрослым пациентам со СМА 3 типа, получающим терапию препаратом нусинерсен в течение 21 месяца, было зарегистрировано прогрессирование жирового замещения мышц преимущественно в задней бедренной группе [44]. Несмотря на то, что приведенные исследования демонстрируют высокую информативность МРТ при СМА, применение его в рутинной клинической практике ограничено в связи с необходимостью использования сверхвысокопольных томографов и требованием особой подготовки врача-радиолога.

Представляем собственное клиническое наблюдение. Пациентка Ф., 1989 г.р., не работает, инвалид 1 группы. Жалобы при поступлении на слабость в конечностях, ограничение активных движений, невозможность самостоятельно изменить положение тела, трудности при выполнении базовых функций самообслуживания (чистка зубов, прием пищи, причёсывание и др.).

Анамнез болезни: ребенок от первой беременности, протекавшей без осложнений. Роды на 38 неделе, с длительным безводным промежутком, закричала сразу. Масса тела при рождении 3000 г, рост — 50 см. Ранее двигательное развитие без особенностей — голову держит с 1 месяца, с 5 мес. самостоятельно сидела, в 12 мес. самостоятельно пошла. Дебют заболевания в возрасте 1,5 лет, когда родители стали замечать частые падения, сложности при беге. К двум годам появились трудности при подъеме по лестнице, походка стала переваливающаяся. В возрасте 2,5 лет на основании клинических данных заподозрена спинальная мышечная атрофия (возможность проведения молекулярно-генетического анализа на момент установления диагноза отсутствовала). В течение последующих лет постепенный регресс двигательных навыков. К 10 годам перестала самостоятельно ходить, начала ползать. С возраста 12 лет передвигается в инвалидном кресле. Заболевание неуклонно прогрессировало, стала нарастать слабость в верхних конечностях. В 2021 г. диагноз «Спинальная мышечная атрофия» подтвержден молекулярно-генетическим методом — обнаружена гомозиготная делеция 7 экзона гена *SMN1*, 1 копия 8 экзона гена *SMN1*. Проведено исследование на определение количества копий 7–8 экзонов гена *SMN2* — определено 3 копии. Семейный анамнез не отягощен, молекулярно-генетическое обследование родителей не проводилось.

Неврологический статус: Тонус мышц низкий, диффузная гипотрофия мышц. Сила мышц по шкале оценки мышечной силы (в баллах): сгибатели шеи — 2,5, разгибатели — 2, мышцы плечевого пояса, проксимальные мышцы верхних конечностей — 2, дистальные — 3, мышцы тазового пояса — 0, проксимальные мышцы нижних конечностей — 1, дистальные — 1,5. Сухожильные рефлексы с верхних и нижних конечностей не вызываются. Глубокая и поверхностная чувствительность не нарушены. Координаторные пробы — пальценосовую пробу выполняет удовлетворительно с двух сторон,

коленно-пяточную пробу не выполняет. Выраженная кифосколиотическая деформация позвоночника влево. Функции тазовых органов контролирует.

Оценка выраженности двигательных нарушений по шкалам: расширенная шкала оценки двигательных функций при СМА HFMSE — 8 баллов из 66 возможных; шкала оценки двигательной функции верхней конечности (RULM), оценка функции доминирующей руки (правая) — 18 баллов из 37 возможных; шкала измерений двигательных функций при нервномышечных заболеваниях (англ. Motor Function Measure (MFM-32)) — 28 баллов из 96 (29,1%), из них: часть D1. Статика и динамика — 0%, часть D2. Аксиальная и проксимальная моторная функция — 44,4%, часть D3. Дистальная моторная функция — 57,1%.

Рентгенография и компьютерная томография грудного и поясничного отделов позвоночника — сколиоз груднопоясничного отдела позвоночника 4 степени. Остеохондроз, спондилоартроз (рис. 1).

Электрмиография — нейрофизиологические признаки выраженного поражения спинального мотонейрона. По данным спирометрии резкое снижение жизненной емкости легких (ЖЕЛ) — 28% от должной ЖЕЛ.

