



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*“Εξελίξεις της Γονιδιακής Θεραπείας στη Νωτιαία Μυϊκή
Ατροφία”*

Χρυσάνθη-Αγγελική Σαλαγιάννη

A.M.: 20190805

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2021



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*“Εξελίξεις της Γονιδιακής Θεραπείας στη Νωτιαία Μυϊκή
Ατροφία”*

Χρυσάνθη-Αγγελική Σαλαγιάννη

A.M.:20190805

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Μαρία Τζέτη (Επιβλέπουσα)

Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Κυριακή Κέκου

Μέλος Ε.ΔΙ.Π., Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Μυρτώ Πούλου

Πανεπιστημιακός Υπότροφος-PhD, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2021



HELLENIC REPUBLIC

**National and Kapodistrian
University of Athens**

— EST. 1837 —

School of Health Sciences

Department of Medicine

MASTER PROGRAM IN

“Medical Genetics: Clinic & Laboratory Direction”

MASTER THESIS

“Gene Therapy Evolutions in Spinal Muscular Atrophy”

Chrisanthi-Angeliki Salagianni

Register Number: 20190805

Examining Board Members

Maria Tzetis (Supervisor)

Professor of Genetics, Medical School, NKUA (EKIIA)

Kiriaki Kekou (Supervisor)

Member of Laboratory Teaching Personnel (E.ΔΙ.Π.), Medical School, NKUA (EKIIA)

Myrto Poulou (Supervisor)

Post-graduate researcher-PhD, Medical School, NKUA (EKIIA)

Athens

September, 2021

[3]



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΒΕΒΑΙΩΣΗ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

«Δηλώνω υπεύθυνα ότι η συγκεκριμένη Διπλωματική Εργασία με τίτλο: “Η Εξέλιξη της Γονιδιακής Θεραπείας στη Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία” για τη λήψη του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών του Π.Μ.Σ. **“ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”**, της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, έχει συγγραφεί από εμένα προσωπικά και δεν έχει υποβληθεί ούτε έχει εγκριθεί στο πλαίσιο κάποιου άλλου μεταπτυχιακού ή προπτυχιακού τίτλου σπουδών, στην Ελλάδα ή στο εξωτερικό. Η εργασία αυτή αντιπροσωπεύει τις προσωπικές μου απόψεις επί του θέματος. Κατά τη συγγραφή, ακολούθησα την πρέπουσα ακαδημαϊκή δεοντολογία. Οι πηγές στις οποίες ανέτρεξα για την εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής αναφέρονται στο σύνολό τους, δίνοντας πλήρεις αναφορές στους συγγραφείς, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Έχω επίσης αποφύγει οποιαδήποτε ενέργεια που συνιστά παράπτωμα λογοκλοπής. Γνωρίζω ότι η λογοκλοπή μπορεί να επισύρει ποινή ανάκλησης του πτυχίου μου. Σε κάθε περίπτωση, αναληθούς ή ανακριβούς δηλώσεως, υπόκειμαι στις συνέπειες που προβλέπονται στον Κανονισμό Σπουδών του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών στην “ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”, και στις διατάξεις που προβλέπει η Ελληνική και Κοινοτική Νομοθεσία περί πνευματικής ιδιοκτησίας».

Η ΔΗΛΟΥΣΑ

Υπογραφή:

Όνοματεπώνυμο: Χρυσάνθη Αγγελική Σαλαγιάννη

Αριθμός Μητρώου: 20190805

© [2021]

Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

[Χρυσάνθη - Αγγελική Σαλαγιάννη, Βιολόγος]

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. “ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ” αποτελεί συνιδιοκτησία του ΕΚΠΑ και της φοιτήτριας, ο/η καθένας/μια από τους/τις οποίους/ες έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης και αναπαραγωγής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και τον/την συγγραφέα και το ΕΚΠΑ όπου εκπονήθηκε η Διπλωματική Εργασία καθώς και τον Επιβλέποντα και την άλλα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί διπλωματική εργασία στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση» του τμήματος Ιατρικής ΕΚΠΑ.

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ορισμένους από τους ανθρώπους που έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην πραγματοποίησή της.

Ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια Γενετικής της Ιατρικής Σχολής Αθηνών και επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας κυρία Τζέτη Μαρία, την Βιολόγο PhD και μέλος Ε.ΔΙ.Π. του εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής του ΕΚΠΑ κυρία Κέκου Κυριακή και την PhD, Πανεπιστημιακό Υπότροφο του εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής ΕΚΠΑ κυρία Πούλου Μυρτώ, για τη συμβολή, την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές τους που πραγματικά συνέβαλαν ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Διευθύντρια του συγκεκριμένου Μεταπτυχιακού Προγράμματος την Καθηγήτρια Γενετικής της Ιατρικής Σχολής Αθηνών κυρία Συνοδινού-Traeger Jan, αλλά και όλους τους ομιλητές των διαλέξεων γιατί με την παρουσία τους μου δόθηκε η ευκαιρία να λάβω όλες τις απαραίτητες γνώσεις, τόσο για την εκπόνηση της Διπλωματικής μου εργασίας, όσο και για τη μετέπειτα πορεία μου.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου Σαλαγιάννη Αθανάσιο και Σπανομαρκίδου Ζωή, στον αδερφό μου Μιχαήλ, καθώς και στη γιαγιά μου Αγγελική, για όλη τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους καθ' όλη τη διάρκεια σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	10
ABSTRACT.....	11
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	12
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	14
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	18
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	19
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	21
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΝΩΤΙΑΙΑ ΜΥΙΚΗ ΑΤΡΟΦΙΑ.....	21
1.1 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΜΥΙΚΗΣ ΑΤΡΟΦΙΑΣ.....	21
1.2 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	27
1.2.1. Αναπνευστικές επιπλοκές.....	27
1.2.2. Ορθοπεδικά και Μυοσκελετικά προβλήματα	27
1.2.3. Γαστρεντερικές και Διατροφικές επιπλοκές	28
1.3 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΜΥΙΚΗΣ ΑΤΡΟΦΙΑΣ.....	28
1.4 ΠΡΩΤΕΙΝΗ.....	31
1.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	33
1.5.1. Διαγνωστικά κριτήρια	33
1.5.2. Βιοχημικός έλεγχος	34
1.5.3. Βιοψία μύος.....	34
1.5.4. Μοριακή Διάγνωση.....	34
1.5.5. Διαφορική Διάγνωση.....	35
1.6 ΑΝΑΚΟΥΦΙΣΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ	37
1.6.1. Αναπνευστικές παρεμβάσεις	37
1.6.2. Μυοσκελετικές και ορθοπεδικές παρεμβάσεις	38
1.6.3. Γαστρεντερικές και Διατροφικές παρεμβάσεις.....	39
1.7 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ	39
1.7.1. Nusinersen (Spinraza TM).....	39

