



SMA – modelowa choroba genetyczna

Dr hab. n.med. Maria Jędrzejowska

Dr hab. n.med. Monika Gos

Katedra i Klinika Neurologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Zakład Genetyki Medycznej Instytutu Matki Dziecka W Warszawie



Rdzeniowy zanik mięśni (ang. Spinal Muscular Atrophy, SMA5q)



Hoffmann 1893

- Jedna z najczęstszych chorób genetycznie uwarunkowanych
- Dziedziczona w sposób autosomalny recesywny
- Częstość – 1 : 7000 urodzeń
- W Polsce żyje około 1200 chorych na z SMA
- SMA związane z mutacjami genu *SMN1*, powodującymi niedobór białka SMN
- Niedobór białka SMN prowadzi do obumierania motoneuronów rdzenia kręgowego i wtórnie - zaniku mięśni
- Szerokie spektrum fenotypowe choroby: SMA0-SMA4



Historia SMA – pierwsze opisy

1891 i 1893 - G.Werdnig i J. Hoffmann opisali 9 dzieci z 5 rodzin z postępującym proksymalnym zanikiem mięśni z początkiem objawów <1rż.

„Two early infantile **hereditary** cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy but on **neuronal** basis” Arch Psychiat Nervenkrank 1891; 22:437-480

„Ueber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer basis” Deutche Ztschr.Nervenhk 1893:3:427

- „there are many entirely empty cell-beds... anterior roots of both sides present only thin bundlesand very few medullary fibers”
- „there was only simple atrophy in this muscle...”

From the Pathological-Anatomical Institute of Graz
TWO EARLY INFANTILE HEREDITARY CASES OF PROGRESSIVE MUSCULAR ATROPHY SIMULATING DYSTROPHY, BUT ON A NEURAL BASIS*

by
Dr. G. Werdnig
Neurologist in Graz
...Case I
History of the Illness

Wilhelm Bauer, 3 years old, was born of healthy parents His 1 $\frac{3}{4}$ -year-old brother, Georg, is paralyzed in his legs. (His case history follows this one.) A 10-month-old brother, Franz, is healthy.

The patient was born in May 1885 as a strong child, who carried out lively movements with his extremities. Soon after birth he was brought to the country, where he was fed cows' milk, went

*Translation of: Zwei frühinfantile hereditäre Fälle von progressiver Muskelatrophie unter dem Bilde der Dystrophie, aber auf neurotischer Grundlage. Arch Psychiat Nervenkrank 22:437-480, 1891.

Arch Neurol—Vol 25, Sept 1971

XVI.

Aus der medicinischen Klinik (Prof. Erb) und dem pathologisch-anatomischen Institut (Prof. Arnold) in Heidelberg.

Ueber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer Basis.

Von
Prof. J. Hoffmann,
Heidelberg.

(Mit Tafel VII u. 5 Abbildungen im Text.)

Die Lehre von der progressiven Muskelatrophie sens. strict. hat in den letzten 20 Jahren manche Umwandlung erfahren und in vieler Beziehung grosse Fortschritte gemacht. So ist der Nachweis, dass die progressive Muskelatrophie durchaus nicht immer muscu-



SMA₁, choroba Werdniga-Hoffmanna

około 50% wszystkich zachorowań na SMA

Dziecko rodzi się pozornie zdrowe

Pierwsze objawy 1-3 miesiąc życia
nie unosi głowy, słabiej porusza nogami, cicho płacze, łatwo męczy się przy ssaniu, poci się

Zahamowany rozwój ruchowy, nie przekręca się, nie siedzi, narastający niedowład czterokończynowy, pozycja „żaby”

Narastający wysiłek oddechowy, oddech przeponą, dzwonowata klatka piersiowa

Dobry kontakt emocjonalny

Wcześnie niewydolność oddechowa (>90% do 2 rż)



dzwonowata klatka piersiowa



wiotkość zanik maskowany tkanką tłuszczową

Historia SMA – opis formy łagodnej

- 1956 - E. Kugelberg i L. Welander bazując na badaniu elektromiograficznym (EMG) rozpoznali neurogeny charakter zaniku mięśni w grupie 12 chorych z początkiem objawów 3-17rż z 6 rodzin z pierwotnym rozpoznaniem dystrofii mięśniowej

„*Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy*” Arch Neurol Psychiatry 1956; 75:500-9



Heredofamilial Juvenile Muscular Atrophy Simulating Muscular Dystrophy

E. KUGELBERG, M.D.
and
L. WELANDER, M.D., Stockholm

Since 1945 we have personally examined 12 patients with a juvenile type of hereditary muscular atrophy, all of whom had earlier been considered to have muscular dystrophy of the limb-girdle type. The diagnosis was verified by electromyography (Kugelberg,¹² 1949) and muscle biopsy.

This type of hereditary juvenile spinal muscular atrophy constitutes a distinct disease entity but seems to be little known, since

Received for publication Nov. 3, 1955.

it is generally mistaken for muscular dystrophy. Ford⁸ (1952) and others have reported cases of juvenile spinal muscular atrophy. The disease described here differs from theirs in the slower and relatively favorable course and the absence of bulbar and pseudobulbar symptoms and mental changes.

CASE HISTORIES

Case 2, which is fairly typical and which led to this investigation, will be described in detail and the remaining cases abstracted. For further data on weakness see the Table.

CASE 1 (Pedigree I).—The patient, an unmarried man aged 38, was first seen at Serafimerlasarettet in 1945, at the age of 28, with the complaint of

„Potentials were larger and of longer duration than normal motor unit potentials...”

Standard EMG		R. m. Rectus femoris		Standard EMG		R. m. Rectus femoris	
Test no	dur	Ampl	Phases	Area	Turns	Satel	
1	17.1	995	4	2411	4	0	0
2	12.8	1852	2	2548	2	0	0
3	12.2	575	2	1449	2	0	0
4	11.4	1893	3	1682	3	0	0
5	14.7	1198	4	3821	4	0	0
6	15.4	3888	6	9888	5	0	0
7	18.0	3788	6	6888	7	0	0
8	11.6	963	3	2151	3	0	0
9	5.2	1494	5	2457	5	0	0
10	14.5	3588	5	5988	3	0	0
11	8.4	1288	3	977	3	0	0
12	17.4	2888	8	6288	5	1	1
13	18.9	1688	7	1525	4	3	0
14	12.3	3988	3	6388	3	0	0
15	14.5	4888	4	8288	3	0	0
16	13.8	1588	7	2888	6	0	0

SMA 3 (choroba Kugelberga-Welander)

- Pierwsze objawy 18mż- 18 rż
- Trudności z bieganiem, wchodzeniem po schodach, wstawaniem w pozycji kucznej
- W badaniu wiotkość, osłabienie mięśni obręczy biodrowej, barkowej, brak odruchów kolanowych
- Przebieg progresujący - stopniowo niedowład narasta, obejmując także mięśnie odsiebne
- Wcześniejszy początek- cięższy przebieg, wczesne unieruchomienie
- Późniejszy początek- obraz pseudodystroficzny (przerost łydek, CK ~1000UI/l)



Jedna czy wiele różnych chorób?





Andrzej Wróblewski

24 lutego 2010
Nestorka polskiej neurologii

Moje odkrycia, moje zaklęcia

Rozmowa z prof. Ireną Hausmanową-Petrusewicz.

Czy często zdarzało się pani krzyknąć: eureka!?

Gdybym powiedziała, że często, uznalby pan to, zresztą słusznie, za manię wielkości. Powiem więc jedynie, że zdarzało się, iż w jakiejś kwestii miałam rację. Pamiętam, a było to bardzo dawno temu, że w Szwecji stwierdzono, iż występujący u dzieci rdzeniowy zanik mięśni pojawia się też w łagodnej formie u dorosłych, ale z pewnością inne są tego przyczyny. I ja, młoda kobieta zza żelaznej kurtyny, stwierdziłam na jakimś międzynarodowym zjeździe, że jest to ta sama choroba. Wzbudziło to dużą wesołość, ale później okazało się, że miałam rację. Była to dla mnie ogromna satysfakcja. Ułatwiło mi to zresztą pierwsze kroki na arenie międzynarodowej

Zmienność fenotypu od W-H do K-W

NEUR. NEUROCHIR. POL., 1968, T. II (XVIII), NR 1

Janina Prot, Ewa Sawicka

DZIEDZICZENIE RDZENIOWEGO ZANIKU MIĘŚNI

Z Kliniki Neurologicznej AM w Warszawie
Kierownik: prof. dr med. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Celem pracy jest próba określenia typu dziedziczenia w rdzeniowym zaniku mięśni w oparciu o materiał Warszawskiej Kliniki Neurologicznej obserwowany w latach 1958—1966.

Opracowanie kliniczne materiału uwzględniające postać choroby, wiek pacjenta w chwili zachorowania, przeciętny okres przeżycia i badania dodatkowe omówiono w poprzedniej pracy (Hausmanowa-Petrusewicz i wsp. 1966).

Materiał nasz obejmuje chorych z klasyczną postacią rdzeniowego zaniku mięśni typu Werdniga-Hoffmanna (W-H), przypadki o dłuższym okresie przeżycia zaliczane przez nas do grupy pośredniej oraz chorych z pseudodystroficzną postacią rdzeniowego zaniku mięśni typu Kugelberga-Welander.

Materiał własny składa się z 90 chorych pochodzących z 64 rodzin. Rozpoznanie rdzeniowego zaniku mięśni ustalono na podstawie obrazu klinicznego, wyniku badania emg i — u większości chorych — wyniku badania histopatologicznego wycinka mięśniowego.

Spśród 64 rodzin dane dotyczące całego potomstwa dziadków probanda zebrano w 37 przypadkach, w pozostałych 27 rodzinach informacje dotyczą rodziców i rodzeństwa chorego. W sumie zebrano dane dotyczące 1053 osób. Nie stwierdzono chorych na rdzeniowy zanik mięśni wśród kuzynów naszych pacjentów. Trzeba jednak zauważyć, że w szeregu przypadków nawet dane uzyskiwane od matek dotyczące dzieci zmarłych we wczesnym dzieciństwie są nader niedokładne. Oczywiście w jeszcze większym stopniu niepewne są informacje dotyczące potomstwa siostr i braci rodziców chorego, szczególnie, jeśli kuzyni ci zmarli w niemowlęctwie.

W 2 przypadkach stwierdzono pokrewieństwo pomiędzy rodzicami chorego (kuzynowie z II i III linii), znaczna jednak część badanych rodzin pochodziła ze wsi, często z tej samej lub blisko położonej miejscowości i nie można wyłączyć istnienia odległego pokrewieństwa pomiędzy ojcem i matką chorego.

W 14 rodzinach chory był jedynym dzieckiem i grupa ta nie podlega dalszemu opracowaniu. W pozostałych 50 rodzinach było 76 chorych (płci męskiej 40, płci żeńskiej 36), w tym 15 zmarłych z powodu rdzeniowego zaniku mięśni. Spśród 117 zdrowego rodzeństwa chorych 18 było w wieku do 1 roku, 17 zmarło z powodu innego schorzenia.

W tabeli I zestawiono opracowane rodziny, zgrupowane w zależności od liczby potomstwa.

Praca wykonana w ramach umowy z NIH NINDB Nr 227702.

8 J. Prot, E.

wowanych (76). Metodą probandów u...
toda ta jednak z reguły daje niższe ry...
wyniki wszystkich prób wskazują, że...
niowy mięśni przekazuje się w sposób...
penetracją.

Na ogół w piśmiennictwie panuje...
cznym typie dziedziczenia dziecięcej...
go zaniku mięśni (Brandt 1949, Ha...
1935, Eyers i Banker 1961, Becker

Jedynie Benda i Brandt (1933) op...
niach choroba dotycząca 6 chłopców...
pujący sprzężony z płcią. Autorzy op...
nym choroby i nie jest wyłączone, ...
fię mięśniową.

Na podstawie danych z piśmienni...
niku mięśni Schimcus (1934) oblicz...
metodą probandów 25%. Na materia...
cym 57 chorych pochodzących z 49 r...
probandów 10%, a metodą rodzeńst...
największym materiałem składający...
94 chorych i 97 zdrowego rodzeństw...
sunek genetyczny

Z punktu widzenia klinicznego materiał nasz jest mniej...
niż materiał Brandta, uważamy jednak, że choroba Werdniga-H...
na i Kugelberga-Welander są krańcowymi odmianami tego samego...
rzenia. Zresztą w kilku rodzinach obserwowaliśmy obok formy...
wielkiej W — H chorych z typową postacią K — W (ryc. 1).

Ryc. 1 Rodowód nr 2. W—H — rdz. z. m. typu Werdniga-Hoffmanna. K—W — z. m. typu Kugelberga-Welander.

Ryc. 1 Rodowód nr 2. W—H — rdz. z. m. typu Werdniga-Hoffmanna. K—W — z. m. typu Kugelberga-Welander.

w tych rodzinach, w których byli chorzy tylko z postacią r...
pstryczną zaniku rdzeniowego nie mieliśmy podstaw do przy...
innego typu dziedziczenia niż ustępujący autosomalny. Bez...
opierając się o publikowany dotąd materiał chorych z rzeko...
czną postacią zaniku rdzeniowego, obliczył stosunek gen...
16% metodą probandów, 24% metodą rodzeństw, uzyskując

Z punktu widzenia klinicznego materiał nasz jest mniej...
niż materiał Brandta, uważamy jednak, że choroba Werdniga-H...
na i Kugelberga-Welander są krańcowymi odmianami tego samego...
rzenia. Zresztą w kilku rodzinach obserwowaliśmy obok formy...
wielkiej W — H chorych z typową postacią K — W (ryc. 1).

Ryc. 1 Rodowód nr 2. W—H — rdz. z. m. typu Werdniga-Hoffmanna. K—W — z. m. typu Kugelberga-Welander.

Z punktu widzenia klinicznego materiał nasz jest mniej...
niż materiał Brandta, uważamy jednak, że choroba Werdniga-H...
na i Kugelberga-Welander są krańcowymi odmianami tego samego...
rzenia. Zresztą w kilku rodzinach obserwowaliśmy obok formy...
wielkiej W — H chorych z typową postacią K — W (ryc. 1).

Ryc. 1 Rodowód nr 2. W—H — rdz. z. m. typu Werdniga-Hoffmanna. K—W — z. m. typu Kugelberga-Welander.

w tych rodzinach, w których byli chorzy tylko z postacią r...
pstryczną zaniku rdzeniowego nie mieliśmy podstaw do przy...
innego typu dziedziczenia niż ustępujący autosomalny. Bez...
opierając się o publikowany dotąd materiał chorych z rzeko...
czną postacią zaniku rdzeniowego, obliczył stosunek gen...
16% metodą probandów, 24% metodą rodzeństw, uzyskując



SMA – jedna choroba!



1891,
1893

pierwszy
opis

XVI.

Aus der medicinischen Klinik (Prof. Erb) und dem pathologisch-anatomischen Institut (Prof. Arnold) in Heidelberg.

Ueber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter,
auf familiärer Basis.

Von

Prof. J. Hoffmann,
Heidelberg.

1956

opis formy
łagodnej

*Hereditary Juvenile Muscular Atrophy
Simulating Muscular Dystrophy*

E. KUGELBERG, M.D.
and
L. WELANDER, M.D., Stockholm

it is generally mistaken for muscular dystrophy. Ford* (1952) and others have reported cases of juvenile spinal muscular atrophy. The disease described here differs

1990 1995

zmapowanie
do 5q13

identyfikacja genu *SMN1*

Cell, Vol. 80, 155-165, January 13, 1995. Copyright © 1995 by Cell Press

**Identification and Characterization
of a Spinal Muscular Atrophy-Determining Gene**

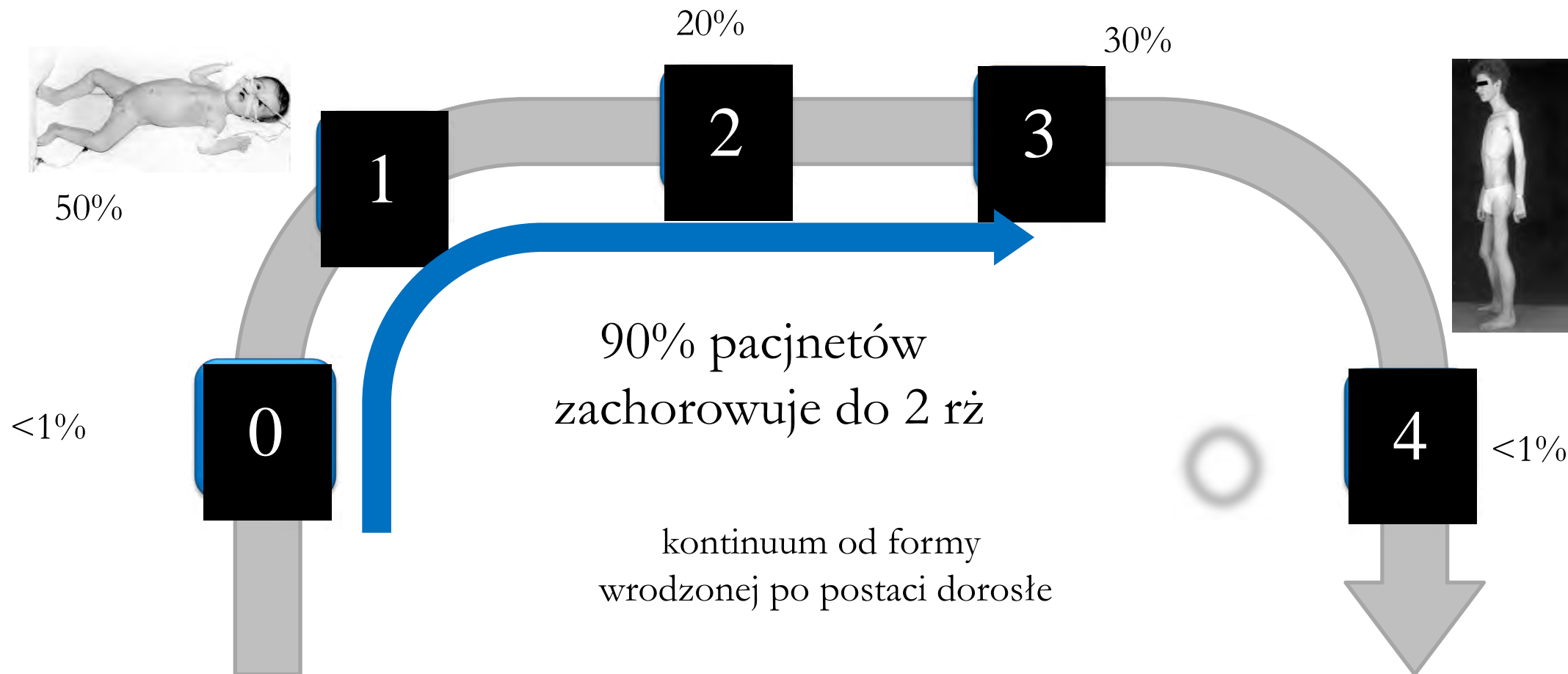
Suzie Lefebvre,*† Lydie Börglen,*†
Sophie Reboulet,* Olivier Clermont*.