Диагноз: спинальная мышечная атрофия 5q13, 3 тип, ассоциированная с делецией 7 экзона гена *SMN1*, число копий гена *SMN2* — 3; Осложнения основного диагноза: кифосколиотическая деформация груднопоясничного отдела позвоночника IV степени. Контрактуры коленных суставов. Нарушение дыхательной функции по рестриктивному типу (ЖЕЛ — 28%).

Пациентке назначена патогенетическая терапия препаратом нусинерсен. Проведена инициация терапии — введено интратекально 4 дозы (12 мг на 1 введение) препарата (0-й, 14-й, 28-й и 63-й день), последующая (поддерживающая) доза (12 мг), согласно инструкции по применению препарата, введена на 183 день. За время наблюдения пациентки нежелательных явлений, связанных с люмбальной пункцией и введением препарата, зарегистрировано не было.

Для оценки эффективности проводимой терапии, помимо стандартных функциональных шкал, оценивалось содержание белка SMN и тяжелых цепей нейрофиламентов в ЦСЖ и плазме крови. Образцы крови забирались из локтевой вены параллельно с ликвором, сразу центрифугировались и хранились в морозильнике при температуре -70°C . Содержание тяжелых цепей нейрофиламентов и белка SMN определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов Abscam. Показатели оценивались в плазме крови и ЦСЖ на 0-й, 28-й, 63-й и 183-й день терапии.

По результатам анализа содержания ТНФ уже на 28-й день терапии отмечалась снижение уровня в плазме крови и в ликворе в два раза, тенденция к снижению сохранялась к 63 дню лечения, далее уровень стабилизировался (рис. 2а). Содержание белка SMN в ликворе повысилось к 28 дню лечения и тенденция к повышению сохранялась к 183 дню, в то время как в плазме крови уровень белка SMN оставался стабильным (рис. 2б).