1.7.2. <i>Risdiplam (Evrysdi™)</i>	41
1.8 ΠΡΟΛΗΨΗ	42
1.8.1. <i>Έλεγχος φορέας</i>	42
1.9 ΝΕΟΓΝΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	44
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	46
2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ	46
2.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	46
2.3 ΣΤΟΧΟΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ	48
2.4 ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ	49
2.5 ΤΥΠΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ	50
2.6 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΟΡΕΩΝ.....	52
2.6.1. <i>Ιικοί Φορείς</i>	53
2.6.2. <i>Μη Ιικοί Φορείς</i>	54
2.7 ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗ ΝΩΤΙΑΙΑ ΜΥΪΚΗ ΑΤΡΟΦΙΑ	55
2.7.1. <i>Onasemnogene abeparvovec (Zolgensma®)</i>	55
3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΣΚΟΠΟΣ	59
3.1 ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ.....	59
4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	61
4.1 ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	61
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	63
5.1 START	63
5.1.1. <i>Επίδραση της ηλικίας και της κινητικής λειτουργίας</i>	64
5.1.2. <i>Σύγκριση αποτελεσμάτων χορήγησης AVXS-101 και Nusinersen..</i>	65
5.2 LONG-TERM FOLLOW-UP STUDY FOR PATIENTS FROM AVXS-101-CL-101 (START)	67
5.3 STRIVE.....	67
5.4 STRIVE- EU.....	68
5.5 SPRINT	69
5.6 STRONG.....	70
5.7 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΗΠΙΑΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΥΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ AVXS-101 ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ SMA.....	71
5.8 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΧΟΡΗΓΗΣΗΣ SPINRAZA ΜΕ ZOLGENSMA	71

6.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	74
6.1	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	74
6.2	ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ	74
6.3	ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	75
6.4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	77
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	79

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (Spinal Muscular Atrophy) είναι μία νευρομυϊκή διαταραχή που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο. Χαρακτηρίζεται από τον εκφυλισμό των πρόσθιων κεράτων των άλφα κινητικών νευρώνων του νωτιαίου μυελού με αποτέλεσμα τη συμμετρική μυϊκή αδυναμία και ατροφία των κινητικών μυών, ενώ σπάνια εμπλέκονται άλλα όργανα ή άλλο τμήμα του νευρικού συστήματος. Η συχνότητα της ετησίως εκτιμάται σε 1/10.000 γεννήσεις παγκοσμίως. Η συχνότητα φορέων Καυκάσιας φυλής υπολογίζεται σε 1/35 και στους Αφροαμερικάνους σε 1/91. Στην Ελλάδα αποτελεί το τρίτο πιο συχνό γενετικό νόσημα. Οι ασθενείς ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου και την ηλικία εκδήλωσης συμπτωμάτων κατατάσσονται σε 5 τύπους με τον τύπο SMA 0 και SMA I να αποτελούν τους τύπους με την πιο βαριά κλινική εικόνα. Το 95% των περιπτώσεων της SMA οφείλονται στην ομόζυγη έλλειψη των εξωνίων 7 ή/και 8 του γονιδίου *SMN1* το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της πρωτεΐνης SMN, το υπόλοιπο 5% οφείλεται σε σημειακές παραλλαγές. Στο 98% των περιπτώσεων το παθολογικό γονίδιο κληρονομείται από προηγούμενες γενιές, ενώ στο ~2% των περιπτώσεων μπορεί να εμφανιστεί η παραλλαγή για πρώτη φορά (*de novo*). Ένα δεύτερο *SMN* γονίδιο, το *SMN2* τροποποιεί τη βαρύτητα της SMA. Συγκεκριμένα υπάρχει μία αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της βαρύτητας της νόσου και του αριθμού των αντιγράφων του γονιδίου *SMN2*. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η έγκαιρη διάγνωση είναι απαραίτητη για την πρόληψη της νόσου. Διεξάγεται μέσω εντοπισμού των φορέων σε οικογένειες με ιστορικό νόσου ή στο γενικό πληθυσμό και εφαρμογή προγεννητικού ελέγχου ή προεμφυτευτικής διάγνωσης. Στους ασθενείς με SMA παρέχονται συγκεκριμένα θεραπευτικά πρωτόκολλα με ανακουφιστικές και γενετικές παρεμβάσεις και στόχο τη βελτίωση της ποιότητας ζωής. Από τις πιο σημαντικές εξελίξεις για παιδιά με SMA μετά την έγκριση της πρώτης γενετικής θεραπείας με το σκεύασμα Nusinersen, ήταν η έγκριση από τον FDA, το 2019, της πρώτης γονιδιακής θεραπείας με το onasemnogene abernarvovec-xioi (εμπορική ονομασία Zolgensma). Σύμφωνα με τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση προσδόκιμου επιβίωσης στην πλειοψηφία των παιδιών με SMA που τους χορηγήθηκε το zolgensma. Διαπιστώθηκε ότι η έγκαιρη θεραπεία σε προσυμπτωματικούς ασθενείς, είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη επιβίωση και βελτιωμένη κινητική λειτουργία σε σύγκριση με συμπτωματικούς ασθενείς. Επίσης, μέσω έμμεσης σύγκρισης του nusinersen με το zolgensma διαπιστώθηκε ότι το δεύτερο φαίνεται να εμφανίζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα αναφορικά με την επιβίωση και την κινητική λειτουργία. Τέλος, εξετάστηκε ο κίνδυνος ηπατοτοξικότητας με τη χορήγηση zolgensma και διαπιστώθηκε ότι μπορεί να μειωθεί με την κατάλληλη ιατρική παρακολούθηση και παρέμβαση. Εν κατακλείδι, παρόλο που υπάρχει ένα μεγάλο άλμα στη θεραπευτική αντιμετώπιση της SMA, δεν έχει κατορθωθεί η ίαση της. Προς το παρόν η καλύτερη θεραπευτική αντιμετώπιση είναι η πρόληψη.

Λέξεις κλειδιά: Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία, πρόληψη, διάγνωση, γονιδιακή θεραπεία, onasemnogene abernarvovec-xioi, ποιότητα ζωής