second most common fatal autosomal recessive
after cystic fibrosis (1 in 6000 newborns) (F



Heterogenność kliniczna:

zmienność wieku zachorowania i stopnia nasilenia objawów

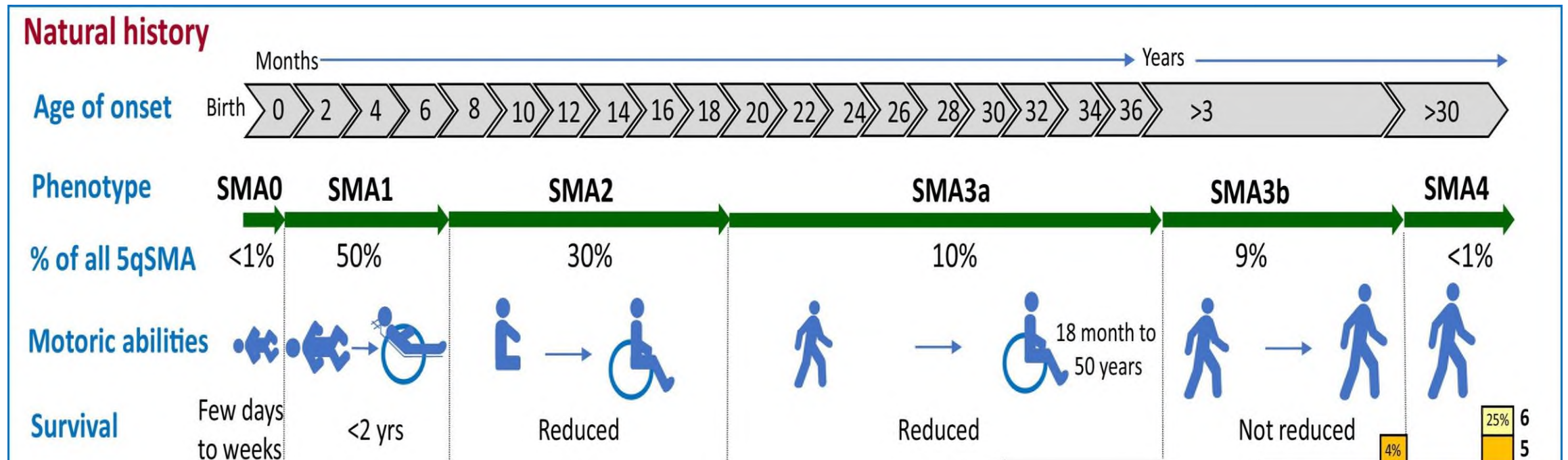


Klasyfikacja SMA

oparta o wiek wystąpienia objawów i osiągnięte kroki milowe (siedzenie, chodzenie)

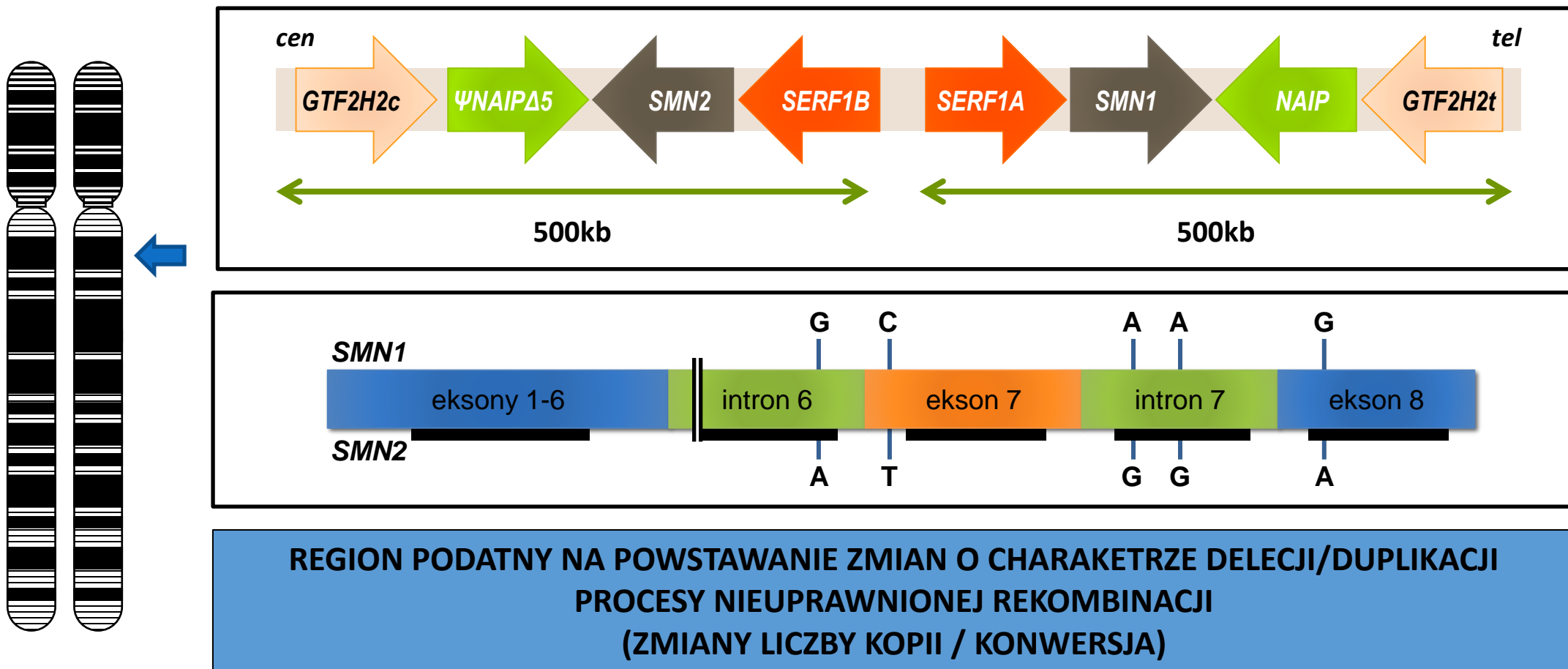
typ podtyp	początek objawów	osiągnięte kroki milowe	objawy	rokowanie
SMA₀	prenatalnie	brak	ciężka hipotonia, arefleksja, przykurcze, słabe ruchy	niewydolność oddechowa pierwsze minuty- dni życia, zgon w pierwszych tygodniach życia
SMA₁	a	<2 tyg. życia	brak	wiotkość, nie siedzi, nie siada, nie obraca się na boki, oddech przeponą; w postaci 1c- możliwa kontrola głowy
	b	<3 mż		
	c	<6 mż		
SMA₂	6-18 mż	siedzenie	osłabienie proksymalne, nigdy nie chodzi samodzielnie	przeżycie do wieku dorosłego
SMA₃	a	< 3rż	chodzenie	proksymalne osłabienie siły mięśniowej, kkd>kkd; u części chorych utrata zdolności samodzielnego chodzenia
	b	>3 rż		
	c	>12rż		
SMA₄	>20-30rż	prawidłowy rozwój	proksymalne osłabienie siły mięśniowej, głównie obręcz biodrowa	przeżycie jak w populacji ogólnej

SMA – historia naturalna

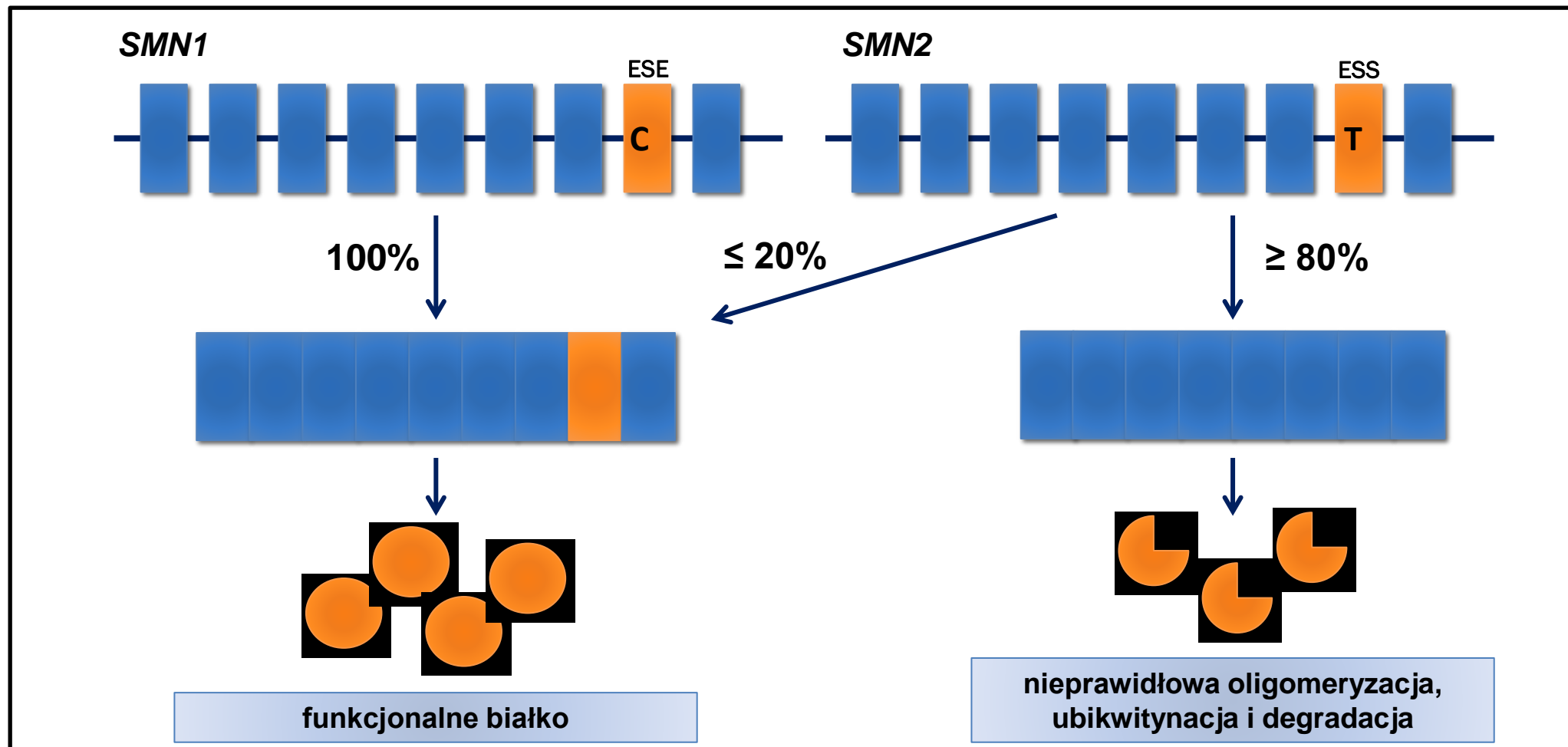


- 90% pacjentów wykazuje objawy choroby do 2 rż (SMA1, SMA2 i połowa pacjentów z SMA3)
- 90% pacjentów z SMA 1 umiera/rozwijają niewydolność oddechową do 2 rż

Podłoże molekularne SMA

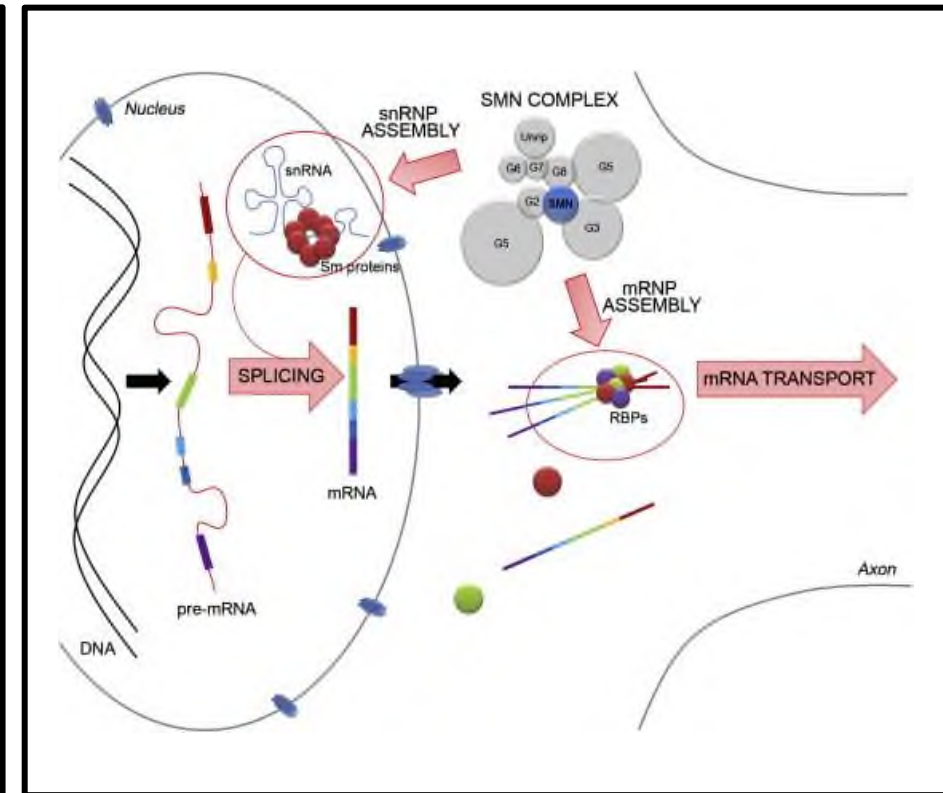
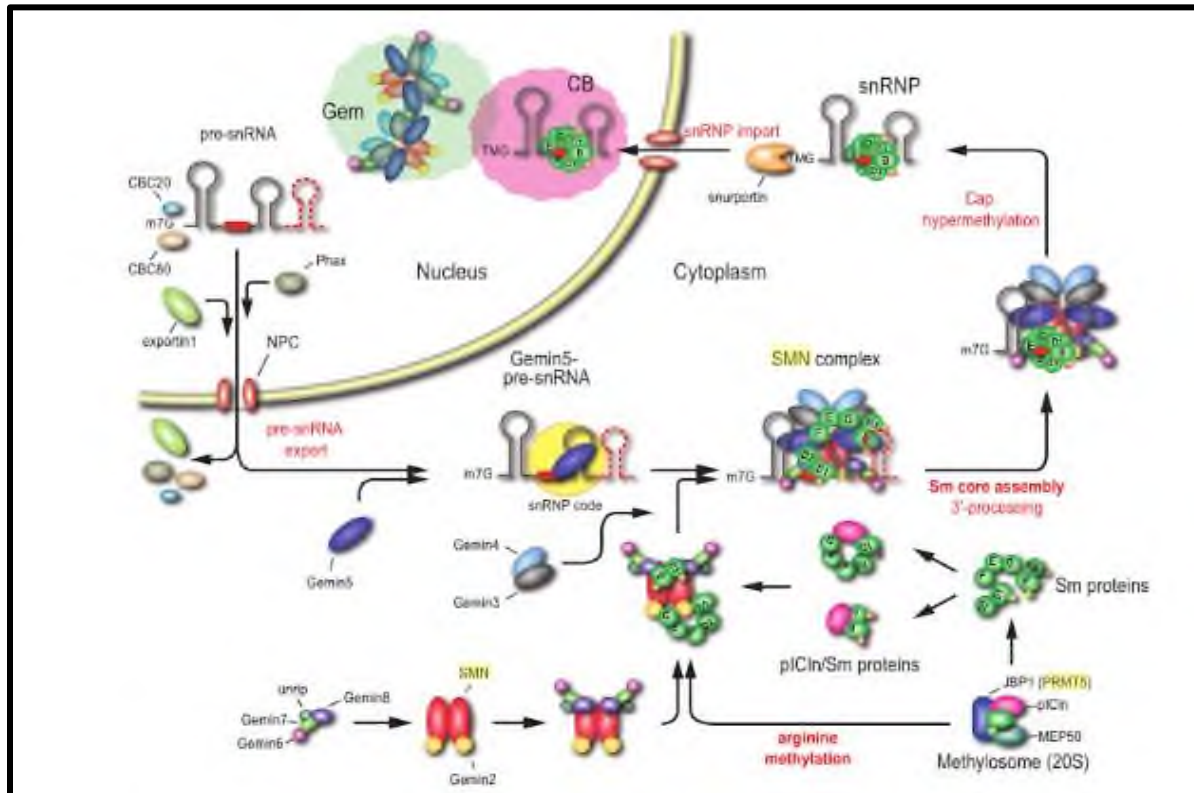
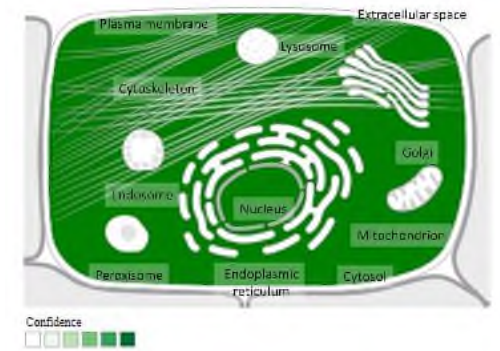