Динамика показателей двигательных функций за 6 месяцев наблюдения, оцененных

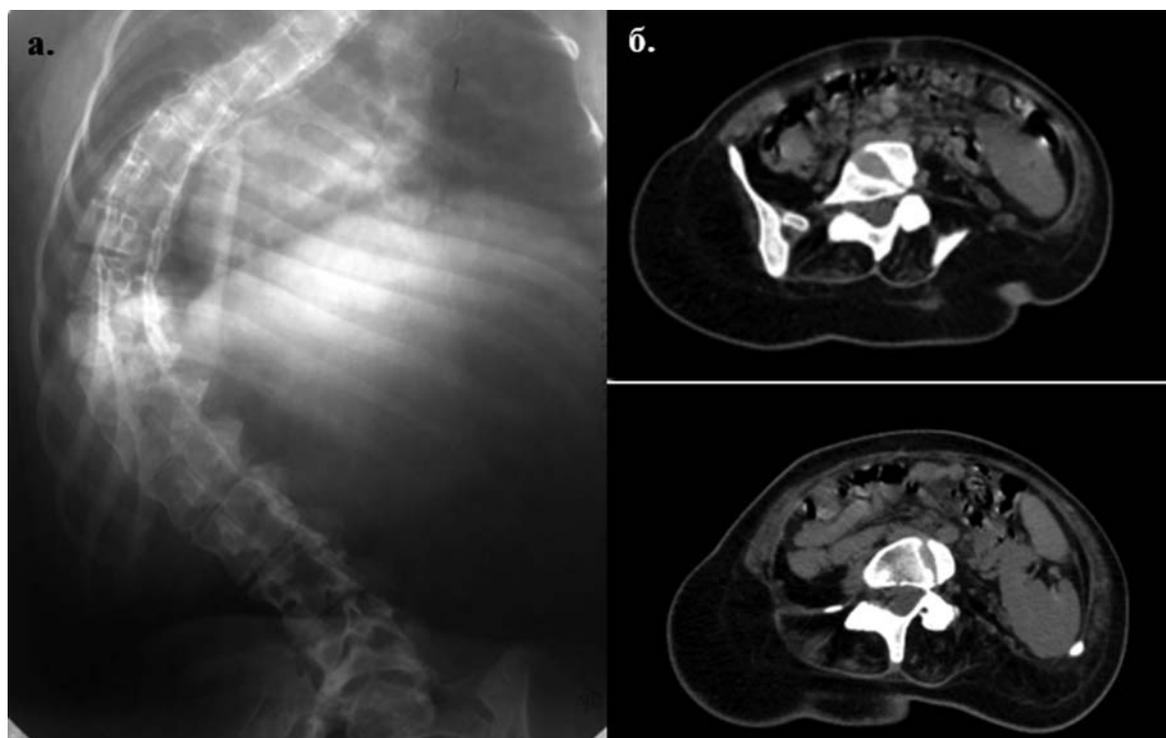


Рисунок 1. Рентгеновское изображения позвоночника пациентки Ф. (а) и КТ срезы на уровне L3-L4 позвонков (б).
Figure 1. X-ray image of the spine of patient F. (a) and CT scans at the level of L3-L4 vertebrae (б).

Таблица 1

Динамика показателей двигательных функций пациента

Показатель	Исходные данные	Через 6 мес.
шкала HFMSE, баллы	8	13
шкала RULM, баллы	18	19
шкала MFM-32, общий балл (%)	28 (29,1)	34 (35,4)
часть D1, %	0	0
часть D2, %	44,4	50
часть D3, %	57,1	76

Примечание: шкала HFMSE — Расширенная шкала оценки двигательных функций больницы Хаммерсмит, шкала RULM — пересмотренный «Модуль для оценки двигательной функции верхних конечностей», шкала MFM-32 — шкала измерений двигательных функций при нервно-мышечных заболеваниях (D1 — статика и динамика, D2 — аксиальная и проксимальная двигательная функция, D3 — дистальная двигательная функция).

Table 1

Dynamics of the patient's motor function during treatment

Indicate	Baseline	After 6 months
HFMSE, score	8	13
RULM, score	18	19
MFM-32, total score (%)	28 (29,1)	34 (35,4)
D1, %	0	0
D2, %	44,4	50
D3, %	57,1	76

Note: HFMSE — Hammersmith Functional Motor Scale — Expanded, RULM — Revised Upper Limb Module, шкала MFM-32 — Motor Function Measure (D1 — Standing and transfers, D2 — Axial and proximal motor function, D3 — Distal motor function).

по функциональным шкалам представлена в таблице 1.

Заключение. На сегодняшний день в качестве потенциальных биомаркеров СМА рассматриваются: белок SMN, белки нейрофиламентов, уровни

сывороточной креатинкиназы и креатинина, показатели воспаления, нейрофизиологические показатели и данные МРТ. Однако ни один из предлагаемых биомаркеров до сих пор не нашел широкого применения в клинической практике, в связи с недостаточной чувствительностью или специфичностью. В представленном клиническом случае нами было показано, что на фоне применения патогенетической терапии нусинерсеном снижение уровня тяжелых цепей нейрофиламентов в ликворе пациента коррелировало с улучшением двигательной функции, оцененной по стандартным функциональным шкалам. Действительно, с учетом интратекального способа введения, позволяющего производить забор ЦСЖ при каждом введении препарата нусинерсен, белки нейрофиламентов в ЦСЖ могут рассматриваться как прогностически значимые маркеры, однако, для подтверждения чувствительности данного метода требуется проведение исследования на большой выборке взрослых пациентов со СМА. Кроме того, в настоящее время проведение данного исследования ограничено высокой стоимостью анализа, однако, разработка отечественной тест-системы позволит снизить ее в десятки раз. В таком случае уже в ближайшем будущем в клиническую практику может быть внедрена высокочувствительная тест-система, позволяющая, наряду с клиническими шкалами, количественно оценить эффективность терапии нусинерсеном, и принимать объективное решение о продолжении/замене патогенетической терапии для каждого пациента, что способствует оптимизации расходов на лечение пациентов со СМА.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