ABSTRACT

Spinal muscular atrophy is a neuromuscular disorder with an autosomal recessive mode of inheritance. It is characterized by degeneration of the anterior horns, the alpha neurons of the spinal cord resulting in symmetrical muscle weakness and atrophy of the motor muscles, while other organs or other parts of the nervous system are rarely involved. Its frequency is estimated at 1/10.000 births worldwide. The incidence of Caucasian carriers is estimated at 1/35 and in African Americans at 1/91. In Greece it is the third most common genetic disease. Patients, according to the severity of the disease and the age of onset of symptoms, are classified into 5 subcategories. The type SMA 0 and SMA I are the types with the most severe clinical picture. It is reported that 95% of SMA cases are due to the homogeneous deletions of exons 7 and/ or 8 of the *SMN1* gene which is responsible for the production of SMN protein, while 5% of pathogenic variants are caused by single nucleotide variations (SNVs). In the 98% of the cases the pathogenic variant is inherited, while in 2% the cases it is not inherited and therefore considered *de novo*. A second *SMN* gene, *SMN2*, modifies the severity of SMA. In particular, there is an inverse relationship between the severity of the disease and the number of copies of the *SMN2* gene. Given the above, early diagnosis is essential for the prevention of the disease. Early diagnosis can be performed through prenatal screening or preimplantation diagnosis (in cases of IVF), and carrier detection of carriers in families with a history of disease or the general population. Additionally after the birth of an affected child early diagnosis is essential for treatment protocols provided to individuals with SMA aimed at improving their quality of life. One of the most important developments for children with SMA, after the approval of the first genetic treatment with Nusinersen, was in 2019, the approval by the FDA of the first gene therapy with the preparation onasemnogene abeparvovec-xioi (Zolgensma). According to the results so far, there has been a significant increase in life expectancy in the majority of children with SMA that were given zolgensma. Early treatment with zolgensma in pre-symptomatic patients was found to result in greater survival and improved cognitive function compared to symptomatic ones. Indirect comparison of Nusinersen with zolgensma revealed that the latter seems to show greater efficiency in terms of survival and motor function. Finally, the risk of hepatotoxicity due to the administration of zolgensma was examined, and it was found that it can be reduced with appropriate medical monitoring and intervention. In conclusion, although there is a big leap in the treatment of SMA, its cure has not been achieved. At present the best treatment is prevention.

Keywords: Spinal Muscle Atrophy, prevention, diagnosis, gene therapy, onasemnogene abeparvovec-xioi, quality of life.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ελληνικός όρος	Ξενόγλωσσος όρος
Ανερμηνεύσιμες παραλλαγές	Nonsense
Αιματοεγκεφαλικός φραγμός	Blood Brain Barrier
Αναπνευστική δυσχέρεια τύπου I με Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία	Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1
Ανίχνευση φορέας	Carrier testing
Αντινοσηματικά Ολιγονουκλεοτίδια	AntiSense Oligonucleotides
Ασθενείς με NMA οι οποίοι έχουν την ικανότητα να βαδίζουν ανεξάρτητοι	Walkers
Ασθενείς με NMA οι οποίοι έχουν την ικανότητα να κάθονται ανεξάρτητοι.	Sitters
Ασθενείς με NMA οι οποίοι χάνουν την ικανότητα να κάθονται ανεξάρτητοι.	Nonsitters
Ασθενείς με NMA οι οποίοι μπορούν να αλλάζουν πλευρό.	Rollover
Βαριά συνδυασμένη ανεπάρκεια	Severe Combined Immunodeficiency-X1
Βατραχοειδή στάση	Frogleg
Γενετική Συμβουλευτική	Genetic counseling
Γεφυροπαρεγκεφαλιδική υποπλασία με NMA	SMA with pontocerebellar hypoplasia
Γονίδιο	Gene
Γονιδίωμα	Genome
Διαγονίδιο	Transgene
Διεισδυτική μεταλλαξιγένεση	Insertional mutagenesis
Διπλασιασμοί	Duplications
Επεξεργασία γονιδιώματος	Genome editing
Έγκριση υπό όρους	Conditional approval
Έλεγχος	Screening

Ελλείμματα	Deletions
Ενδοσωματικά	<i>In vivo</i>
Ενθέσεις	Insertions
Ενισχυτής	Enhancer
Ενσωμάτωση	Integration
Εξωσωματικά	<i>Ex vivo</i>
Επίσωμα	Episome
Καταστολή γονιδιακής έκφρασης	Gene silencing therapy or gene inhibition therapy
Καψίδιο	Virus capsids
Νεογνικός έλεγχος	Newborn screening
Νεογνική ΝΜΑ συνδεδεμένη με το χρωμόσωμα X και με αρθρογρύπωση	X-linked infantile Spinal Muscular Atrophy
Παρερμηνεύσιμες παραλλαγές	Missense
Πλάγια Μυατροφική Σκλήρυνση	Amyotrophic Lateral Sclerosis
Προμήκο-νοτιαία μυϊκή ατροφία γνωστή ως Νόσος Kennedy	Spinal- bulbar muscular atrophy
Θεραπεία ενίσχυσης γονιδίου	Gene augmentation therapy
Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία	Spinal Muscular Atrophy
Σωμάτια συρραφής	Spliceosomes
Τελικώς διαφοροποιημένο κύτταρο	Post-mitotic
Υποκινητής	Promoter
Φορέας μεταφοράς	Vector

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Ξενόγλωσσες Συντομογραφίες

AAV	Adeno-Associated Viruses
AAV9	Adeno-Associated Viruses 9
ACMG	American College of Medical Genetics
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
AdV	Adenovirus
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
ALS	Amyotrophic Lateral Sclerosis
AMT	Amsterdam Molecular Therapeutics
AR	Androgen receptor
ASOs	AntiSense Oligonucleotides
BBB	Blood Brain Barrier
CAR-T cells	Chimeric Antigen Receptor T cells
CB	Cajal Body
cDNA	complementary - Deoxyribonucleic acid
CHOP INTEND	Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders
CPK	Creatine Phosphokinase or Phosphocreatine Kinase
CRISPR	Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma
DNA	Deoxyribonucleic acid

EMA	European Medicines Agency
ESE	Exonic Splicing Enhancer
ESE2	Exonic Splicing Enhancer 2
ESS	Exonic Splicing Silencer
FDA	Food and Drug Administration
FL-SMN	Full Length – Survival Motor Neuron
Gems	<i>Gemini</i> of coiled bodies
HDR	Homology Directed Repair
HINE2	Hammersmith infant neurological examination 2
HIV-1	Human Immunodeficiency Virus-1
hnRNP-A1/A2	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins-A1/A2
ISS-N1	Intronic Splicing Silencer N1
ITR	Inverted Terminal Repeats
Kb	Kilobase
LR-PCR	Long Range - Polymerase chain reaction
LVs	Lentiviruses
MAP	Managed Access Program
mg	Milligram
miRNA	MicroRNA
mL	Milliliter
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
MRI	Magnetic Resonance Imagine
MV	Mechanical Ventilation
NBS	Newborn screening

NGS	Next Generation Sequencing
NHEJ	Non-Homologous End Join
NK cells	Natural killer cells
NLM	National Library of Medicine
nm	Nanometre
NMJ	Neuromuscular Junction
NT	Nuchal Translucency
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
PCH1	Pontocerebellar hypoplasia type 1
PCH2	Pontocerebellar hypoplasia type 2
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEG	Percutaneous Endoscopic Gastronomy
PMBCL	Primary mediastinal B-cell lymphoma
pre-mRNA	Primary transcript-messenger RNA
RNA	Ribonucleic acid
RNAi	RNA interference
RNaseH	Ribonuclease H
RSV	Respiratory Syncytial Virus
RVs	Retroviruses
SBMA	Spinal- bulbar muscular atrophy
(sc)AAV9	self-complementary AAV9
SCID-X1	Severe Combined Immunodeficiency-X1
siRNA	small interfering RNAs
SFDA	Saudi Food and Drug Authority
Sm	7 small proteins
SMA	Spinal Muscular Atrophy