Rdzeniowy zanik mięśni - locus 5q13.2



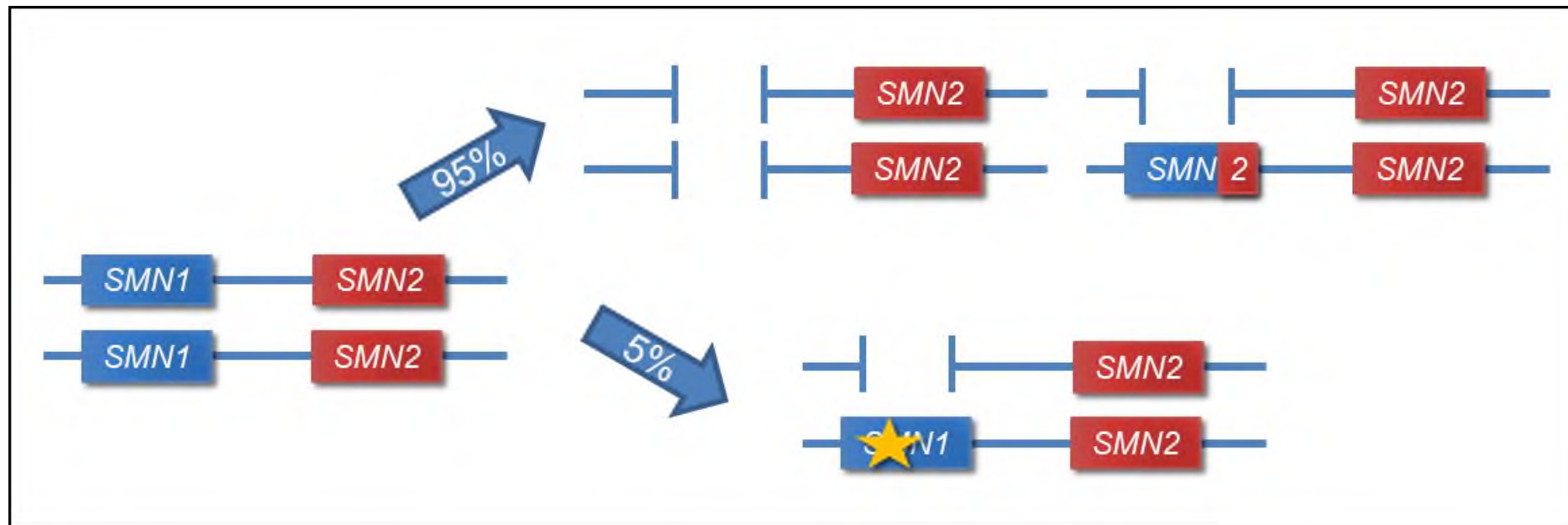
Białko SMN (survival motor neuron)

- ekspresja we wszystkich typach komórek
- najwyższa w neuronach ruchowych
(wykazuje ekspresję specyficzną miejscowo i czasowo)
- lokalizacja komórkowa: cytoplazmatyczna (tworzenie snRNP assembly) i jądrowa (gems, ciała Cajala)



Rdzeniowy zanik mięśni – przyczyny

- Główna przyczyna:
homozygotyczna delecja eksonu 7 *SMN1* – 95%
- Inne przypadki:
złożona heterozygotyczność: delecja eksonu 7 *SMN1* i punktowa mutacja patogenna w obecnej kopii genu *SMN1* - 5%



Diagnostyka SMA

- Wcześniej: metody jakościowe - identyfikacja tylko homozygotycznej delecji eksonu 7 (PCR-RFLP)
- Obecnie: metody ilościowe: MLPA lub qPCR
ocena liczby kopii genu *SMN1* i *SMN2*
- WAŻNE: w przypadku pacjentów objawowych ZAWSZE MLPA /qPCR
Stanowisko ekspertów PTGC, PTND oraz Zespołu Koordynacyjnego ds. Leczenia Chorych na SMA w sprawie badań genetycznych w kierunku SMA



Diagnostyka SMA

1. Sondy połówkowe MLPA



2. Hybrydzacja sond do zdentrowanego DNA



3. Ligacja sond



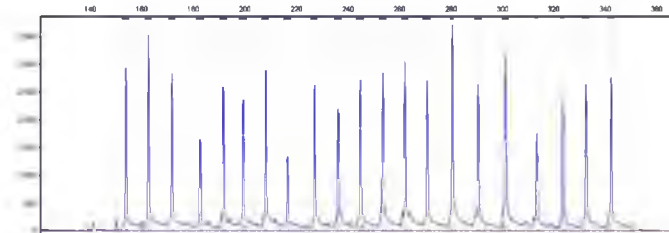
4. Denaturacja gDNA i zligowanych sond MLPA



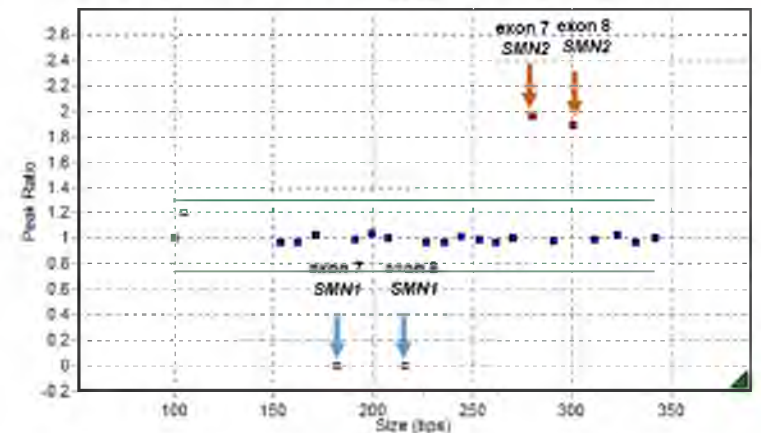
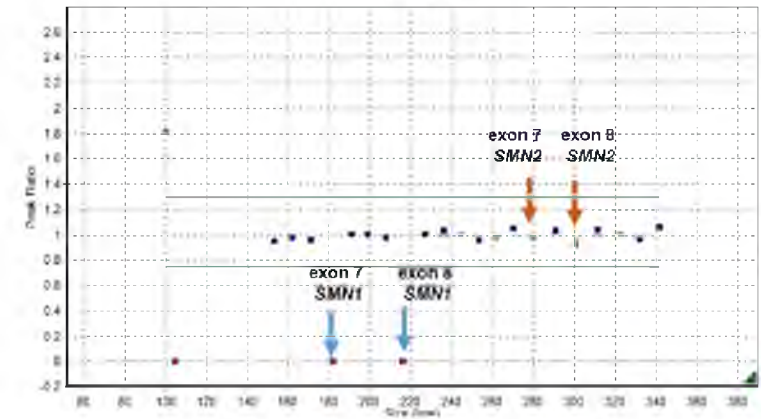
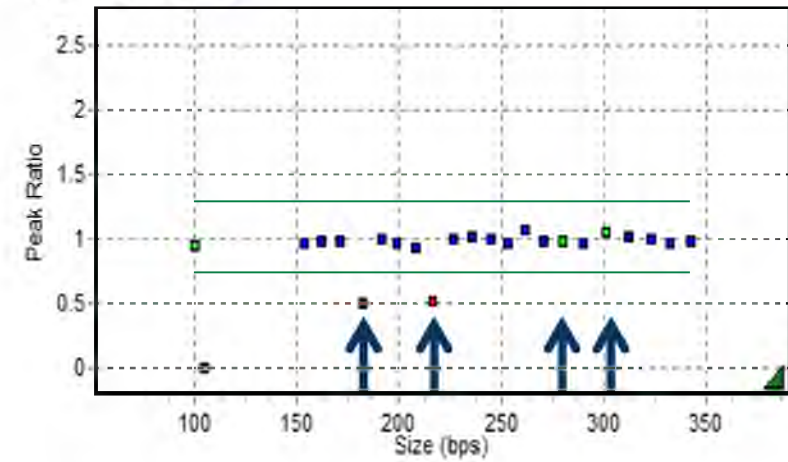
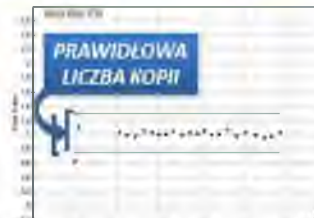
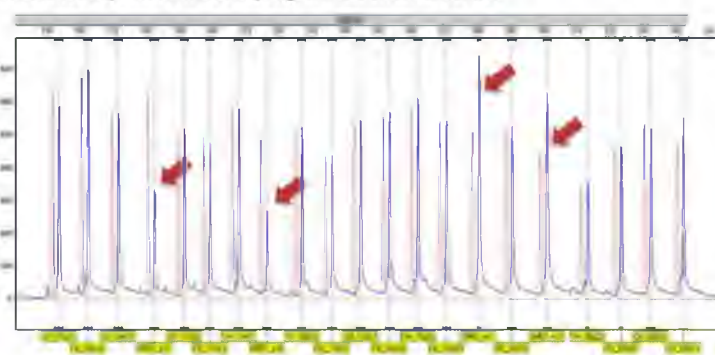
5. Multipleksowa reakcja PCR



6. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR w sekwenatorze i analiza wstępna

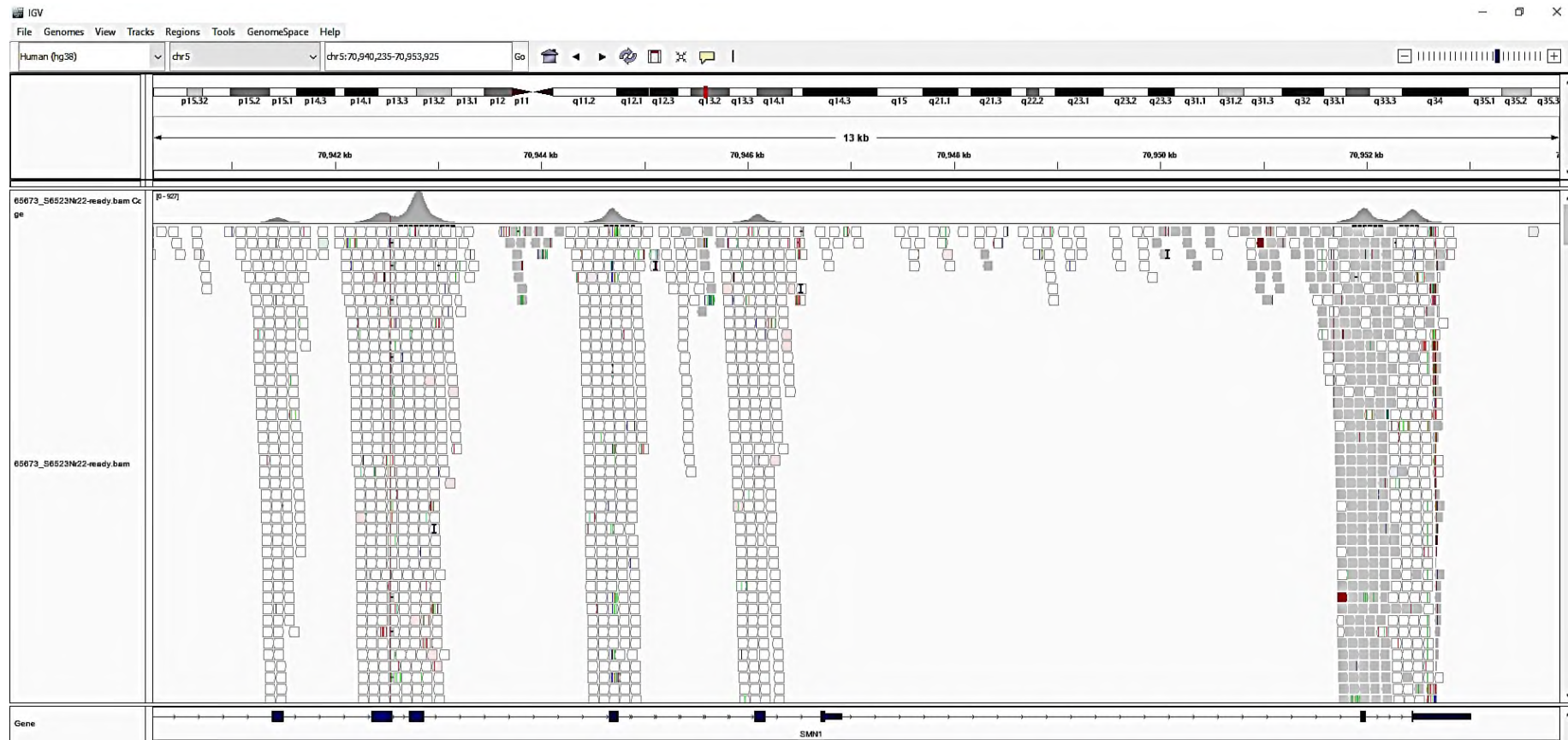


7. Analiza wyników MLPA w programie GeneMarker 1.6



Diagnostyka SMA

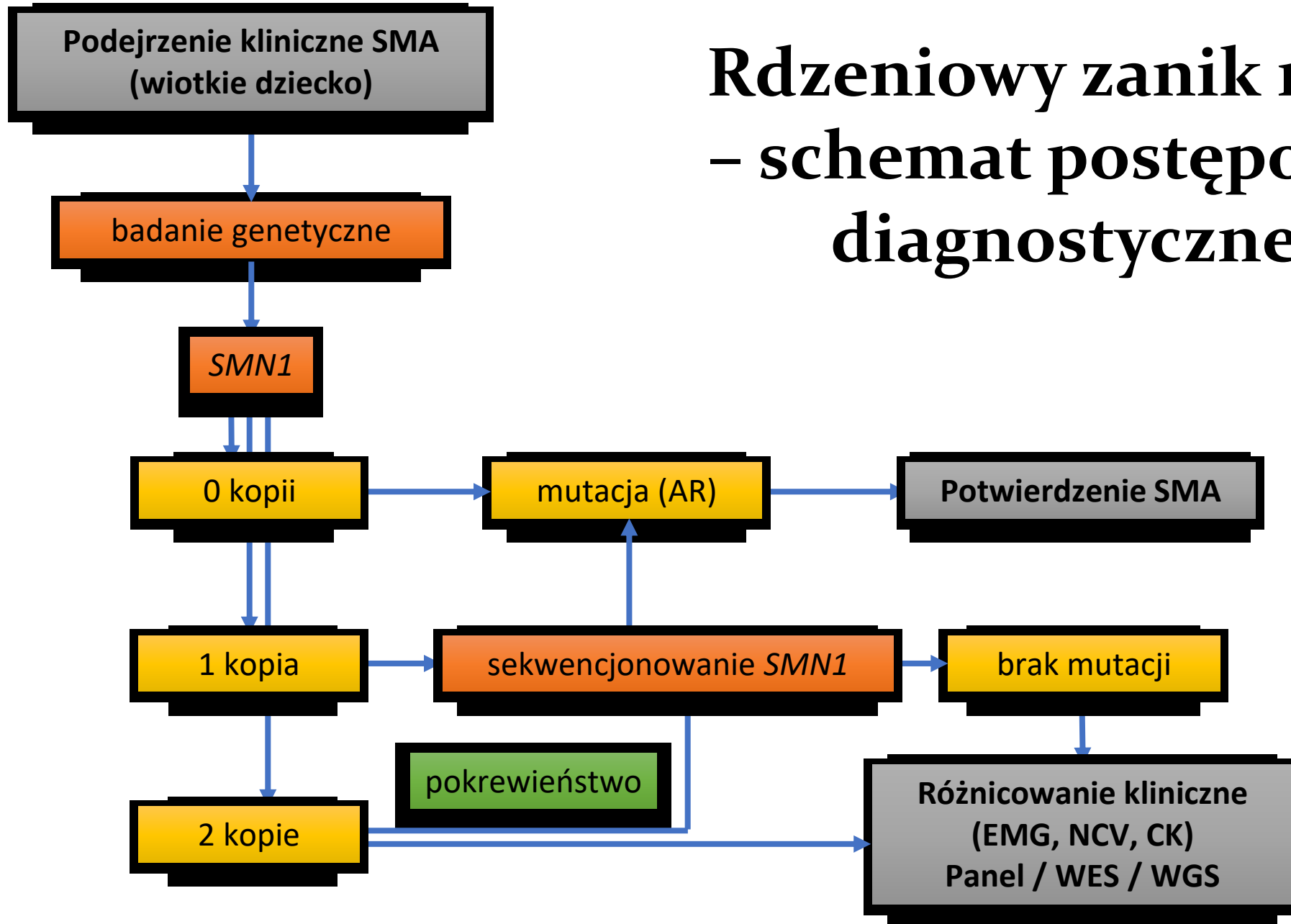
Sekwencjonowanie eksomu - wyniki nie pozwalają na oszacowanie liczby kopii *SMN1/SMN2*