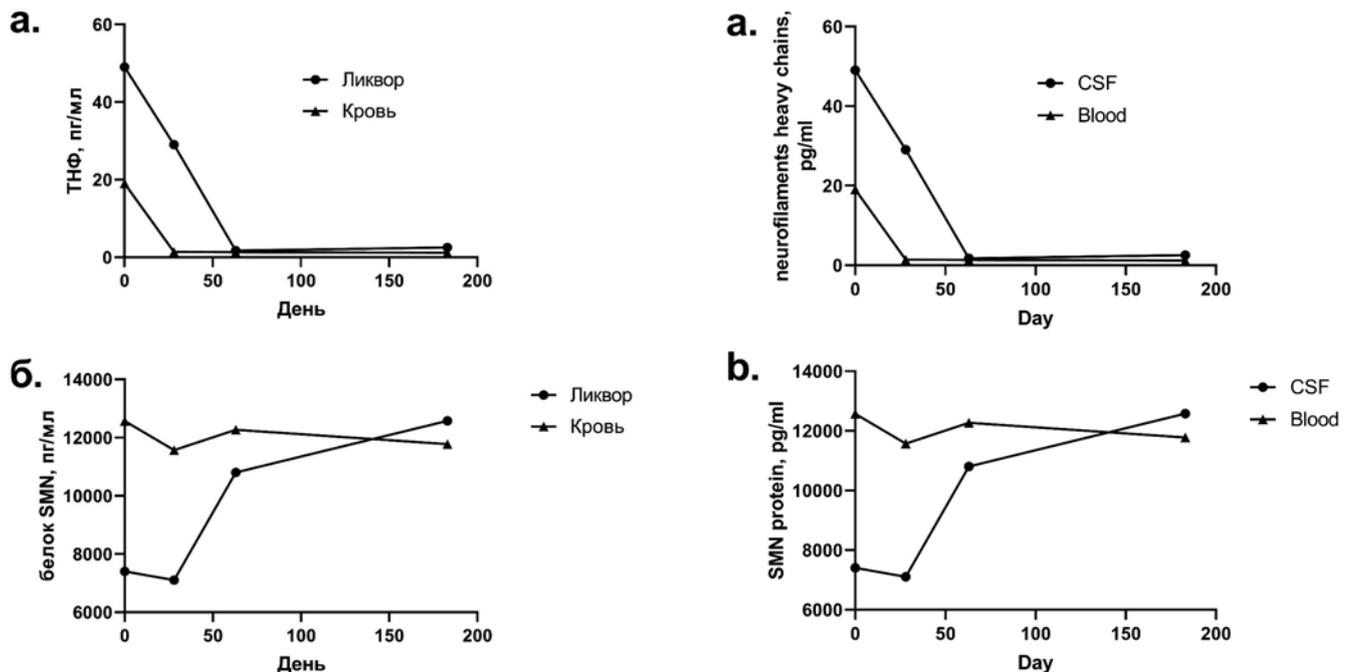


Рисунок 2. Содержание тяжелых цепей нейрофиламентов (а) и белка SMN (б) в крови и ЦСЖ пациентки Ф.

Figure 2. The content of heavy chains of neurofilaments (a.) and SMN protein (b.) in the blood and cerebrospinal fluid of patient F.