SMARD1	SMA with pontocerebellar hypoplasia
SMA – PCH/PCH1	Spinal Muscular Atrophy with Respiratory Distress type 1
SMN protein	Survival of Motor Neuron protein
SMN1	Survival Motor Neuron 1
SMN2	Survival Motor Neuron 2
snRNAs	small nuclear RNAs
snRNPs	small nuclear Ribonucleoproteins
SPV	Shope Papilloma Virus
(ss)AAV9	single-stranded AAV9
ss	splice site (5' splice site or 3' splice site)
TALENs	Transcription Activator-Like Effectors Nucleases
T-ALL	T-cell acute lymphoblastic leukaemia
T-Vec	Talimogene laherparepvec
Unrip	Unr –interacting protein
UTR	Untranslated region
XL-SMA	X-linked infantile Spinal Muscular Atrophy
YG-box	Tyrosine-Glycine motif
ZFNs	Zinc Finger Nucleases
Ελληνόγλωσσες Συντομογραφίες	
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ΕΕ	Ευρωπαϊκή Ένωση
ΕΜΑ	Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων
NMA	Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-1: ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΤΥΠΩΝ ΤΗΣ SMA (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟ FARRAR ET AL., 2017).	25
ΠΙΝΑΚΑΣ 5-1: ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ONASEMNOGENE ΑΒΕΡΑΡΝΟΝΕC-ΧΙΟΙ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΜΥΪΚΗΣ ΑΤΡΟΦΙΑΣ.....	73

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1.1: ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΝΕΥΡΩΝΑ (Α) ΚΑΙ ΑΤΡΟΦΙΚΟΥ ΝΕΥΡΩΝΑ (Β) (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: ΒΕΒΕΕ , & CHANDLER, 2011).....	22
ΕΙΚΟΝΑ 1.2: ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΑΙΔΙΟΥ SMA ΤΥΠΟΥ Ι (ΚΟΛΒ , & KISSEL, 2015).....	23
ΕΙΚΟΝΑ 1.3: ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΑΙΔΙΟΥ ΜΕ SMA ΤΥΠΟΥ ΙΙ (ΚΟΛΒ, &KISSEL, 2015).....	24
ΕΙΚΟΝΑ 1.4: ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΑΙΔΙΟΥ ΜΕ SMA ΤΥΠΟΥ ΙΙΙ (ΚΟΛΒ , & KISSEL, 2015).....	25
ΕΙΚΟΝΑ 1.5: Η ΠΕΡΙΟΧΗ 5Q13.2 ΣΤΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ 5 ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ <i>SMN</i> (ΠΗΓΗ: HTTPS://GENOME.UCSC.EDU/). ACCESSED ON 23 RD DECEMBER 2020, ΠΡΟΣΒΑΣΗ 23/12/20.	29
ΕΙΚΟΝΑ 1.6: ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΜΑΤΙΣΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ <i>SMN1</i> (ΜΠΛΕ) ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΥ ΜΑΤΙΣΜΑΤΟΣ <i>SMN2</i> (ΚΟΚΚΙΝΟ) (MULCAHY ET AL., 2014).....	31
ΕΙΚΟΝΑ 1.7: ΟΙ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ <i>SMN</i> ΕΙΝΑΙ: Ο ΒΑΣΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ ΠΛΟΥΣΙΟΣ ΣΕ ΛΥΣΙΝΗ (ΜΠΛΕ), ΤΟ ΜΟΤΙΒΟ TUDOR (ΠΡΑΣΙΝΟ), Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΛΟΥΣΙΑ ΣΕ ΠΡΟΛΙΝΗ (ΚΟΚΚΙΝΟ) ΚΑΙ ΤΟ ΜΟΤΙΒΟ YG (ΜΩΒ) (BURGHES , & BEATTIE, 2009).....	32
ΕΙΚΟΝΑ 1.8: ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ <i>SMN-GEMINS</i> ΜΕ UNRIP (Α) ΚΑΙ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ <i>SM</i> ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ (Β) (MARTINEZ-SALAS ET AL., 2020).....	33
ΕΙΚΟΝΑ 1.9: ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ SMA ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΕ ΠΑΡΟΜΟΙΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ. (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ/ΜΕΤΑΦΡΑΣΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: PRIOR , & NAGAN, 2016).....	36
ΕΙΚΟΝΑ 1.10: ΠΑΙΔΙ 5 ΜΗΝΩΝ ΜΕ SMA ΧΟΡΗΓΩΝΤΑΣ ΜΑΣΚΑ ΠΟΥ ΚΑΛΥΠΤΕΙ ΤΗ ΜΥΤΗ ΩΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ (IANNACCONE, 2007).	38
ΕΙΚΟΝΑ 1.11: ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΦΑΡΜΑΚΟΥ NUSINERSEN ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ ΜΕ ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ SPINRAZA TM . (ΠΗΓΗ: HTTPS://SMANEWS TODAY.COM/NEWS-POSTS/2019/09/19/HIGHER-DOSES-OF-SPINRAZA-TO-BE-TESTED-IN-NEW-PHASE-2-3-TRIAL/). ACCESSED ON 25 ND JANUARY 2021, ΠΡΟΣΒΑΣΗ 25/01/21.	40
ΕΙΚΟΝΑ 1.12: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΑΡΜΑΚΟΥ SPINRAZA TM (OTTESEN, 2017).....	41
ΕΙΚΟΝΑ 1.13: ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΦΑΡΜΑΚΟΥ RISDIPLAM ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ ΣΤΟ ΕΜΠΟΡΙΟ ΜΕ ΟΝΟΜΑΣΙΑ EVRYSDI TM . (ΠΗΓΗ:	