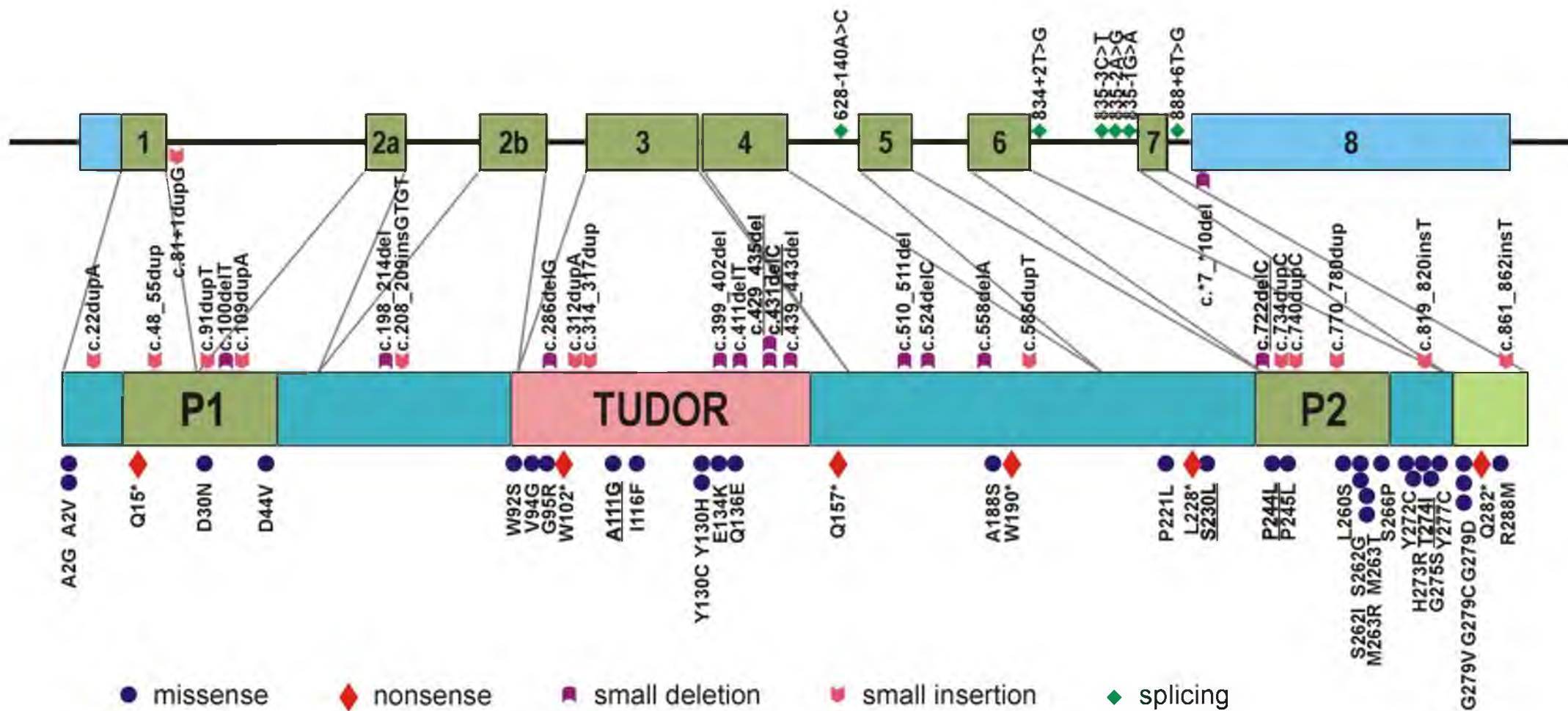
Sekwencjonowanie genomu - SMN Copy Number Caller (Chen X i wsp. Genet Med. 2020)



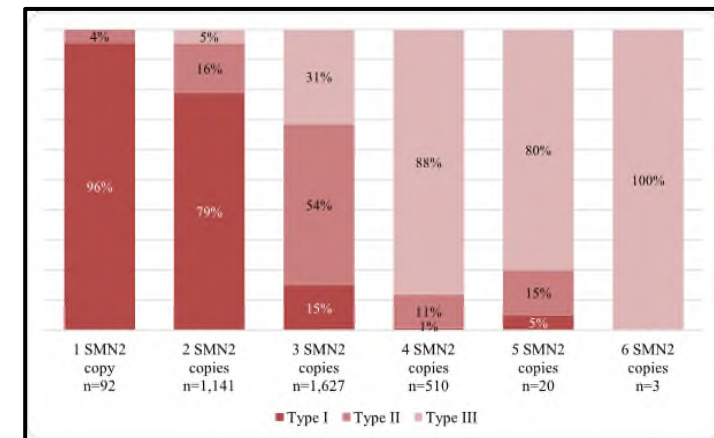
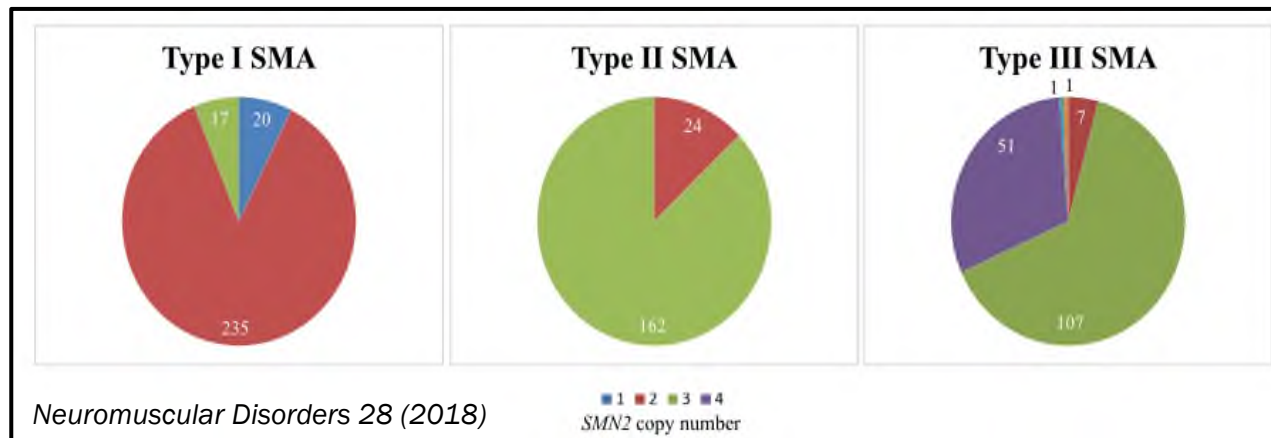
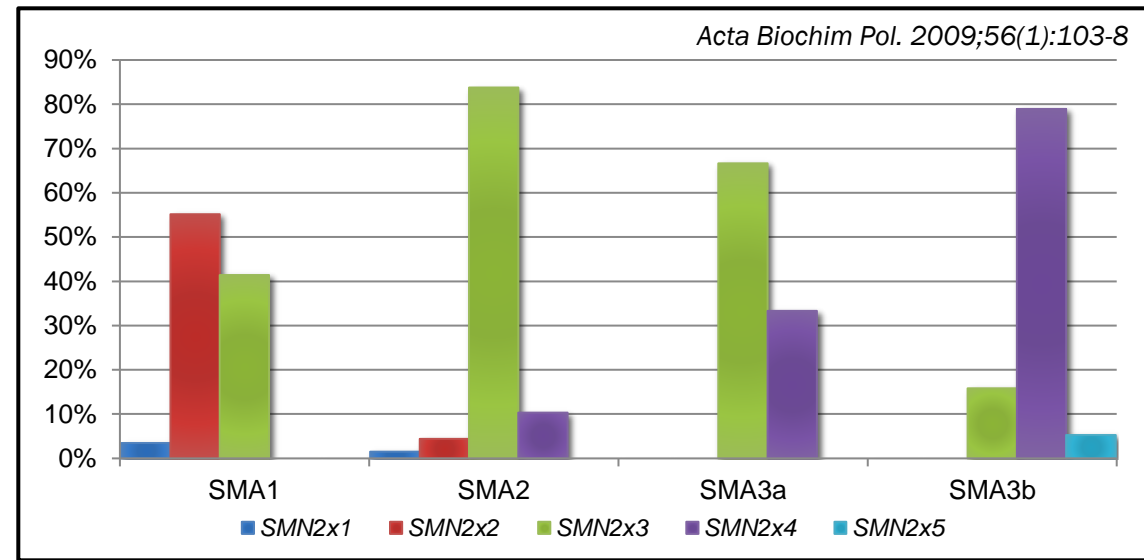
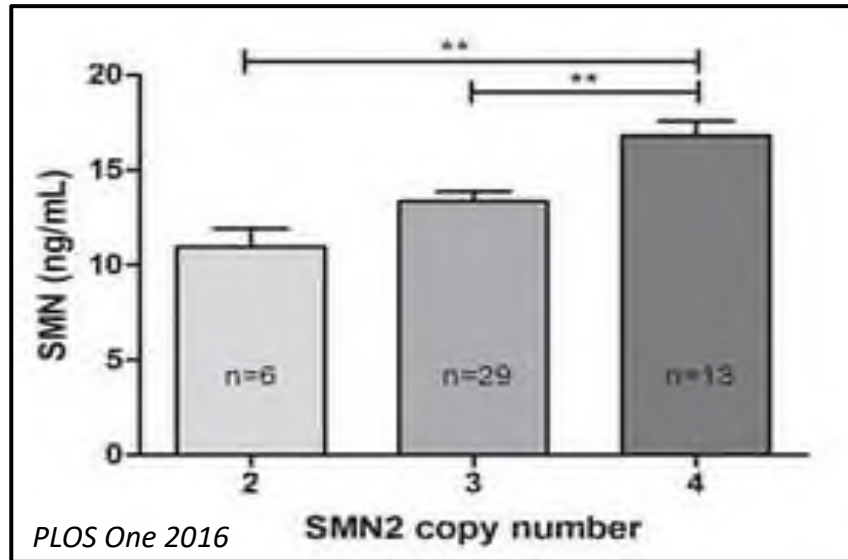
Rdzeniowy zanik mięśni – schemat postępowania diagnostycznego



Diagnostyka SMA - sekwencjonowanie



SMN2 jako modyfikator obrazu klinicznego choroby



Pacjenci: 2 kopie SMN2 - SMA1, 3 kopie - SMA2, 4 kopie - SMA3, średni wiek wystąpienia objawów: 6.7 lat

Dodatkowe modyfikatory SMA

- warianty c.859G>C (p.Gly287Arg) i c.835-44A>G w genie *SMN2* – pozytywne modyfikatory fenotypu; obecność tych wariantów stymuluje włączanie eksonu 7 do transkryptu *SMN2*
- wielkość delecji w regionie 5q13.2 - *NAIP*; im większa delecja, tym cięższy przebieg choroby
- **c.835-1897C>T**, **c.835-549A>G**, **c.*3+100G>A**, c.81+45C>T, c.838_840del, c.-14C>T – poszczególne warianty korelowały z łagodniejszym lub cięższym przebiegiem SMA, jednak nie wykonano dla nich dokładnej analizy funkcjonalnej
- sekwencje hybrydowe powstające w wyniku nieuprawnionej wymiany fragmentów pomiędzy genami *SMN1* i *SMN2*
- metylacja regionu promotorowego genu *SMN2*



Poszukiwanie leku

“DRUG DISCOVERY STAGE” FAZA PRZEDKLINICZNA

- Określenie celu
- Identyfikacja substancji oddziałującej z "celem"
(1 na 10,000 testowanych substancji stanie się lekiem)
- Optymalizacja: aktywność, toksyczność, skuteczność
- Badania na zwierzętach

5-8 lat



BADANIA KLINICZNE

- Faza I – bezpieczeństwo (zdrowe kontrole)
- Faza II – dawka (pacjenci, małe grupy)
- Faza III- skuteczność, bezpieczeństwo (duże grupy pacjentów, randomizowane badania z podwójnie ślełą próbą, placebo)



~5-8 lat

REJESTRACJA

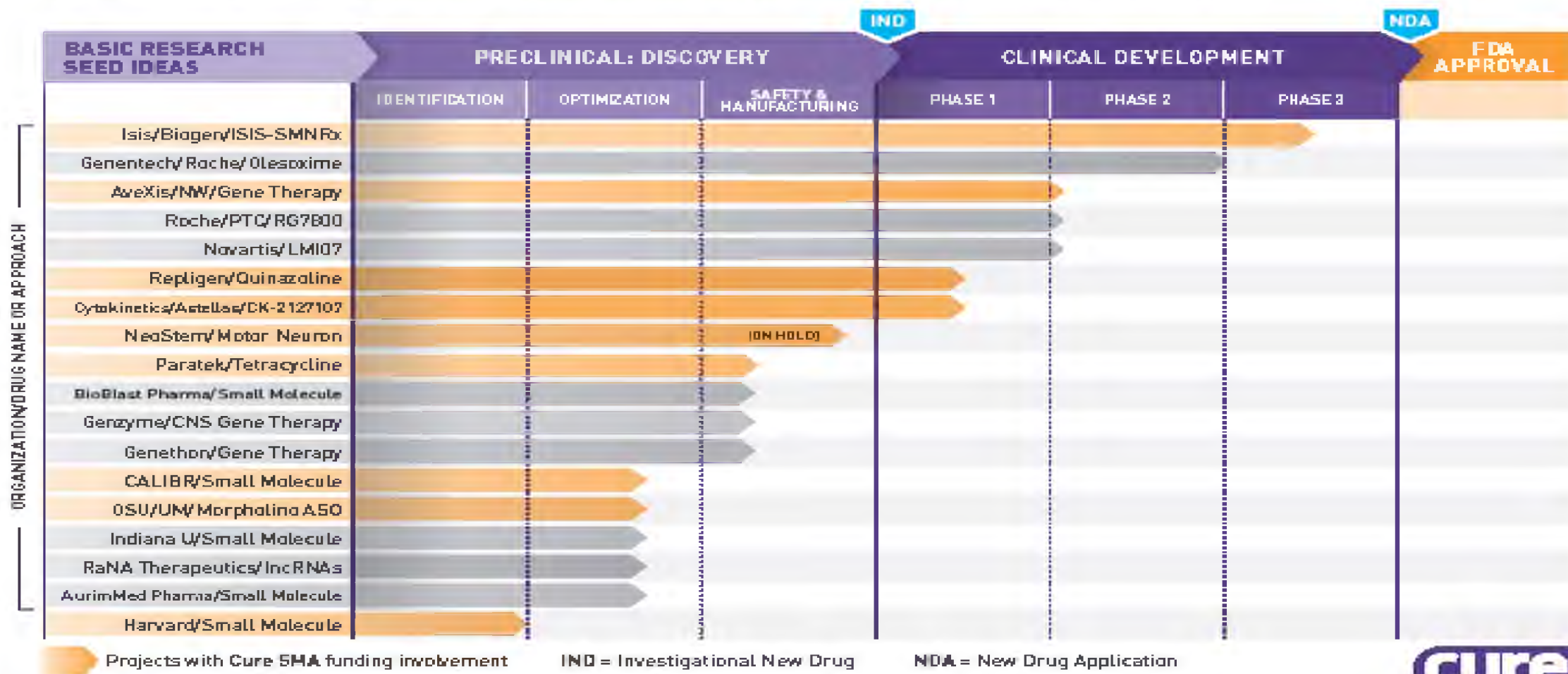
(regulatory agencies – EMA, FDA)

~1 year

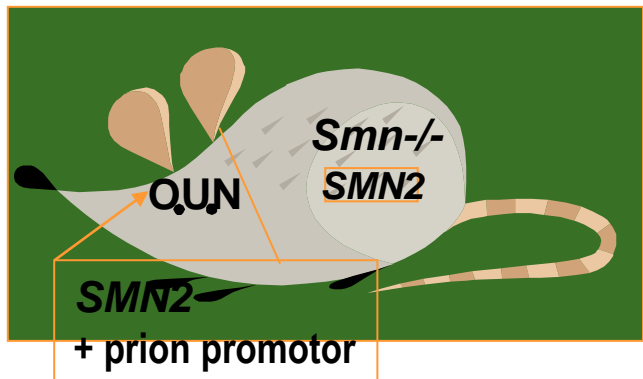
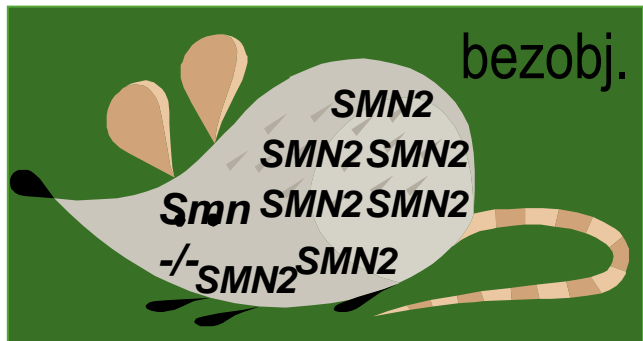
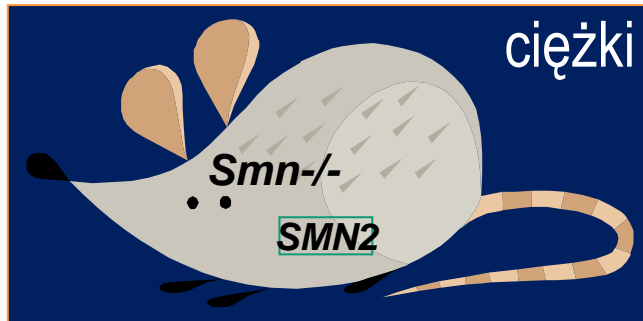


SMA DRUG PIPELINE: JUNE 2015

This year, we are funding research with more breadth, depth, and diversity than ever before. This chart shows the drugs and therapies that are currently in the pipeline for SMA, including a few that are just steps away from potential FDA approval.