Финансирование. Работа выполнена по Государственному заданию № 075-03-2024-598.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pino MG, Rich KA, Kolb SJ. Update on Biomarkers in Spinal Muscular Atrophy. *Biomark Insights*. 2021;16. doi: 10.1177/11772719211035643
2. Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy. *Lancet (London, England)*. 2008;371(9630):2120–2133. PMID: 18572081. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60921-6
3. Mazzone ES, Mayhew A, Montes J Revised upper limb module for spinal muscular atrophy: Development of a new module. *Muscle Nerve*. 2017;55(6):869–874. PMID: 27701745. doi: 10.1002/MUS.25430
4. O'Hagen JM, Glanzman AM, McDermott MP, Ryan PA, Flickinger J, Quigley J, et al. An expanded version of the Hammett-Smith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord*. 2007;17(9-10):693–697. PMID: 17658255. doi: 10.1016/j.nmd.2007.05.009
5. Dunaway Young S, Montes J, Kramer SS, Marra Jonathan, Salazar R, Cruz R, et al. Six-minute walk test is reliable and valid in spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2016;54(5):836–842. PMID: 27015431. doi: 10.1002/MUS.25120
6. Kolb SJ, Battle DJ, Dreyfuss G. Molecular functions of the SMN complex. *J Child Neurol*. 2007;22(8):990–994. PMID: 17761654. doi: 10.1177/0883073807305666
7. Carrel TL, McWhorter ML, Workman E, Zhang H, Wolstencroft EC, Lorson C, et al. Survival motor neuron function in motor axons is independent of functions required for small nuclear ribonucleoprotein biogenesis. *J Neurosci*. 2006;26(43):11014–11022. PMID: 17065443. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1637-06.2006
8. Otsuki N, Arakawa R, Kaneko K, Aoki R, Arakawa M, Saito K. A new biomarker candidate for spinal muscular atrophy: Identification of a peripheral blood cell population capable of monitoring the level of survival motor neuron protein. *PLoS One*. 2018;13(8): 1-20. PMID: 30102724. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0201764
9. Alves CRR, Zhang R, Johnstone AJ, Garner R, Eichelberger EJ, Lepez DS, et al. Whole blood survival motor neuron protein levels correlate with severity of denervation in spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2020;62(3):351–357. PMID: 32511765. doi: 10.1002/MUS.26995
10. Ratni H, Ebeling M, Baird J, Bendels S, Bylund J, Chen KS, et al. Discovery of Risdiplam, a Selective Survival of Motor Neuron-2 (SMN2) Gene Splicing Modifier for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA). *J Med Chem*. 2018;61(15):6501–6517. PMID: 30044619. doi: 10.1021/ACS.JMEDCHEM.8B00741
11. Poirier A, Weetall M, Heinig K, Bucheli F, Schoenlein K, Alsenz J, et al. Risdiplam distributes and increases SMN protein in both the central nervous system and peripheral organs. *Pharmacol Res Perspect*. 2018;6(6). PMID: 30519476. doi: 10.1002/PRP2.447
12. Liem RKH, Yen SH, Salomon GD, Shelanski ML. Intermediate filaments in nervous tissues. *J Cell Biol*. 1978;79(3):637–645. PMID: 83322. doi: 10.1083/JCB.79.3.637
13. Yuan A, Rao M V., Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(4). PMID: 28373358. doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A018309
14. Benatar M, Wu J, Lombardi V, Jeromin A, Bowser R, Andersen PM, Malaspina A. Neurofilaments in pre-symptomatic ALS and the impact of genotype. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2019;20(7-8):538–548. PMID: 31432691. doi: 10.1080/21678421.2019.1646769
15. Benatar M, Wu J, Andersen PM, Lombardi V, Malaspina A. Neurofilament light: A candidate biomarker of presymptomatic amyotrophic lateral sclerosis and phenocopy. *Ann Neurol*. 2018;84(1):130–139. PMID: 30014505. doi: 10.1002/ANA.25276
16. Владыкина АВ, Назаров ВД, Краснов ВС, Королева ЕИ, Федорова ПА, Мошников АН, и др. Исследование диагностической значимости тяжелых цепей нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости при боковом амиотрофическом склерозе. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2021;15(1):43–50. doi: 10.25692/ACEN.2021.1.5