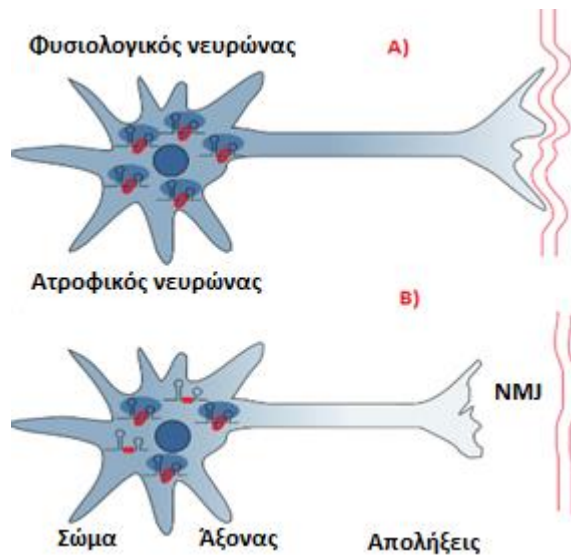
<i>HTTPS://SMANEWSTODAY.COM/FAQS/2020/08/07/FAQS-ABOUT-EVRYSDI-RISDIPLAM/</i>). ACCESSED ON 2 ND FEBRUARY 2021, ΠΡΟΣΒΑΣΗ 2/02/21.	41
ΕΙΚΟΝΑ 1.14: ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΗ ΑΥΤΟΣΩΜΙΚΟΥ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΟΥ ΝΟΣΗΜΑΤΟΣ. (ΠΗΓΗ: <i>HTTPS://WWW.CURESMA.ORG/CARRIERS-OF-SMA/</i>). ACCESSED ON 10 TH JANUARY 2021, ΠΡΟΣΒΑΣΗ 10/01/2021.....	43
ΕΙΚΟΝΑ 1.15: I) ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΔΥΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ <i>SMN1</i> , ΕΝΑ ΣΕ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ 5. II) ΦΟΡΕΑΣ ΜΕ ΑΝΕΝΕΡΓΟ ΤΟ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ <i>SMN1</i> . III) ΦΟΡΕΑΣ ΜΕ ΤΑ ΔΥΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ <i>SMN1</i> ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΟΜΟΛΟΓΟ ΤΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΝΕΝΕΡΓΟ, ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΜΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΦΟΡΕΙΑΣ. IV) ΑΣΘΕΝΗΣ SMA ΜΕ ΜΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ <i>SMN1</i> (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ/ΜΕΤΑΦΡΑΣΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: BRITTON ET AL., 2017).....	44
ΕΙΚΟΝΑ 1.16: ΠΟΛΙΤΕΙΕΣ ΤΩΝ ΗΠΑ, ΟΙ ΟΠΟΙΕΣ ΕΧΟΥΝ ΕΝΤΑΞΕΙ ΤΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΝΕΟΓΝΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ ΓΙΑ SMA. (ΠΗΓΗ: <i>HTTPS://WWW.CURESMA.ORG/NEWBORN-SCREENING-FOR-SMA/</i>). ACCESSED ON 5 TH MAY 2021, ΠΡΟΣΒΑΣΗ 05/05/2021.	45
ΕΙΚΟΝΑ 2.1: ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΓΚΡΙΘΕΙ ΓΙΑ ΤΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΑΠΟ ΤΟ 1998 ΕΩΣ ΤΟ 2019 (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ/ΜΕΤΑΦΡΑΣΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: MA ET AL., 2020).	48
ΕΙΚΟΝΑ 2.2: ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ <i>EX VIVO</i> ΚΑΙ ΤΗΣ <i>IN VIVO</i> ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: ROSENBERG ET AL., 2012).....	52
ΕΙΚΟΝΑ 2.3: ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΩΝ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: NOBREGA ET AL., 2020).	55
ΕΙΚΟΝΑ 2.4: ΣΥΣΚΕΥΣΙΣΙΑ ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΟΝΑΣΕΜΝΟΓΕΝΕ ΑΒΕΡΑΡΝΟΝΕC ΜΕ ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ ZOLGENSMA.....	56
ΕΙΚΟΝΑ 2.5: ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΔΕΝΟΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΥ ΙΪΚΟΥ ΦΟΡΕΑ ΟΡΟΤΥΠΟΥ 9 (ΑΑΝ9) ΜΕ ΔΙΑΓΡΑΦΗ ΙΪΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΤΟΥΣ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ CDNA ΤΟΥ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ <i>SMN1</i> ΓΟΝΙΔΙΟΥ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕ ΤΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ-ΣΤΟΧΩΝ Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ (ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ/ΜΕΤΑΦΡΑΣΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΑΠΟ: BORA ET AL.,2018).....	57

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΝΩΤΙΑΙΑ ΜΥΙΚΗ ΑΤΡΟΦΙΑ

1.1 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΜΥΙΚΗΣ ΑΤΡΟΦΙΑΣ

Η Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (Spinal Muscular Atrophy) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1890 σε βρέφη, από δύο γιατρούς τους Johan Hoffman και Guido Werdnig. Ωστόσο, δεν είχε ανακαλυφθεί η αιτία της νόσου (Van Meerbeke, & Sumner, 2011). Είναι μία νευρομυϊκή διαταραχή που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο (Farrar, & Kiernan, 2015). Είναι από τις κυριότερες αιτίες βρεφικής θνησιμότητας παγκοσμίως, με συχνότητα εμφάνισης ετησίως περίπου 1/10.000 γεννήσεις (Dangouloff et al., 2020). Όσον αφορά, τη συχνότητα των φορέων κυμαίνεται από 1/35 στην Καυκάσια φυλή έως 1/91 στους Αφροαμερικανούς (Farrar, & Kiernan, 2015). Στην Ελλάδα η συχνότητα εμφάνισης της είναι 1,5/100.000 του πληθυσμού, ενώ εμφανίζονται 8,3 νέα περιστατικά ανά 100.000 ζωντανές γεννήσεις το χρόνο (Kekou et al., 2020). Λόγω της συχνότητας εμφάνισης θεωρείται το τρίτο πιο συχνό γενετικό νόσημα στην Ελλάδα (Manoli & Fryssira., 2015; Kekou et al., 2020). Η διαταραχή προκαλείται από τον εκφυλισμό των πρόσθιων κεράτων των άλφα κινητικών νευρώνων του νωτιαίου μυελού (Lunn et al., 2008). Οι άλφα κινητικοί νευρώνες είναι υπεύθυνοι για τη μετάδοση του σήματος από το νωτιαίο μυελό στο μυ και κατά συνέπεια τη σύσπασή του. Αποτελούνται από νευρικά κύτταρα με χαρακτηριστική δομή τα οποία χωρίζονται σε τρία μέρη: το σώμα, τον άξονα και τις απολήξεις. Το σώμα βρίσκεται στο νωτιαίο μυελό και από εκεί μεταφέρεται το ηλεκτρικό σήμα στον άξονα, ο οποίος εκφύεται από το νωτιαίο μυελό και συνάπτεται με το μυ. Ως αποτέλεσμα, δημιουργείται η νευρομυϊκή σύναψη (Neuromuscular Junction-NMJ) από την οποία εξαρτώνται πολλά γεγονότα για την ομαλή σύνδεση ανάμεσα σε νευρώνα και μυ (Bäumer et al., 2010; Tisdale, & Pellizzoni, 2015). Περαιτέρω μελέτες, έχουν δείξει ότι η εκδήλωση μυϊκής ατροφίας στην SMA οφείλεται και σε διαταραχές της λειτουργίας της νευρομυϊκής σύναψης (εικόνα 1-1) (Tisdale & Pellizzoni, 2015).



Εικόνα 1.1: Απεικόνιση φυσιολογικού νευρώνα (A) και ατροφικού νευρώνα (B) (τροποποιημένο σχήμα από: Bebee & Chandler, 2011).

Τα χαρακτηριστικά συμπτώματα των ασθενών με SMA είναι η συμμετρική μυϊκή αδυναμία και ατροφία των κινητικών μυών ενώ σπάνια εμπλέκονται άλλα όργανα ή άλλο τμήμα του νευρικού συστήματος (Dubowitz., 1991; Lunn et al., 2008). Παραλλαγές του γονιδίου *SMN1* (Survival Motor Neuron 1) ευθύνονται για την εμφάνιση της νόσου (Lefebvre et al., 1995). Ωστόσο, η ταξινόμηση των ασθενών έχει πραγματοποιηθεί βάσει βαρύτητας και ηλικίας έναρξης κλινικών συμπτωμάτων που διαγιγνώσκονται (Finkel et al., 2015).