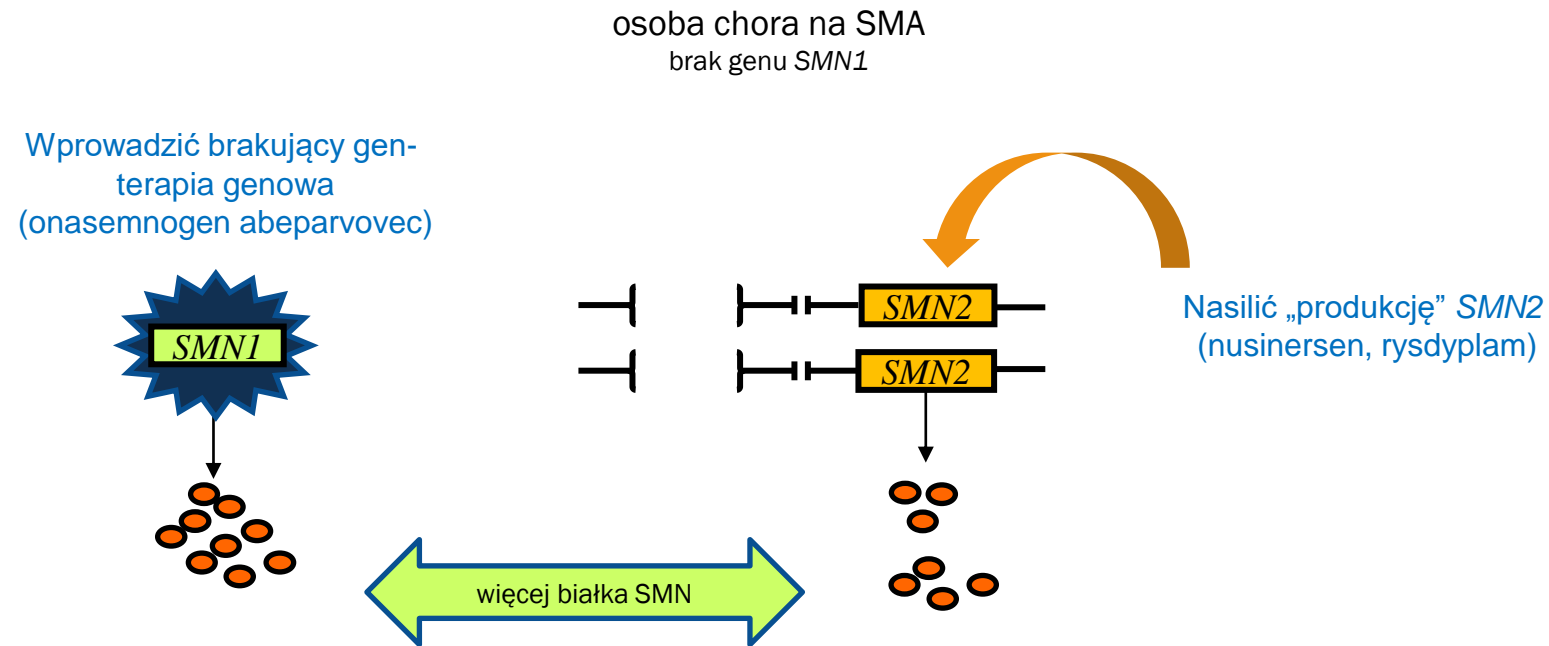


Modele zwierzęce



- *Mus musculus* $Smn^{-/-}$ – letalne
- Ludzki $SMN2$ u myszy $Smn^{-/-}$ zapobiega poronieniu
- Im więcej ludzkich kopii $SMN2$ tym łagodniejszy myszy fenotyp
 - 1-2 kopii – postać ostra
 - 8 kopii – asymptomatyczna

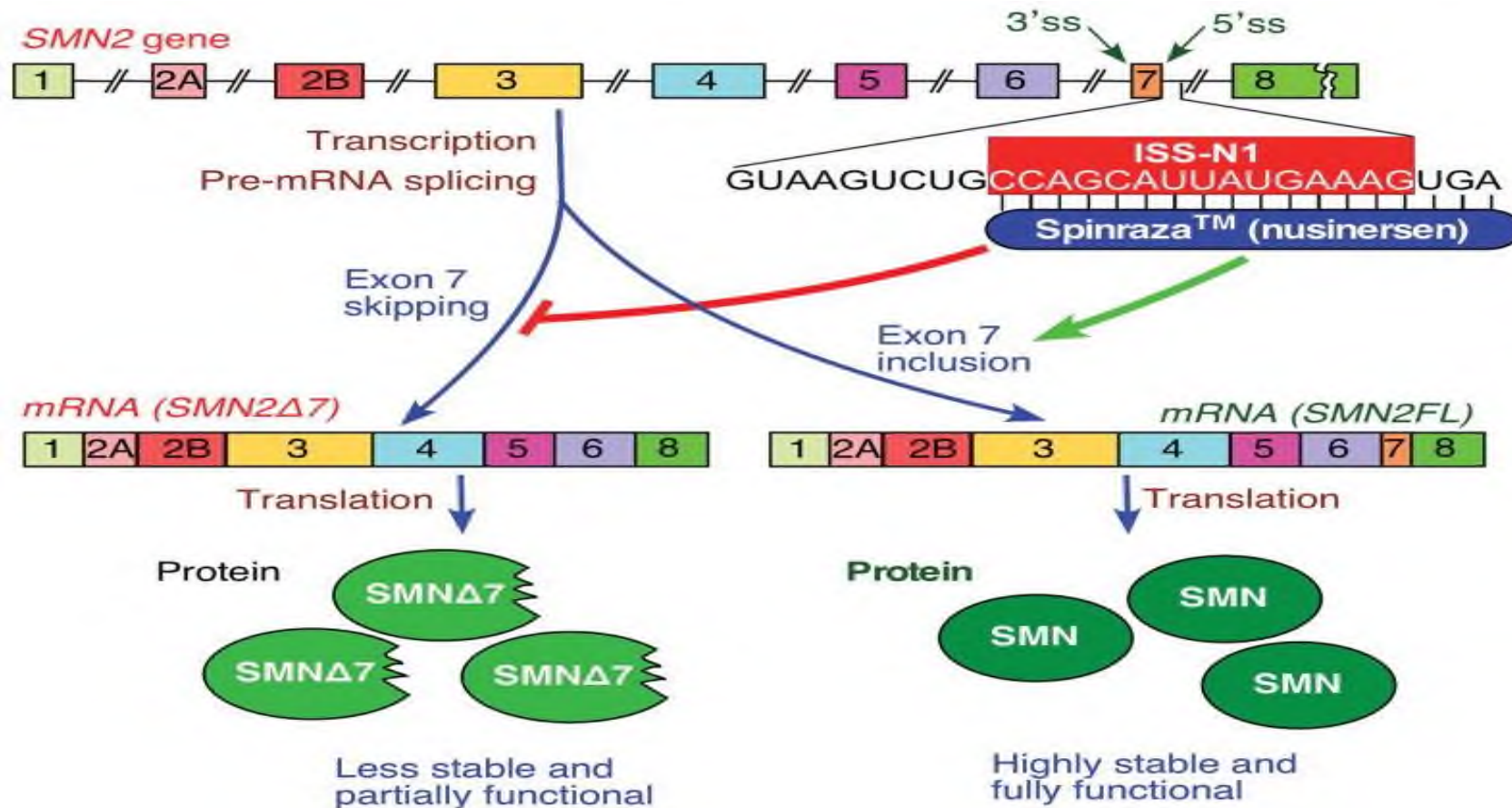
Leczenie SMA: podwyższenie poziomu białka SMN



- Podwyższenie poziomu białka SMN zapobiega obumieraniu motoneuronów i wtórnemu zanikowi mięśni

Nusinersen - antysensowny oligonukleotyd

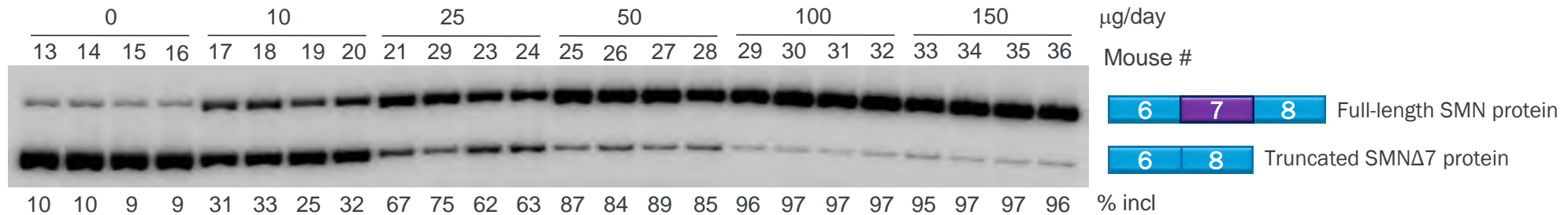
zmieniający składanie SMN2 poprzez wpływ na ISS-N1 (2004)



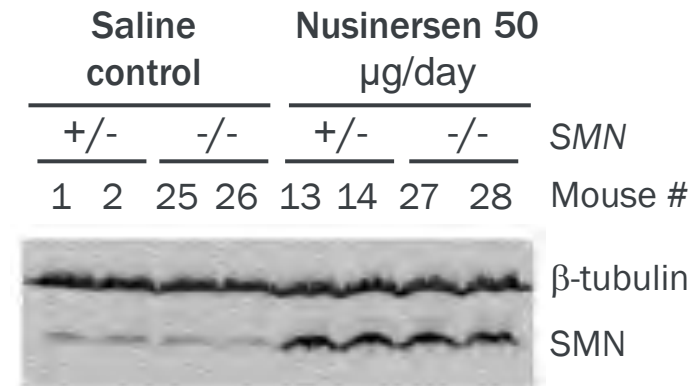
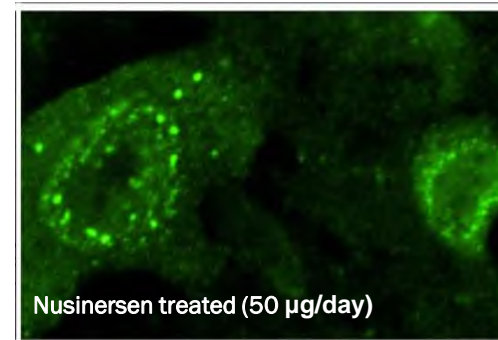
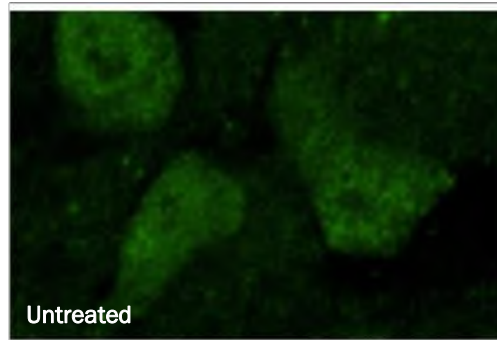
Nusinersen

zmienia składanie SMN2 i podwyższa produkcję pełnowartościowego białka SMN w rdzeniu kręgowym myszy

SMN-targeting ASO promotes a dose-dependent increase in SMN2 splicing

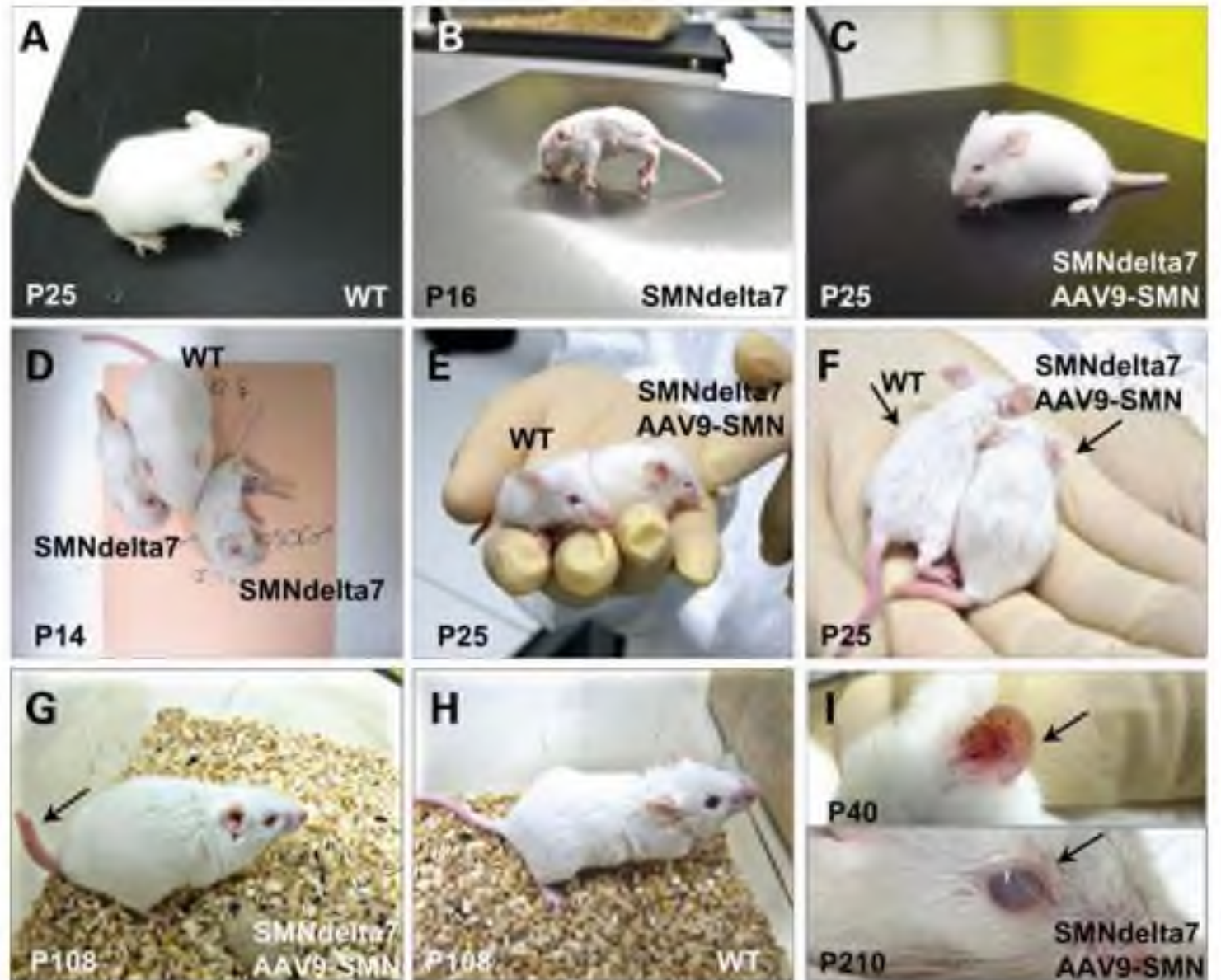


SMN protein in mouse spinal cord



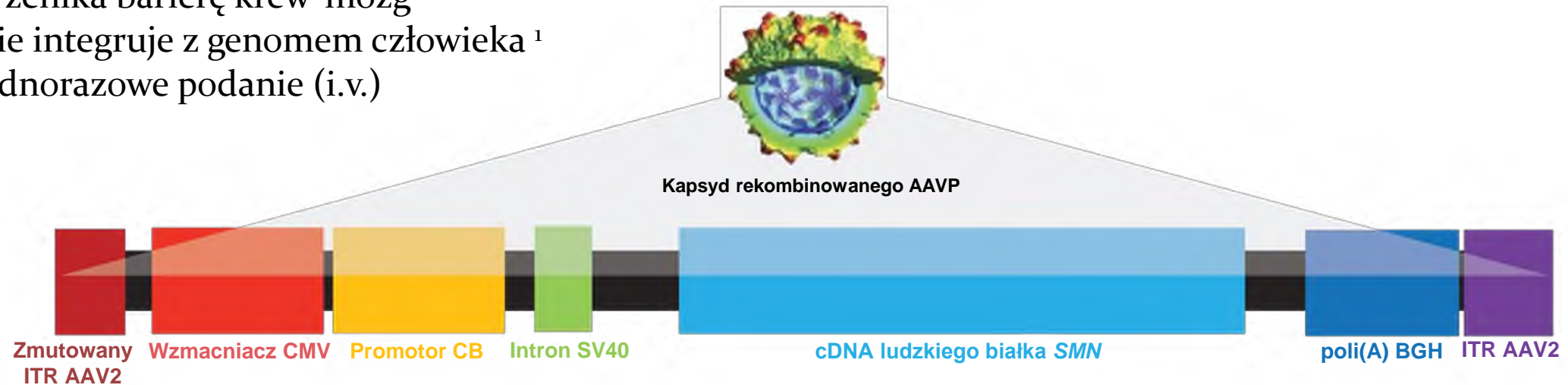
Dożylne podanie scAAV9 z sekwencją ludzkiego *SMN1* ratuje myszy chore na SMA (2011)

- Myszy *Smn* Δ 7 (*SMN2*^{+/+}, *SMN* Δ 7^{+/+}, *Smn*^{-/-}) - ciężki fenotyp, średni wiek przeżycia 13.7 dni
- Dożylne podanie scAAV9-*SMN* zwiększa czas przeżycia średnio do 199 dni (27-340 dni)



Onasemnogene abeparvovec (Zolgensma)

- Ludzki gen *SMN1* podany w kapsydie wirusa AAV
- Przenika barierę krew-mózg
- Nie integruje z genomem człowieka ¹
- Jednorazowe podanie (i.v.)



Ciągły promotor

- Hybrydowy wzmacniacz CMV i promotor CB aktywują transgen, umożliwiając ciągłą i trwałą ekspresję białka SMN.