17. Владыкина А.В., Назаров В.Д., Краснов В.С. et al. The diagnostic significance of neurofilament heavy chains in cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis]. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2021;15(1):43–50. (In Russ.)
18. Skillbäck T, Farahmand B, Bartlett JW, Rosén C, Mattsson N, Nägga K, et al. CSF neurofilament light differs in neurodegenerative diseases and predicts severity and survival. *Neurology*. 2014;83(21):1945–1953. PMID: 25339208. doi: 10.1212/WNL.0000000000001015
19. Mattsson N, Cullen NC, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K. Association Between Longitudinal Plasma Neurofilament Light and Neurodegeneration in Patients With Alzheimer Disease. *JAMA Neurol*. 2019;76(7):791–799. PMID: 31009028. doi: 10.1001/JAMANEUROL.2019.0765
20. Darras BT, Crawford TO, Finkel RS, Mercuri E, De Vivo DC, Oskoui M, et al. Neurofilament as a potential biomarker for spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2019;6(5):932–944. PMID: 31139691. doi: 10.1002/ACN3.779
21. Olsson B, Alberg L, Cullen NC, Michael E, Wahlgren L, Kroksmark A-K, et al. NFL is a marker of treatment response in children with SMA treated with nusinersen. *J Neurol*. 2019;266(9):2129–2136. PMID: 31123861. doi: 10.1007/S00415-019-09389-8
22. Wurster CD, Günther R, Steinacker P, Dreyhaupt J, Wollinsky K, Uzelac Z, et al. Neurochemical markers in CSF of adolescent and adult SMA patients undergoing nusinersen treatment. *Ther Adv Neurol Disord*. 2019;12. PMID: 31205491. doi: 10.1177/1756286419846058
23. Rich KA, Fox A, Yalvac M, Heintzman S, Tellez M, Bartlett A, et al. Neurofilament Levels in CSF and Serum in an Adult SMA Cohort Treated with Nusinersen. *J Neuromuscul Dis*. 2022;9(1):111–119. PMID: 34776417. doi: 10.3233/JND-210735
24. Faravelli I, Meneri M, Saccomanno D, Velardo D, Abati E, Gagliardi D, et al. Nusinersen treatment and cerebrospinal fluid neurofilaments: An explorative study on Spinal Muscular Atrophy type 3 patients. *J Cell Mol Med*. 2020;24(5):3034–3039. PMID: 32032473. doi: 10.1111/JCMM.14939
25. De Wel B, De Schaepdryver M, Poesen K, Claeys KG. Biochemical and clinical biomarkers in adult SMA 3–4 patients treated with nusinersen for 22 months. *Ann Clin Transl Neurol*. 2022;9(8):1241–1251. PMID: 35833245. doi: 10.1002/ACN3.51625
26. Rudnik-Schöneborn S, Lützenrath S, Borkowska J, Karwanska A, Hausmanowa-Petrusewicz I, Zerres K. Analysis of creatine kinase activity in 504 patients with proximal spinal muscular atrophy types I-III from the point of view of progression and severity. *Eur Neurol*. 1998;39(3):154–162. PMID: 9605392. doi: 10.1159/000007926
27. Alves CRR, Zhang R, Johnstone AJ, Garner R, Nwe PH, Siranosian JJ, Swoboda KJ. Serum creatinine is a biomarker of progressive denervation in spinal muscular atrophy. *Neurology*. 2020;94(9):e921–e931. doi: 10.1212/WNL.0000000000008762
28. Freigang M, Wurster CD, Hagenacker T Serum creatine kinase and creatinine in adult spinal muscular atrophy under nusinersen treatment. *Ann Clin Transl Neurol*. 2021;8(5):1049–1063. PMID: 31882526. doi: 10.1002/ACN3.51340
29. Kumar A, Zhang KYJ. Human Chitinases: Structure, Function, and Inhibitor Discovery. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1142:221–251. PMID: 31102249. doi: 10.1007/978-981-13-7318-3_11
30. Hollak CEM, Van Weely S, Van Oers MHJ, Aerts JMFG. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J Clin Invest*. 1994;93(3):1288–1292. PMID: 8132768. doi: 10.1172/JCI117084
31. Abu-Rumeileh S, Steinacker P, Polisch B, Mammanna A, Bartoletti-Stella A, Oeckl P, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation in distinct forms and subtypes of neurodegenerative