SMA 0: Εμφάνιση συμπτωμάτων κατά την εμβρυική ηλικία έχοντας μειωμένο προσδόκιμο ζωής. Παρουσιάζουν φαινότυπο με ελαττωμένη ή ανύπαρκτη εμβρυϊκή κινητικότητα και αναπνευστική ανεπάρκεια αμέσως μετά τη γέννηση (Dubowitz, 1999; Prior et al., 2000; Haaker & Fujak, 2013; Kolb, & Kissel, 2015).

SMA I (Werdnig-Hoffmann): Αποτελεί την πιο συχνή μορφή και τα συμπτώματα εκδηλώνονται πριν τους έξι μήνες ζωής (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015). Χαρακτηρίζονται από γενικευμένη μυϊκή αδυναμία, υποτονία, κατάργηση τενόντιων αντανακλαστικών, ενώ χάνουν την ικανότητα να κάθονται χωρίς βοήθεια (nonsitters) (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015; Wirth, B, et al., 2020). Τα υποτονικά βρέφη χάνοντας τον έλεγχο της κεφαλής τους παίρνουν μία βατραχοειδή στάση (“frogleg”) (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015). Επιπλέον, μπορεί να παρουσιαστεί συμμετρική αδυναμία μυών του προσώπου οδηγώντας στην παράλυσή του επηρεάζοντας διάφορες κρίσιμες λειτουργίες όπως είναι η αναπνοή και η κατάποση. Καθώς υπάρχει διαταραχή καταπόσεως λόγω παράλυσης της γλώσσας και εξασθένηση μυών του φάρυγγα, τα βρέφη υποσιτίζονται και δεν αναπτύσσονται φυσιολογικά, ενώ παράλληλα διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εισρόφησης της τροφής (Kolb & Kissel, 2015). Η αναπνευστική δυσχέρεια εμφανίζεται πριν τα 2 έτη και προκύπτει κυρίως από

την εξασθένηση των μεσοπλευρίων μυών η οποία συμβάλλει στο σχηματισμό ενός στενού θώρακα σχήματος καμπάνα, καθώς και στην παράδοξη αναπνοή που ονομάζεται «κοιλιακή αναπνοή». Τελικά, οι ασθενείς καταλήγουν πριν τα 2 έτη, λόγω αναπνευστικών προβλημάτων (Kolb & Kissel, 2015). Παρόλα αυτά, αναπνευστικές και διατροφικές παρεμβάσεις απεδείχθη ότι βελτιώνουν την επιβίωση των ασθενών (εικόνα 1-2) (Prior et al., 2000).



Εικόνα 1.2: Κλινική εικόνα παιδιού SMA τύπου I (Kolb & Kissel, 2015).

SMA II: Η νόσος διαγιγνώσκεται σε παιδιά από 6 μηνών έως 18 μηνών. Χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να κάθονται (sitters) ενώ η βάδιση τους είναι υποβοηθούμενη (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015; Wirth, B, et al., 2020). Ωστόσο, με την πάροδο της νόσου μπορούν να χάσουν την ικανότητα να κάθονται ανεξάρτητοι κατά την εφηβεία (Prior et al., 2000). Τα τενόντια αντανακλαστικά είναι μειωμένα ή απόντα και μπορεί να παρουσιαστεί τρέμουλο χεριών, ενώ χαρακτηρίζονται από φυσιολογική νοημοσύνη και απουσία καρδιολογικών προβλημάτων (Prior et al., 2000). Επιπλέον, λόγω της αδυναμίας αναπνευστικών μυών αντιμετωπίζουν προβλήματα στο αναπνευστικό σύστημα με υποαερισμό κατά την διάρκεια του ύπνου, ενώ απόρροια της ασθένειας είναι το αδύναμο κλάμα και ο υποσιτισμός λόγω δυσκολίας κατάποσης, επιβαρύνοντας έτσι τα συμπτώματα της νόσου (Kolb, & Kissel, 2015). Με την εξέλιξη της, ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν σκολίωση, γεγονός που δυσκολεύει την αναπνευστική λειτουργία (εικόνα 1-3) (Prior et al., 2000; Haaker & Fujak, 2013; Kolb & Kissel, 2015).



Εικόνα 1.3: Κλινική εικόνα παιδιού με SMA τύπου II (Kolb & Kissel, 2015).

SMA III (Kugelberg-Welander) (Kolb et al., 2017): Αυτός ο τύπος SMA χαρακτηρίζεται συχνά από πόνους στους μυς και στις αρθρώσεις ενώ έχει χωριστεί βάσει της ηλικίας έναρξης των συμπτωμάτων σε τρεις υποκατηγορίες (Kolb & Kissel, 2015; Wadman et al., 2017). Στον τύπο IIIa ασθενούν παιδιά μικρότερα από την ηλικία των 3 ετών, στον IIIb μεγαλύτερα των 3 ετών, ενώ στον τύπο IIIc παιδιά μεγαλύτερα των 12 ετών (Farrar, et al., 2017). Κοινό τους χαρακτηριστικό είναι ότι επιτυγχάνουν την ικανότητα βάδισης χωρίς βοήθεια (walkers), αλλά λόγω μυϊκής αδυναμίας αντιμετωπίζουν προβλήματα στην κινητική τους δραστηριότητα, όπως είναι τα συχνά πεσίματα, η δυσκολία ανόδου σκάλας και κόπωση (Prior et al., 2000; Haaker, & Fujak, 2013). Με την πάροδο της νόσου ίσως παρουσιαστεί προοδευτική αδυναμία των άκρων κυρίως των ποδιών ενώ η χρήση αμαξιδίου ίσως κριθεί απαραίτητη (Kolb & Kissel, 2015). Συγκεκριμένα, εάν η ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων είναι μικρότερη των 3 ετών, τότε χάνουν την ικανότητα βάδισης κατά την 2^η δεκαετία, ενώ εάν τα συμπτώματα εμφανίζονται μεταξύ 3 έως 12 ετών, τότε η βάδιση είναι υποβοηθούμενη κατά την 4^η δεκαετία πράγμα το οποίο υποδηλώνει ότι η πρόωμη έναρξη συμπτωμάτων συμβάλλει στη βαρύτητα του νοσήματος (Prior et al., 2000; Wadman et al., 2017). Επίσης, δεν εκλείπουν οι αναπνευστικές επιπλοκές όπως υποαερισμός, αλλά είναι ηπιότερης μορφής (εικόνα 1-4) (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015).



Εικόνα 1.4: Κλινική εικόνα παιδιού με SMA τύπου III (Kolb & Kissel, 2015).