Ludzki transgen *SMN*

- Pełna kopia stabilnego, funkcjonalnego, ludzkiego genu *SMN*, który zostaje wprowadzony do jądra komórkowego.

ITR scAAV

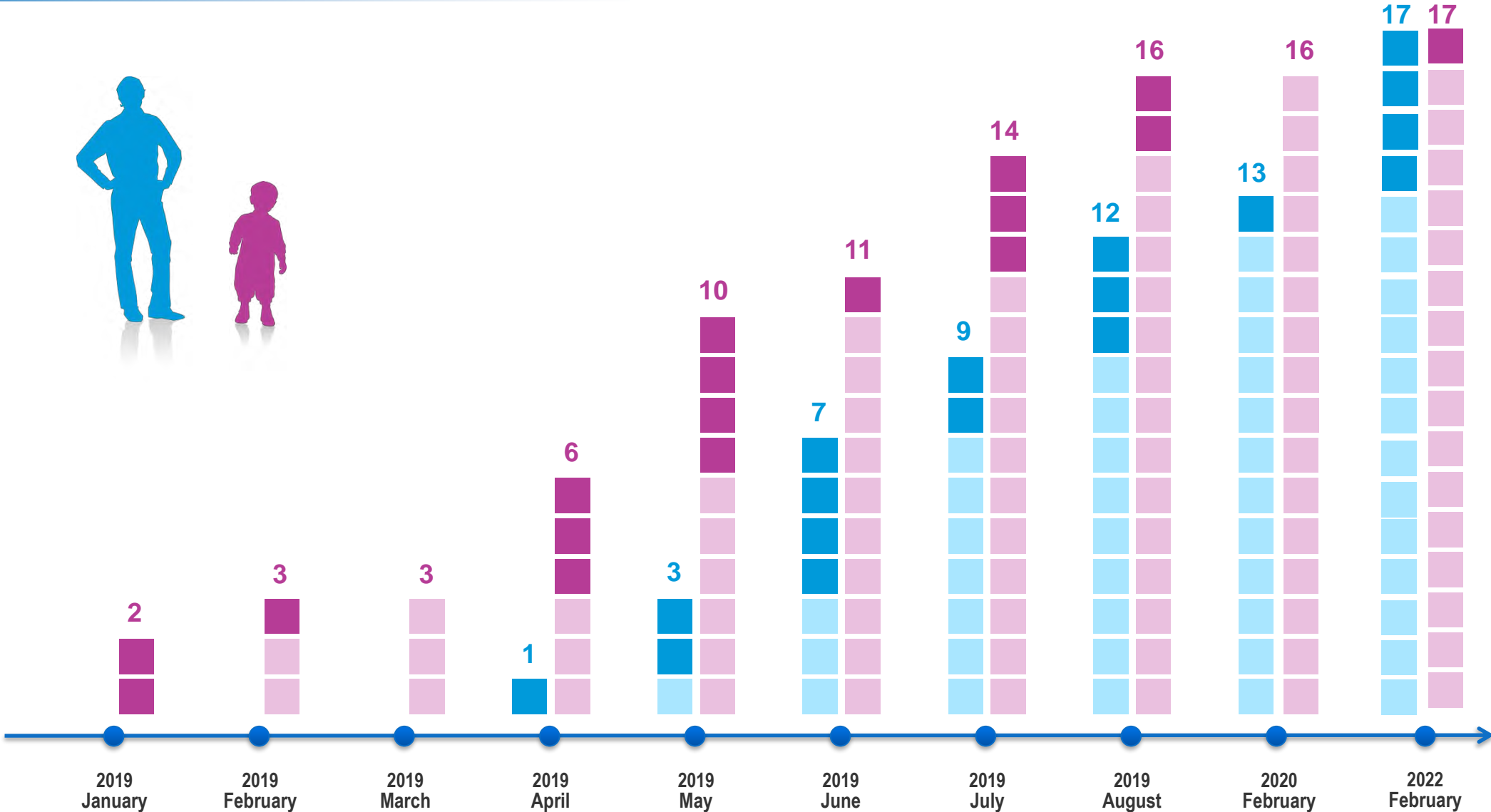
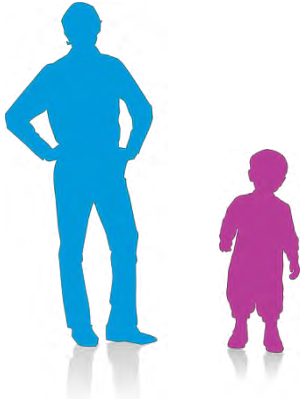
- ITR scAAV zwiększa szybkość, z jaką dwuniciowy transgen ulega transkrypcji, w wyniku czego wytwarzane jest białko.

25 lat po odkryciu podłoża molekularnego choroby dysponujemy 3 lekami modyfikującymi przebieg SMA

Lek	rodzaj leku	działanie	droga podania	dawkowanie	ograniczenia podania			przedobjawowo
					wiek (mż.)	masa (kg)	liczba SMN2	
Nusinersen (Spinraza) 2016	ASO	OUN	ith	6x/rok potem 3x/rok	bo	bo	bo	tak
Onasemnogen abeparwovec (Zolgensma) 2019	terapia genowa	układowe	iv	1 x w życiu	<24 USA <6 PL	<21 UE	≤4 USA ≤3 UE	tak
Rysdyplam (Evrysdi) 2020	mikromolekula	układowe	po	codziennie	>2	bo	≤4	tak

Od 1.09.2022 w Polsce refundacja wszystkich 3 leków

Ośrodki leczące w programie B.102

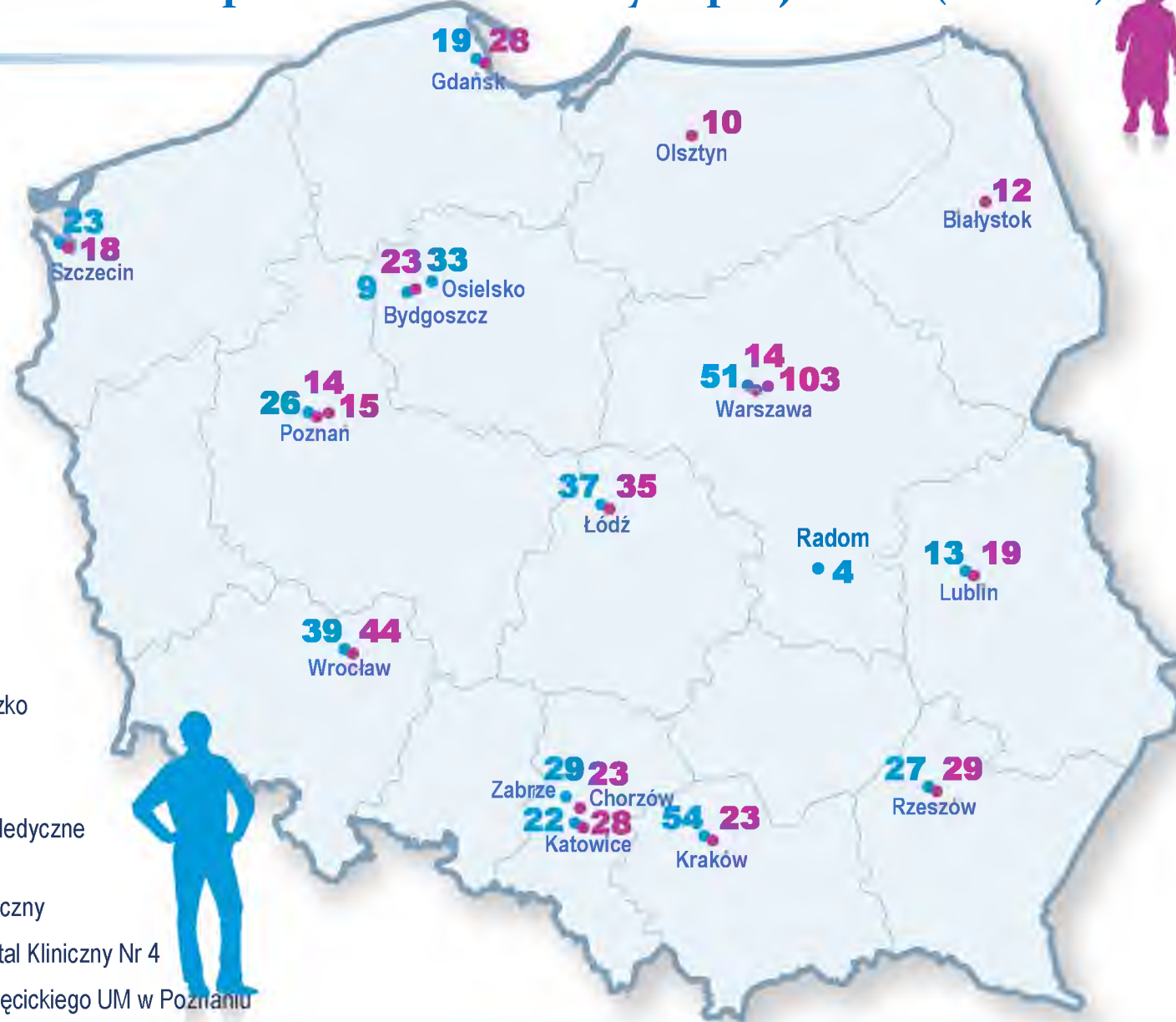


Obecnie >830 pacjentów jest leczonych w Programie Lekowym B.102

Polska jest na I miejscu w Europie w liczbie leczonych pacjentów (10.2022)

DOROŚLI:

- **Osielsko** – Szpital Eskulap
- **Warszawa** – Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM
- **Łódź** – Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika
- **Rzeszów** – KSW Nr 2 im. Św. Jadwigi Królowej
- **Kraków** – Szpital Specjalistyczny im. L. Rydygiera
- **Szczecin** – Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1 PUM
- **Wrocław** – Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. J. Mikulicza-Radeckiego
- **Zabrze** – Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1 im. prof. S. Szyszko ŚUM w Katowicach
- **Gdańsk** – Szpital Św. Wojciecha
- **Katowice** – Górnośląskie Centrum Medyczne im. prof. L. Gieca ŚUM w Katowicach
- **Bydgoszcz** – Wojskowy Szpital Kliniczny
- **Lublin** – Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4
- **Poznań** – Szpital Kliniczny im. H. Święcickiego UM w Poznaniu
- **Radom** - Mazowiecki Szpital Specjalistyczny



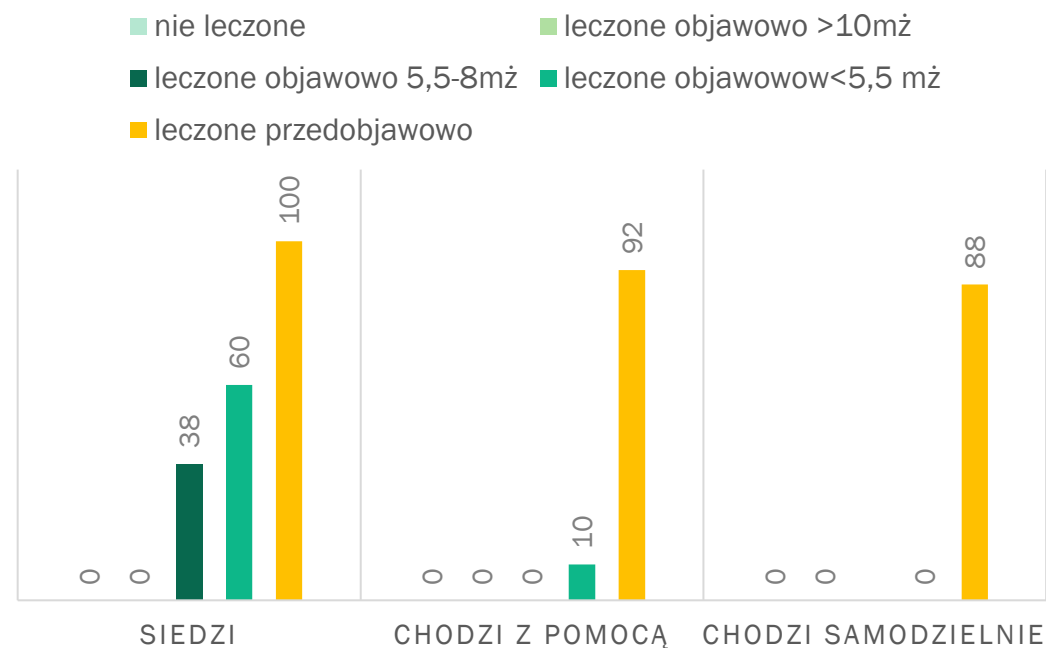
DZIECI:

- **Gdańsk** – Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
- **Warszawa** – Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”
- **Lublin** – Uniwersytecki Szpital Dziecięcy
- **Białystok** – Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny im. L. Zamenhofa
- **Poznań** – Szpital Kliniczny im. K. Jonschera UM w Poznaniu
- **Warszawa** – Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM
- **Wrocław** – Dolnośląski Szpital Specjalistyczny im. T. Marciniaka
- **Kraków** – Uniwersytecki Szpital Dziecięcy
- **Łódź** – Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki”
- **Poznań** – Szpital Kliniczny im. H. Święcickiego UM w Poznaniu
- **Rzeszów** – KSW Nr 2 im. Św. Jadwigi Królowej
- **Bydgoszcz** – Wojewódzki Szpital Dziecięcy im. J. Brudzińskiego
- **Chorzów** – ZSM – Centrum Pediatrii i Onkologii im. dr E. Hankego
- **Katowice** – Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka im. Jana Pawła II
- **Szczecin** – SPSZOZ – Szpital Zdroje
- **Olsztyn** – WSSD im. prof dr. S. Popowskiego

Nusinersen - leczenie przedobjawowe

- Bez leczenia (SMA1)
 - 0% siedzi, 0% chodzi, 75% - niewydolność oddechowa do 13,6 mż¹
- Leczenia objawowe (SMA1) (próba ENDEAR, SHINE)
- Zdolność siedzenia
 - 60% leczonych przed 5.42 mż
 - 38% leczonych 5.42- 7.96 mż
 - 0% leczonych 10.39-22.99 mż²
- Leczenie przedobjawowe (pacjenci z 2 i 3 kopiami) (próba NURTURE)
 - 100% siedzi, 88% chodzi³
 - 16% zaburzenia oddychania (NIV), 12% dzieci- gastrostomia

LECZENIE OBJAWOWE VS PRZEDOBJAWOWE:



Leczenie: wcześniej = lepiej

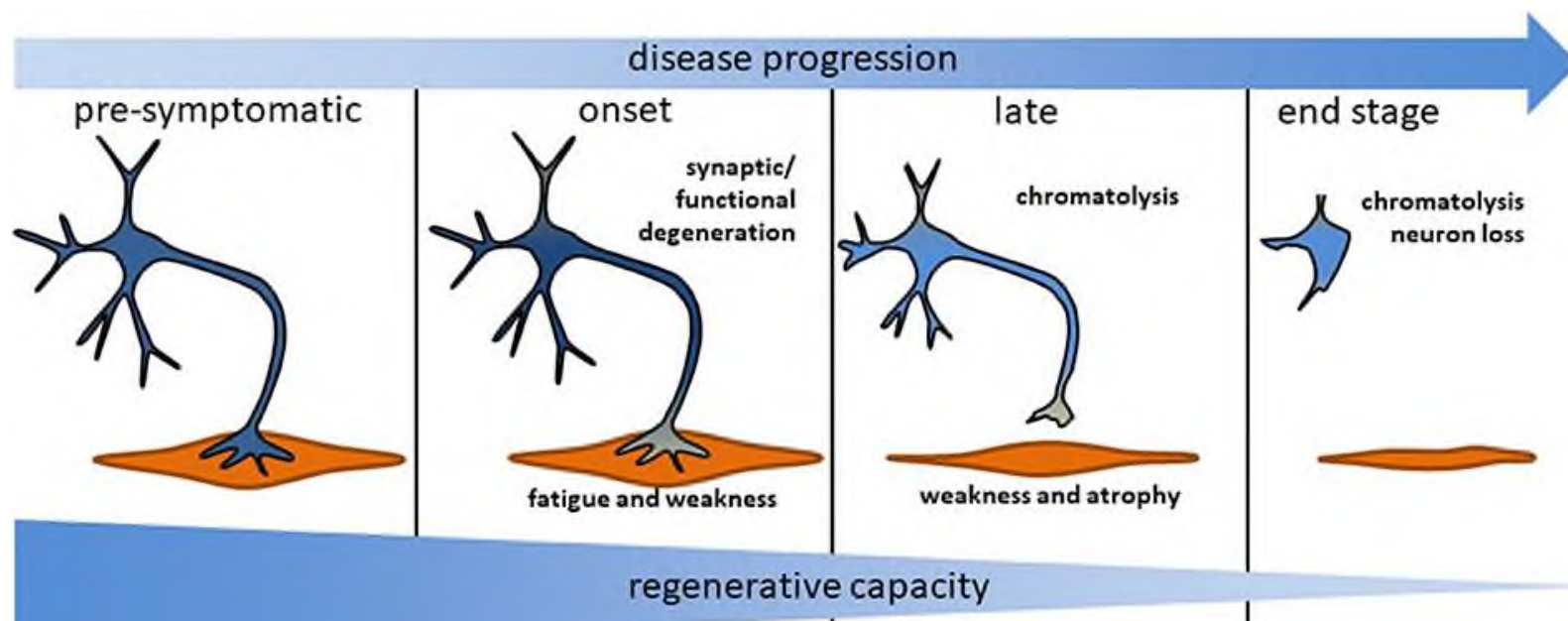
Najlepiej leczyć przedobjawowo

SMA1

- Bez leczenia: **0%** siedzi, **0%** chodzi, **75%** -niewydolność oddechowa do 13,6 mż ¹
- Leczenie objawowe: **0-60%** siedzi (w zależności od wieku włączenia terapii), chodzą pojedynczy pacjenci
- Leczenie przedobjawowe (pacjenci z 2 i 3 kopiami): **100%** siedzi, **60-90%** chodzi

nie jest aż tak
ważne
KTÓRYM
LEKIEM,
ważne KIEDY
leczymy!