- dementia. *Alzheimers Res Ther.* 2019;12(1). PMID: 31892365. doi: 10.1186/S13195-019-0562-4
31. Gray E, Thompson AG, Wu J, Pelt J, Talbot K, Benatar M, Turner MR. CSF chitinases before and after symptom onset in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(8):1296–1306. PMID: 32666680. doi: 10.1002/ACN3.51114
 32. Sotgiu S, Barone R, Arru G, Pugliatti M, Sanna A, Rosati G, Musement S. Intrathecal chitotriosidase and the outcome of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2006;12(5):551–557. PMID: 17086899. doi: 10.1177/1352458506070614
 33. Abati E, Citterio G, Bresolin N, Comi GP, Corti S. Glial cells involvement in spinal muscular atrophy: Could SMA be a neuroinflammatory disease? *Neurobiol Dis.* 2020;140. PMID: 32294521. doi: 10.1016/J.NBD.2020.104870
 34. Freigang M, Steinacker P, Wurster CD, Schreiber-Katz O, Osmanovic A, Petri S, et al. Increased chitotriosidase 1 concentration following nusinersen treatment in spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1). PMID: 34321067. doi: 10.1186/S13023-021-01961-8
 35. Leta V, Urso D, Batzu L, Lau YH, Mathew D, Boura I, et al. Viruses, parkinsonism and Parkinson's disease: the past, present and future. *J Neural Transm.* 2022;129(9):1119–1132. PMID: 36036863. doi: 10.1007/S00702-022-02536-Y
 36. Муртазина АФ, Белякова-Бодина АИ, Брутян АГ. Электрофизиологические методы оценки количества двигательных единиц. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2017;2:55–65. Murtazina A.F., Belyakova-Bodina A.I., Brutyan A.G. Electrophysiological methods for estimation of the number of motor units. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2017;11(2):55–65. (In Russ.) doi: 10.18454/ACEN.2017.2.8
 37. David Arnold W, Porensky PN, McGovern VL, Iyer CC, Duque S, Li X, et al. Electrophysiological Biomarkers in Spinal Muscular Atrophy: Preclinical Proof of Concept. *Ann Clin Transl Neurol.* 2014;1(1):34–44. PMID: 24511555. doi: 10.1002/ACN3.23
 38. Weng WC, Hsu YK, Chang FM, Lin C-Y, Hwu W-L, Lee W-T, et al. CMAP changes upon symptom onset and during treatment in spinal muscular atrophy patients: lessons learned from newborn screening. *Genet Med.* 2021;23(2):415–420. PMID: 33033402. doi: 10.1038/S41436-020-00987-W
 39. Lewelt A, Krossschell KJ, Scott C, Sakonju Ai, Kissel JT, Crawford TO, et al. Compound muscle action potential and motor function in children with spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve.* 2010;42(5):703–708. PMID: 20737553. doi: 10.1002/MUS.21838
 40. Kariyawasam D, D'silva A, Howells J, Herbert K, Geelan-Small P, Lin C S-Y, Farrar MA. Motor unit changes in children with symptomatic spinal muscular atrophy treated with nusinersen. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2020;92(1):78–85. PMID: 33106369. doi: 10.1136/JNNP-2020-324254
 41. Darras BT, Chiriboga CA, Iannaccone ST, Swoboda KJ, Montes J, Mignon L, et al. Nusinersen in later-onset spinal muscular atrophy: Long-term results from the phase 1/2 studies. *Neurology.* 2019;92(21):e2492–e2506. PMID: 31019106. doi: 10.1212/WNL.0000000000007527
 42. Durmus H, Yilmaz R, Gulsen-Parman Y, Oflazer-Serdaroglu P, Cuttini M, Dursun M, Deymeer F. Muscle magnetic resonance imaging in spinal muscular atrophy type 3: Selective and progressive involvement. *Muscle Nerve.* 2017;55(5):651–656. PMID: 27543937. doi: 10.1002/MUS.25385
 43. Barp A, Carraro E, Albamonte E, Salmin F, Lunetta C, Comi GP, et al. Muscle MRI in two SMA patients on nusinersen treatment: A two years follow-up. *J Neurol Sci.* 2020;417. PMID: 32745721. doi: 10.1016/J.JNS.2020.117067
 44. Savini G, Asteggiano C, Paoletti M, Parravicini S, Pezzotti E, Solazzo F, Muzic SI, Santini Francesco Pilot Study on Quantitative Cervical Cord and Muscular MRI in Spinal Muscular Atrophy: Promising Biomarkers of Disease Evolution and Treatment? *Front Neurol.* 2021;12. PMID: 33854470. doi: 10.3389/FNEUR.2021.613834

Поступила 27.01.2024
Принята в печать 18.03.2024