SMA IV: Αυτός ο τύπος αντιπροσωπεύει <5% των περιπτώσεων της SMA και αναφέρεται ως η πιο ήπια μορφή της ασθένειας (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015; Kolb et al., 2017). Ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων είναι πάνω από τα 30 έτη. Η κινητική δυσλειτουργία είναι ήπια με ελάχιστη πιθανότητα μυϊκής αδυναμίας και χωρίς αναπνευστικά, γαστρεντερικά ή καρδιολογικά προβλήματα με φυσιολογική νοημοσύνη (Prior et al., 2000; Kolb & Kissel, 2015). Οι πάσχοντες της κατηγορίας αυτής καταφέρνουν να διατηρήσουν την ικανότητα βάδισης (walkers) χωρίς βοήθεια (Prior et al., 2000; Haaker & Fujak, 2013; Kolb & Kissel, 2015). Εντούτοις, σε σπάνιες περιπτώσεις παρατηρείται καθήλωση σε αμαξίδιο κατά την 5^η δεκαετία της ζωής τους (Prior et al., 2000; Wadman et al., 2017).

Πίνακας 1-1: Κατάταξη των τύπων της SMA (τροποποιημένος πίνακας από Farrar et al., 2017).

Τύπος	Ηλικία έναρξης συμπτωμάτων	Εξέλιξη	Πρόγνωση
SMA 0	εμβρυϊκή ηλικία	-Σοβαρή υποτονία	Θάνατος αμέσως λόγω αναπνευστικής ανεπάρκειας
SMA I	2 εβδομάδων (Ia)	-Ποτέ δεν κάθονται & βαδίζουν	Επιβίωση έως 2 ετών
	3 μηνών (Ib)		
	6 μηνών (Ic)		

SMAII	6-18 μηνών	-Κάθονται -Βαδίζουν υποβοηθούμενα	Επιβίωση έως την ενήλικη ζωή
SMA III	<3 ετών (IIIa)	-Ανεξάρτητη βάδιση -Ίσως χάσουν την ανεξάρτητη βάδιση	Σχεδόν φυσιολογική επιβίωση
	>3 ετών (IIIb)		
	>12 ετών (IIIc)		
SMA IV	>30 ετών	-Βαδίζουν & στέκονται ανεξάρτητοι	Φυσιολογική επιβίωση

SMA-like είναι νοσήματα στα οποία εκδηλώνεται η μυϊκή αδυναμία. Ωστόσο, εμπλέκονται διαφορετικά γονίδια από το γονίδιο *SMN1*. Τέτοια νοσήματα είναι τα εξής:

- **Νεογνική SMA συνδεδεμένη με το χρωμόσωμα X και με αρθρογρύπωση (XL-SMA):** Χαρακτηρίζονται από εκφυλισμό των κυττάρων του νωτιαίου μυελού και του εγκεφάλου με περιορισμένη εμβρυική κίνηση και απώλεια αντανακλαστικών και κατά επέκταση αρθρογρύπωση. Αμέσως μετά τη γέννηση εμφανίζονται συμπτώματα όπως υποτονία, συγγενείς συγκάμψεις και κατάγματα, ενώ έχουν φυσιολογική νοημοσύνη. Το υπεύθυνο γονίδιο είναι το *UBA1* και ανιχνεύεται στην περιοχή Xp11.3-q11.2 του χρωμοσώματος X (Dressman et al., 2007; Baumbach-Reardon et al., 2008).
- **Αναπνευστική δυσχέρεια τύπου I με SMA (SMARD1):** Παρατηρούνται πρώιμες κλινικές εκδηλώσεις όπως αναπνευστική ανεπάρκεια με μυϊκή αδυναμία. Συνήθως, οι ασθενείς καταλήγουν λόγω αναπνευστικής ανεπάρκειας. Υπεύθυνες παραλλαγές που οδηγούν στο νόσημα εμφανίζονται στο γονίδιο *IGHMBP2* το οποίο ανιχνεύεται στη χρωμοσωμική θέση 11q13.2-q13.4 (Grohmann et al., 2001; Butterfield et al., 2014).
- **Γεφυροπαρεγκεφαλιδική υποπλασία με SMA (SMA-PCH/PCH1):** Αποτελεί μία ομάδα αυτοσωμικών υπολειπόμενων νοσημάτων. Η νευροεκφυλιστική διαταραχή εντοπίζεται στις περιοχές γέφυρα και παρεγκεφαλίδα του εγκεφάλου (Namavar et al., 2011). Σύμφωνα με τη μελέτη των Törf et al (2021), παραλλαγές που οδηγούν στον τύπο PCH1 εμφανίζονται στο γονίδιο *TRIP4* και κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο, ενώ μία άλλη μελέτη έδειξε ότι ο τύπος PCH1C προκαλείται από παραλλαγές στο γονίδιο *EXOSC8* (Rodríguez-García et al., 2021; Törf et al., 2021). Χαρακτηρίζεται από μεγάλη κλινική ετερογένεια αλλά οι κυριότεροι τύποι είναι οι PCH1 και PCH2. Στον τύπο 1

εμφανίζονται συμπτώματα όπως, αναπνευστική ανεπάρκεια, κινητικά προβλήματα από την βρεφική ηλικία και οι πάσχοντες καταλήγουν πριν τον 1^ο χρόνο ζωής τους. Στον τύπο 2 παρουσιάζεται μικροκεφαλία, δυστονία, μυϊκές συσπάσεις καθώς και ψυχοκινητικές διαταραχές (Barth, 1993; Namavar et al., 2011).

- **Προμήκο-νωτιαία μυϊκή ατροφία γνωστή ως Νόσος Kennedy (spinal and bulbar muscular atrophy- SBMA):**

Πρόκειται για μία φυλοσύνδετη υπολειπόμενη νόσο. Η βλάβη της προκύπτει από την επέκταση μίας τρινουκλεοτιδικής CAG αλληλουχίας (40-46 επαναλήψεις) στο εξόνιο 1 του γονιδίου AR, που κωδικοποιεί τον υποδοχέα των ανδρογόνων και χαρτογραφήθηκε στην περιοχή Xq11-q12 του X χρωμοσώματος (La Spada et al., 1991; Breza et al., 2017). Χαρακτηρίζεται από εκφύλιση του κατώτερου κινητικού νευρώνα αποτέλεσμα αυτού είναι το προεξάρχον σύμπτωμα να αποτελεί η μυϊκή αδυναμία κυρίως των κάτω άκρων και αναπνευστική δυσχέρεια. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να εμφανιστούν γυναικομαστία, υπογοναδισμός και διαταραχές αισθητικότητας (Breza et al., 2017).