„Time is motoneuron”

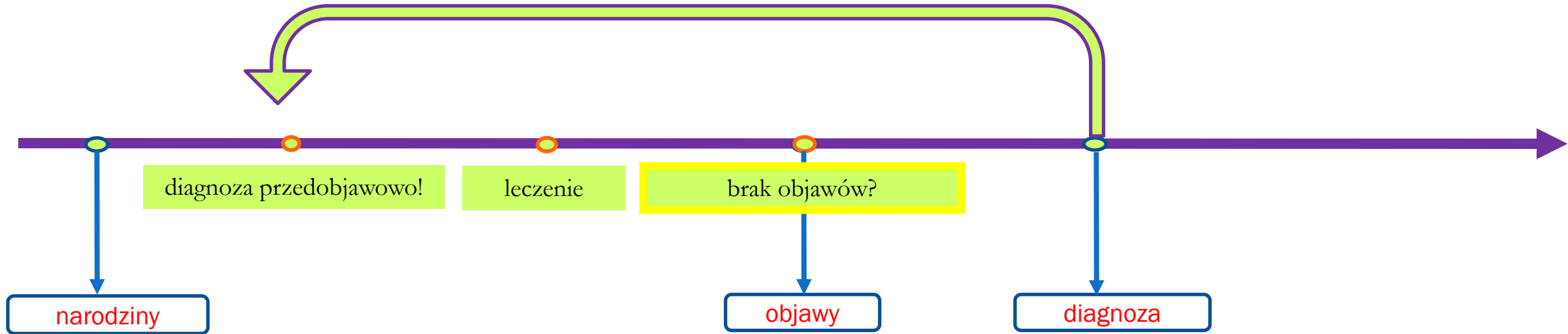


Leczenie - wcześniej = lepiej

Leczyć zanim dojdzie do nieodwracalnej utraty motoneuronów!

Leczyć, kiedy możliwe jest odtworzenie procesów/szlaków SMN- zależnych - czyli jak najwcześniej

wczesna diagnoza = lepsze rokowanie



Im wcześniejsze leczenie, tym lepszy efekt → czy odpowiedzią są badania przesiewowe?

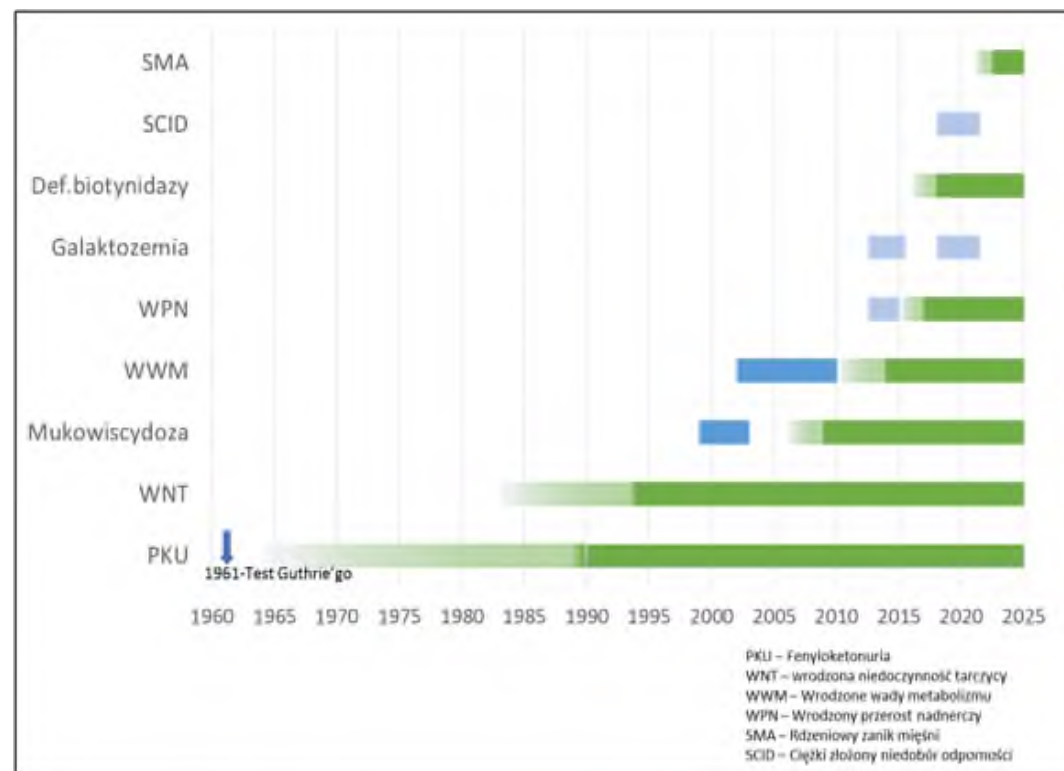
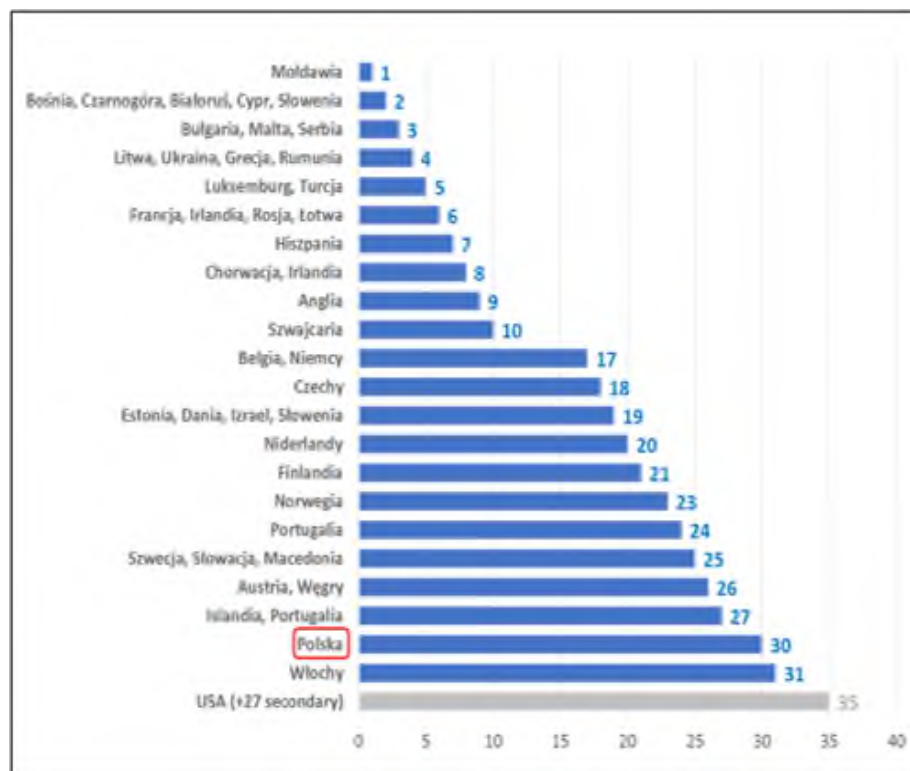
- Czy SMA spełnia kryteria włączenia do programu badań przesiewowych?
Wilson JMG i Jungner G, 1968

Choroba ciężka / prowadząca do śmierci / częsta (Polska 1/8300)	TAK
Istnieje skuteczne leczenie	TAK
Istnieją ośrodki diagnostyczne i terapeutyczne	TAK
w chorobie jest okres przedobjawowy, w trakcie którego podanie leku zapobiegnie rozwojowi choroby	TAK
Istnieje odpowiedni (tani) test diagnostyczny	TAK
Historia naturalna choroby jest dobrze poznana	TAK
Koszt badań populacyjnych ekonomicznie uzasadniony (mniejsze wydatki na leczenie)	TAK
Istnieje program badań przesiewowych, który zapewni ciągłość procesu diagnostycznego	TAK
Jest jasność, kto powinien stać się pacjentem	TAK

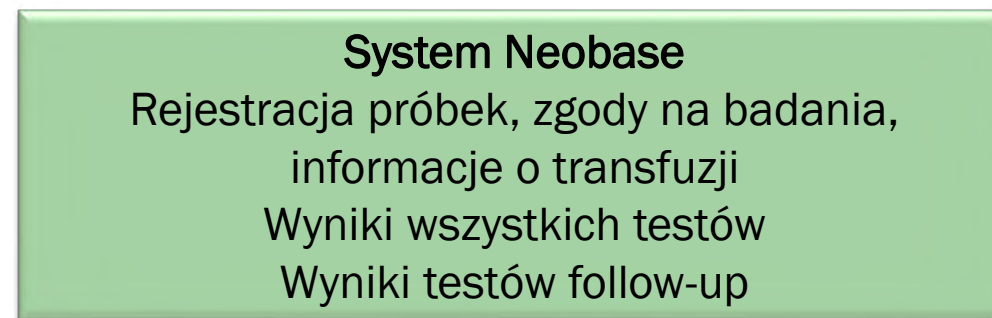


Badania przesiewowe noworodków w Polsce

Program finansowany przez Ministerstwo Zdrowia,
koordynowany przez Instytut Matki i Dziecka
(Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej; kierownik dr M. Ołtarzewski)



Badania przesiewowe noworodków w Polsce



Przesiew noworodkowy w kierunku SMA



Przesiew noworodkowy w kierunku SMA

Kraj	Test przesiewowy	Test weryfikacyjny	Wyniki pozytywne / ogółem (FP)	Częstość	Źródło
Niemcy	qPCR	MLPA	43/297163	1/6911	Vill K i wsp. 2021
Australia, pilotaż	qPCR	MLPA + ddPCR (SMN2)	22/252081 (1)	1/11458	Kariyawasam DST i wsp. 2020; D'Silva AM i wsp. 2022
USA, pilotaż Nowy Jork	qPCR	Sanger	1/3826	1/3826	Kraszewski JN i wsp. 2018
USA, stan Nowy Jork – 1 rok	qPCR	b.d.	8/225093	1/28137	Kay DM i wsp. 2020
USA, stan Nowy Jork – 3 lata	qPCR	qPCR, ddPCR	34/650000	1/19118	Lee BH i wsp. 2022
USA, stan Massachusetts	qPCR	qPCR (c.840C/T + c.888+100A/C); Sanger	9/179467 (1)	1/19941	Hale JE i wsp. 2021
USA, wszystkie stany	qPCR	qPCR, ddPCR, MLPA	180/2395718 (10)	1/13309	Hale K i wsp. 2021
Kanada	MASSArray	MLPA	5/139800	1/27960	Kernohan KD i wsp. 2021
Belgia	qPCR	MLPA	9/136339	1/15149	Boemer F i wsp. 2021
Włochy	qPCR	qPCR	12/58558	1/4880	
Japonia	qPCR	MLPA	0/22209	-	Dangouloff T i wsp. 2021
Rosja	qPCR	MLPA	0/12000	-	
Tajwan	qPCR	MLPA, ddPCR	15/120267 (8)	1/8018	Chien YH i wsp. 2017
Chiny	MASSArray	MLPA	3/29364	1/9788	Lin Y i wsp. 2019
Łotwa	qPCR	qPCR, MLPA	2/10411	1/5206	Gailite L i wsp. 2022

Analiza farmakoekonomiczna - wprowadzenie przesiewu noworodkowego obniża koszty opieki nad pacjentami, w sytuacji gdy dostępne jest leczenie celowane (Jalali A i wsp. 2020, Shih S i wsp. 2021)

Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA



MZ - 12.2020 (02.2021)

Umowa - 03.2021

Oficjalny start: 19.04.2022

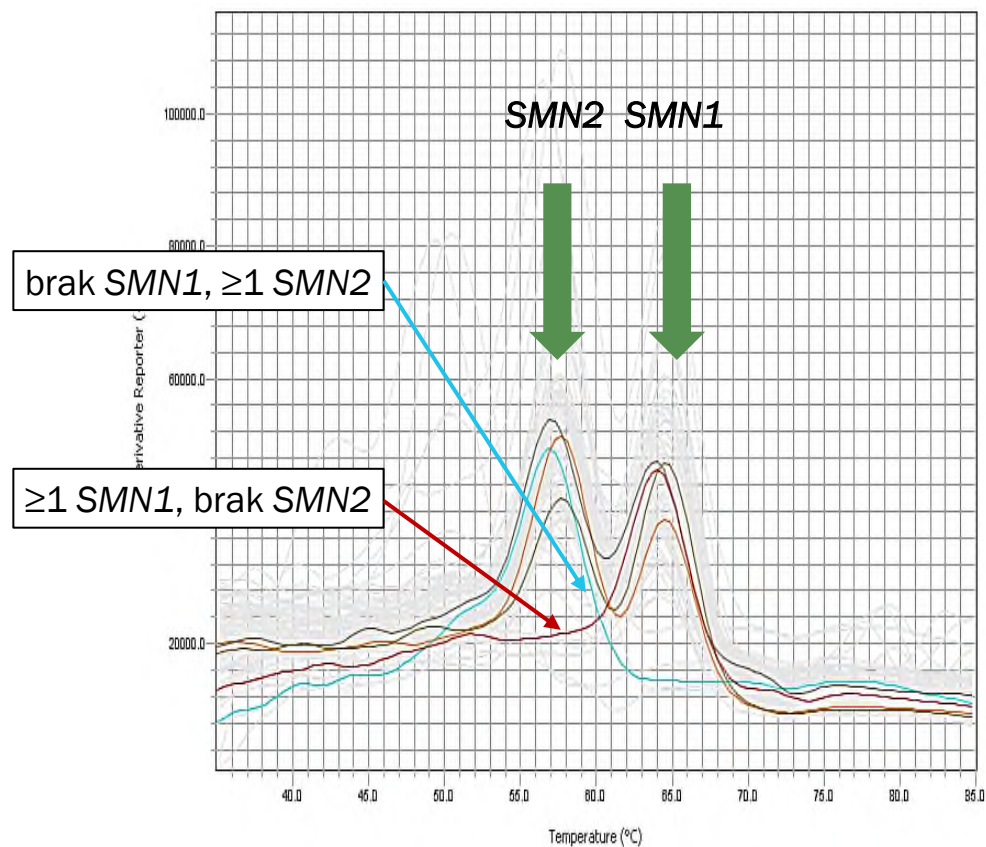
Badanie genetyczne

ZGODA na wykonanie
badania molekularnego

Poprawne dane kontaktowe
Informacja o transfuzji
Informacja o SMA w rodzinie

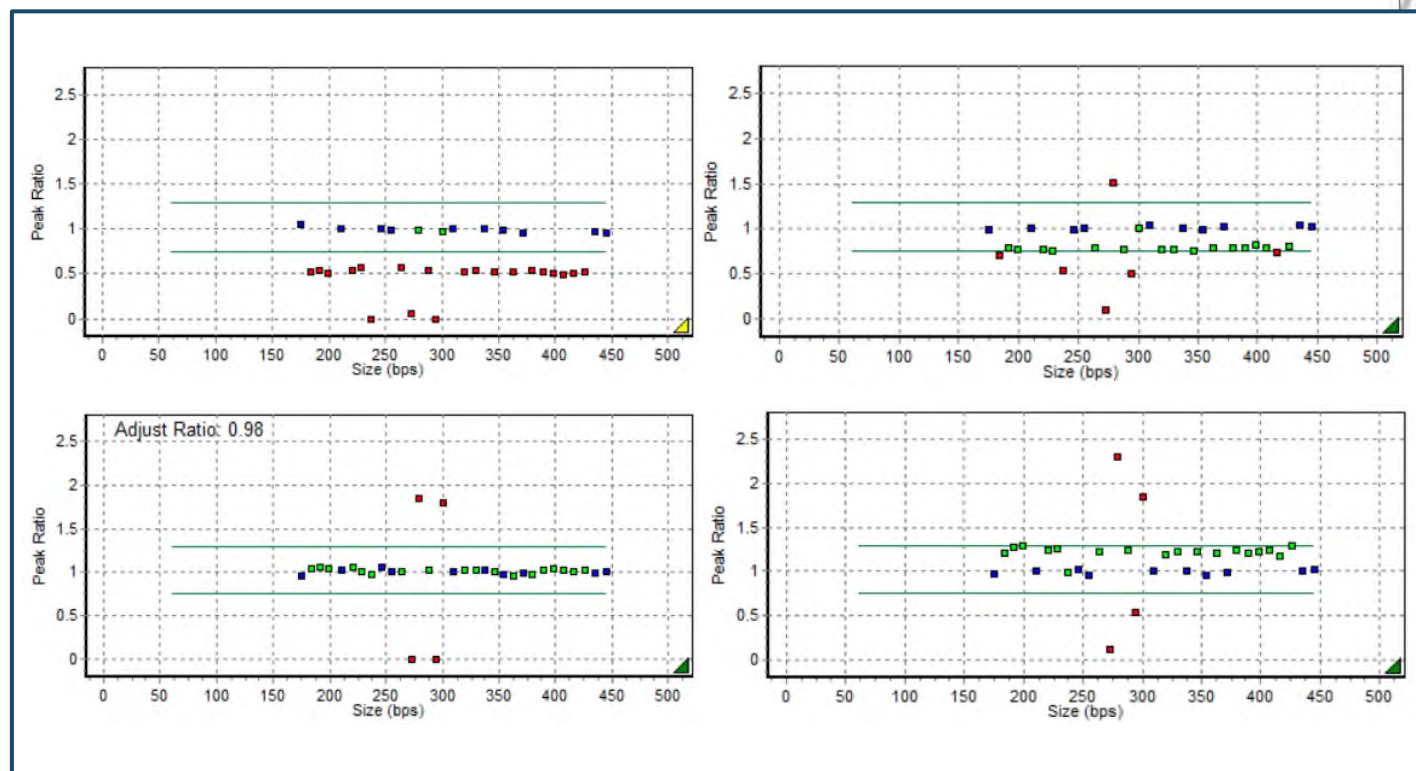
Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA

Test I - PCR-HRM



**TYLKO HOMOZYGOTYCZNA DELECJA
EKSONU 7 GENU SMN1 LUB SMN2**

Test II - MLPA



LICZBA KOPII SMN1 i SMN2

Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA

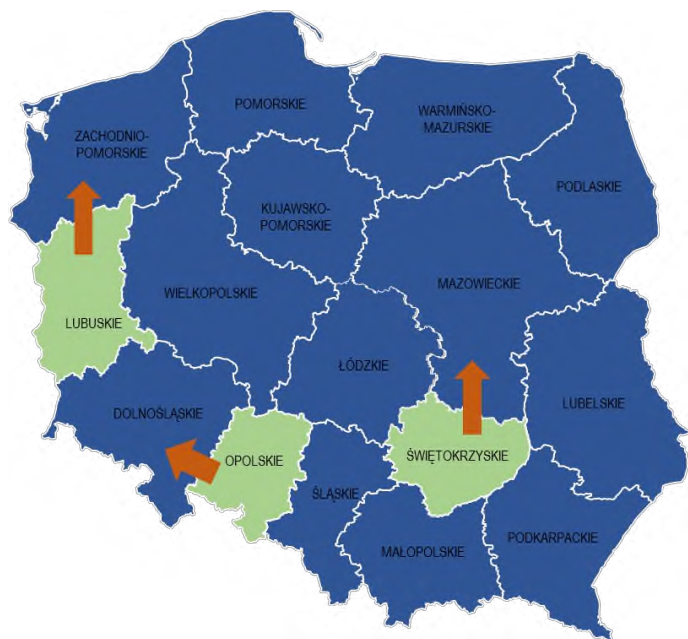
**Wezwanie pacjenta
do ośrodka leczącego
(wstępny wynik badania)**



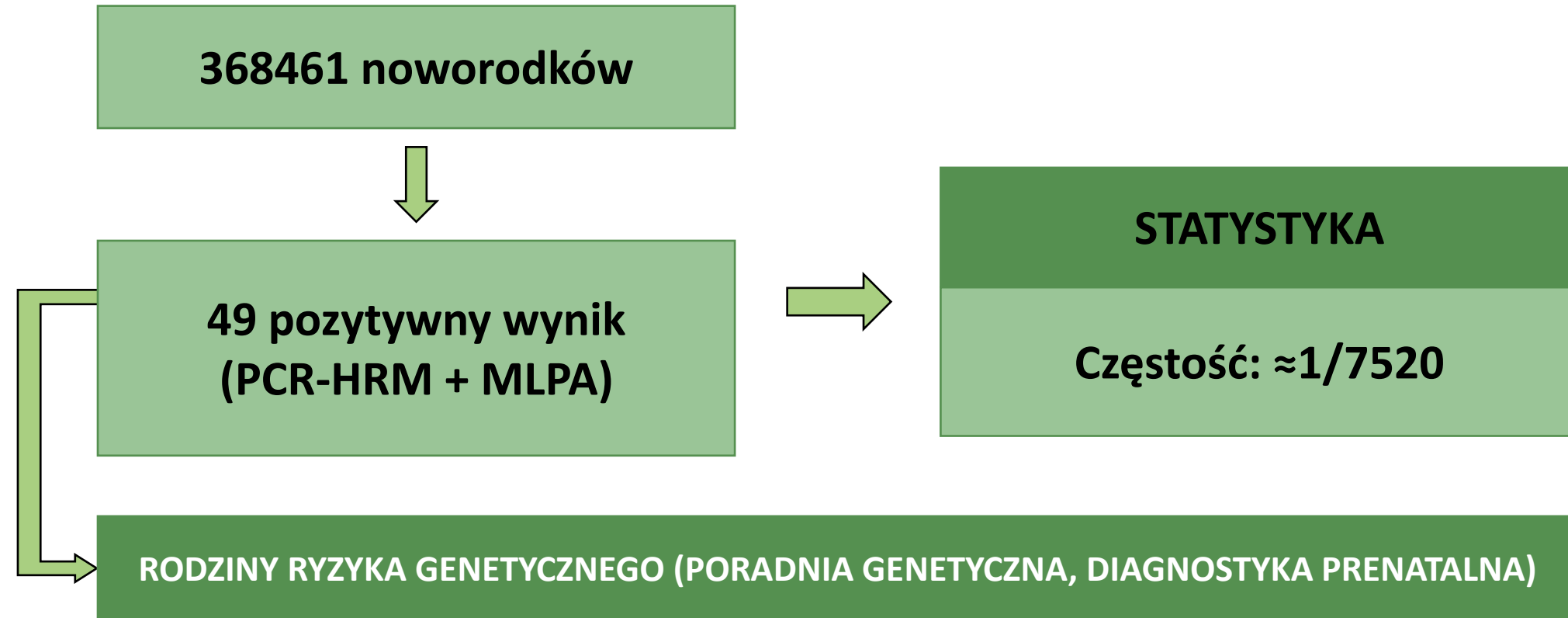
Ocena kliniczna
Pobranie próbki krwi na badanie
weryfikujące metodą MLPA
(Zakład Genetyki Medycznej IMiD)



**Po weryfikacji wyniku, dalsze
postępowanie zależy od liczby
kopii genu *SMN2* i stanu pacjenta**

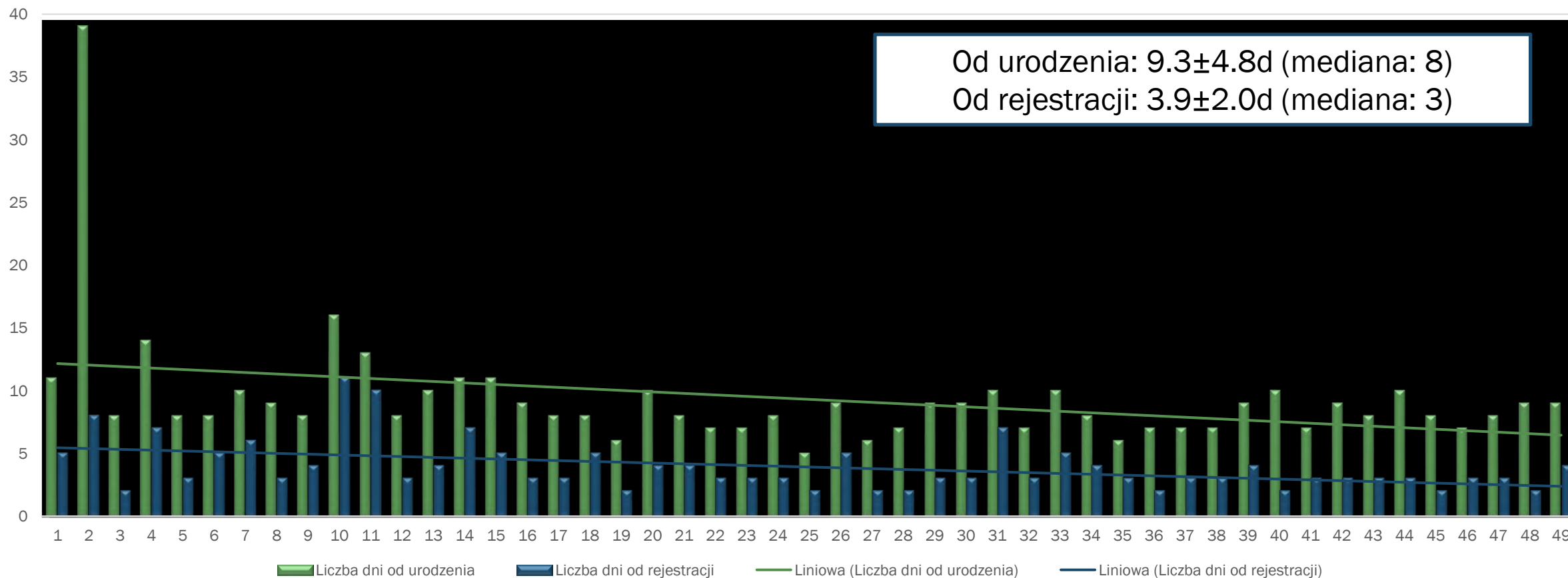


Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA



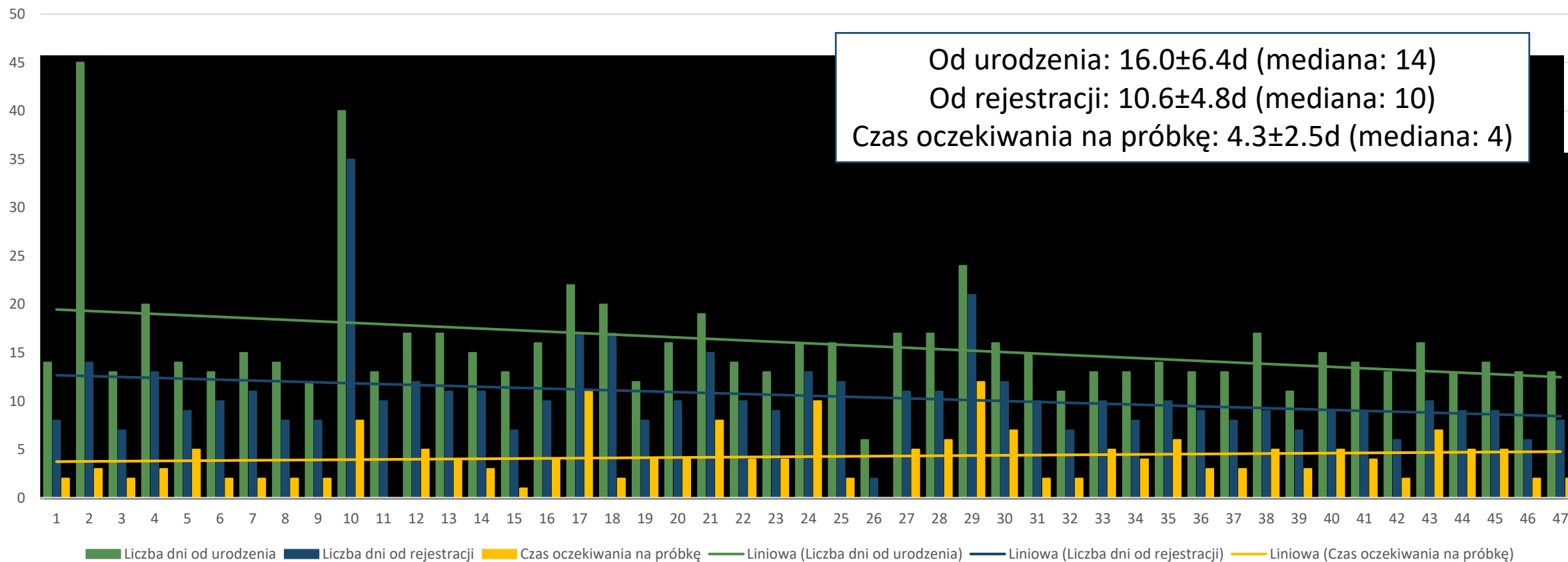
Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA

Czas oczekiwania na wynik badania wstępnego

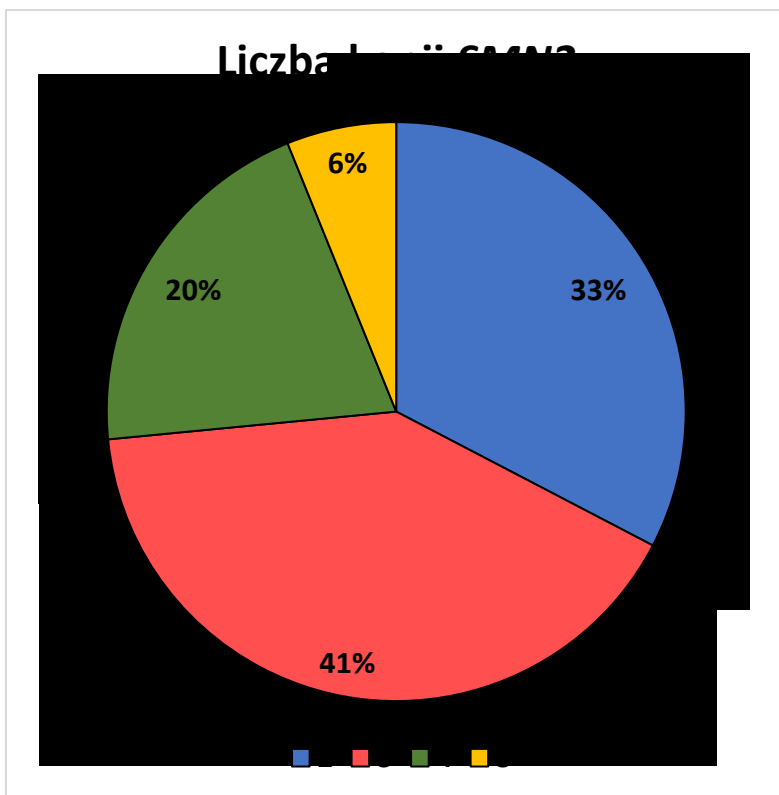


Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA

Czas oczekiwania na wynik badania weryfikacyjnego



Badanie przesiewowe noworodków w kierunku SMA



SMN2	Rokowanie	Zalecany sposób postępowania
1	Złe, niezależnie od podjętego leczenia	Podjęcie leczenia vs opieka paliatywna do decyzji rodziców i lekarza prowadzącego
2-3	Rokowanie zależy od szybkości włączenia leczenia	Konieczne jak najszybsze podjęcie leczenia
≥4	Z dużym prawdopodobieństwem odroczone w czasie początek choroby (średni wiek zachorowania > 6 lat)	Monitorowanie w ramach krótkich hospitalizacji/opieki ambulatoryjnej w ośrodku prowadzącym leczenie: 1. wizyty co 3-6msc do 2 r.ż., potem co 6-12msc; 2. metody monitorowania: badanie kliniczne, skale funkcjonalne (niemowlęta: CHOP Intend i HINE, dzieci >2rż: HFMSE, 6MWT), CMAP, do rozważenia miometria >4rż 3. w przypadku każdego odchylenia: pogorszenia w badaniu klinicznym/ testach funkcjonalnych/badaniach elektrofizjologicznych podjąć leczenie

Wyzwania

- Nowe fenotypy (zmiana historii naturalnej SMA)
- Nowe problemy medyczne
- Nieznany długoterminowy efekt działania nowych terapii
- Odpowiedź na leczenie - dlaczego u niektórych jest nieskuteczne?
- Specyficzny lek dla konkretnego pacjenta?
- Nowe biomarkery!



Dlaczego udało się w SMA? Klucze sukcesu

- SMA – jedna z **najczęstszych** i **najcięższych** chorób genetycznie uwarunkowanych
- Homogenne podłoże genetyczne – **szybka** i relatywnie **tania diagnostyka**
- **Dobre modele zwierzęce**
- **Obecność SMN2** – cel leczenia
- **Oba geny SMN** produkują **identyczne białko**
- **Małe cDNA SMN** (mieści się w wektorze scAAV).
- Szybka progresja w SMA1 stopowana leczeniem
- **Szybka implementacja NBS** umożliwiła leczenie przedobjawowe
- Aktywne grupy pacjneckie inicjujące i wspierające wiele badań podstawowych



Kluczowa rola organizacji pacjenckich

- Cure SMA
 - „more than 115 000 members and supporters...provided direct services to several thousand families”¹
 - „Cure SMA has invested more than **\$62 million** in research and has funded half of all the ongoing new drug programs for SMA, including Spinraza”¹
- Fundacja SMA²



Czy SMA utoruje drogę innym chorobom rzadkim?

Doświadczenia płynące z SMA – warunki konieczne:

- Rozwój badań podstawowych
- Dostępność do diagnostyki genetycznej
- Znajomość historii naturalnej choroby
- Międzynarodowe bazy chorób rzadkich
- Standardy opieki
- Wspieranie organizacji pacjenckich



Podziękowania

Prof. Jerzy Bal
Prof. Tadeusz Mazurczak
Dr Wojciech Wiszniewski
Dr Michał Milewski
*Zakład Genetyki Medycznej
Instytut Matki i Dziecka w Warszawie*



Dr Mariusz Ołtarzewski
*Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej
Instytut Matki i Dziecka w Warszawie*
mgr Joanna Wasiluk, mgr Magdalena Frączyk, mgr Aleksandra Landowska, mgr Mariola Jurzyk, mgr Katarzyna Durda (Szczecin), mgr Natalia Szczerba (Szczecin), mgr Wioletta Wawer, mgr Joanna Gzowska, mgr Paulina Kubiszyn, mgr Jessica Wieczorek, mgr Liliia Nosarieva



Prof. Irena Hausmanowa-Petrusewicz †
Prof. Anna Fidziańska †
Dr Janina Borkowska
Dr Agnieszka Madej-Pilarczyk
*Zespół Nerwowo-Mięśniowy
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN*



Prof. Jacek Zaremba
Dr Janusz Zimowski
*Zakład Genetyki
Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie*



Prof. Anna Kostera-Pruszczyk
Dr Anna Łusakowska
Dr Barbara Ryniewicz
Dr A. Potulska-Chromik
Dr B. Kierdaszuk
Dr M. Lipowska
*Klinika Neurologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny*



*I wszystkim zaangażowanym
w leczenie i opiekę nad pacjentami z SMA...*