1.2 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

1.2.1. Αναπνευστικές επιπλοκές

Η πρόωμη εμφάνιση της νόσου έχει συνδεθεί με κακή πρόγνωση γεγονός που οφείλεται από τις επιπτώσεις εμφάνισης της αναπνευστικής ανεπάρκειας. Η αναπνευστική δυσχέρεια είναι συχνή και αποτελεί την πρωταρχική αιτία θανάτου σε άτομα που πάσχουν από SMA I και II (Kolb , & Kissel, 2015). Η επιπλοκή προκύπτει από προσβολή των αναπνευστικών μυών και κυρίως αδυναμία του διαφράγματος. Χαρακτηρίζονται από αναποτελεσματικό βήχα ο οποίος οδηγεί σε μειωμένη κάθαρση των εκκρίσεων και της βλέννας και συνεπώς σε υποτροπιάζουσες λοιμώξεις του αναπνευστικού. Περαιτέρω, επιπλοκές δημιουργούνται και λόγω παραμόρφωσης του θωρακικού τοιχώματος και του πνεύμονα που συνοδεύονται από αδυναμία εκκρίσεων, υποαερισμός κατά την διάρκεια του ύπνου, ατελεκτασίες και συχνές λοιμώξεις. Ωστόσο, οι επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις έχουν σαν αποτέλεσμα την επιδείνωση της μυϊκής αδυναμίας (Wang, C et al., 2007; Schroth, 2009; Kolb & Kissel, 2015).

1.2.2. Ορθοπαιδικά και Μυοσκελετικά προβλήματα

Ο υποσιτισμός και η αδράνεια σε άτομα με SMA πέραν της επίδρασής τους στις πεπτικές δυσλειτουργίες, έχουν ως επακόλουθο τη συρρίκνωση της μυϊκής μάζας, συντελώντας στην ατροφία μυών και κατά επέκταση στην επιδείνωση των συμπτωμάτων της νόσου (Wang, C, et al., 2007; Haaker & Fujak, 2013; Kolb & Kissel, 2015). Στις περισσότερες περιπτώσεις ασθενών τύπου I, II και IIIa μπορεί να παρατηρηθούν κατάγματα των άκρων, συγκάμψεις αλλά και οστεοπενία (Haaker & Fujak, 2013). Αναλόγως τον τύπο SMA, ο χρόνος εμφάνισης αλλά και η περιοχή που είναι επιρρεπής σε κατάγματα διαφέρει στους ασθενείς. Η έναρξη

συμπτωμάτων στους ασθενείς με SMA τύπου II προκύπτουν κυρίως στα κάτω άκρα και πιο γρήγορα, εν συγκρίσει με τους ασθενείς SMA τύπου IIIa στους οποίους εμφανίζονται στα άνω άκρα (Haaker , & Fujak, 2013).

Ως επί το πλείστον, σε ασθενείς με αδυναμία βάδισης μπορεί να εκδηλωθεί και ένα άλλο μυοσκελετικό πρόβλημα, η σκολίωση (Wang, C, et al., 2007; Haaker , & Fujak, 2013). Χαρακτηριστικά συμπτώματα είναι η παραμόρφωση σπονδυλικής στήλης και η κλίση της λεκάνης προς τη μία πλευρά. Δεδομένου της παραμόρφωσης της σπονδυλικής στήλης, η σκολίωση επηρεάζει την κίνηση του θωρακικού τοιχώματος καθώς συντελεί και στην παραμόρφωση του θωρακικού κλωβού, παράγοντες οι οποίοι δυσκολεύουν την ομαλή λειτουργία του αναπνευστικού έργου όπως έχει προαναφερθεί (Haaker & Fujak, 2013; Kolb & Kissel, 2015).

1.2.3. Γαστρεντερικές και Διατροφικές επιπλοκές

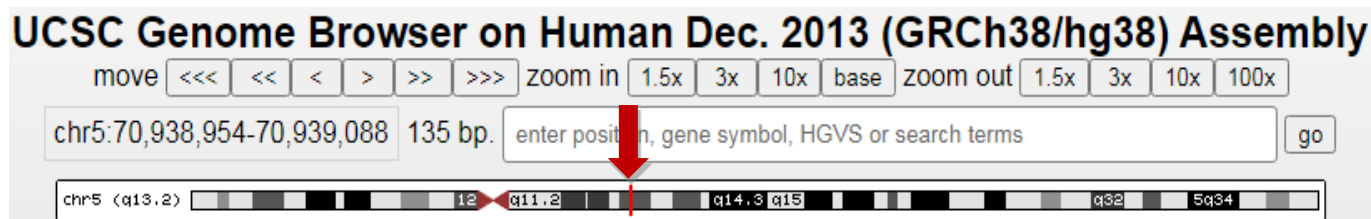
Τα πιο συχνά προβλήματα που παρουσιάζονται σε άτομα με SMA είναι ο υποσιτισμός λόγω δυσκολίας κατάποσης της τροφής καθώς και γαστρεντερικές επιπλοκές. Στη δυσκαταποσία συμβάλλουν η αδυναμία ανοίγματος της στοματικής κοιλότητας, η αδυναμία της κίνησης των μυών που συμμετέχουν στην κατάποση όπως είναι η γλώσσα αλλά και ο υπολειμματικός έλεγχος της κεφαλής (Iannaccone et al., 2007; Kolb & Kissel, 2015). Το αποτέλεσμα αυτών των επιπλοκών είναι η αδυναμία ανάπτυξης σε περιπτώσεις ασθενών με τύπο SMA I αλλά και σε ορισμένες περιπτώσεις σε άτομα με SMA II. Παρόλο που χάνουν την ικανότητα βάδισης οι ασθενείς με SMA II είναι επιρρεπείς σε λιποθυμίες και κόπωση ενώ έχουν την τάση να γίνονται υπέρβαροι (Sproule et al., 2009; Kolb & Kissel, 2015).

Οι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες είναι συχνές σε ασθενείς με SMA. Οι ασθενείς λόγω υποσιτισμού και διαταραχή της φυσιολογικής κινητικότητας του εντέρου, μπορεί να εμφανίσουν γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, δυσκοιλιότητα και διάρροια (Kolb & Kissel, 2015).

1.3 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΝΩΤΙΑΙΑΣ ΜΥΙΚΗΣ ΑΤΡΟΦΙΑΣ

Έπειτα από την ανακάλυψη της SMA από τους Johan Hoffman και Guido Werding, (Rodillo et al., 1989) περίπου 100 χρόνια αργότερα ταυτοποιήθηκε και η γενετική της αιτιολογία. Αρχικά, το 1990, προσδιορίστηκε η χρωμοσωμική θέση της αλληλουχίας η οποία ευθύνεται για την SMA (Brzustowicz et al., 1990), ενώ αργότερα το 1995 η Γάλλος επιστήμονας Lefebvre και η ομάδα της, στο L'Institut National de la Santé ταυτοποίησαν τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση της SMA και ονομάζονται γονίδια επιβίωσης του κινητικού νευρώνα (*SMN - Survival Motor Neuron*) (Lefebvre et al., 1995). Ανιχνεύονται σε μία περιοχή με αστάθεια η οποία χαρακτηρίζεται από ανεστραμμένους διπλασιασμούς μεγέθους 500Kb και βρίσκονται στη θέση 5q13 του χρωμοσώματος 5 (εικόνα 1-5) (Lefebvre

et al., 1995). Προς την τελομερική περιοχή ανιχνεύεται το γονίδιο επιβίωσης του κινητικού νευρώνα 1, *SMN1* (OMIM*600354), ενώ προς την κεντρομερική περιοχή ανιχνεύεται το *SMN2* (Survival Motor Neuron) (OMIM*601627) (Lefebvre et al., 1995).



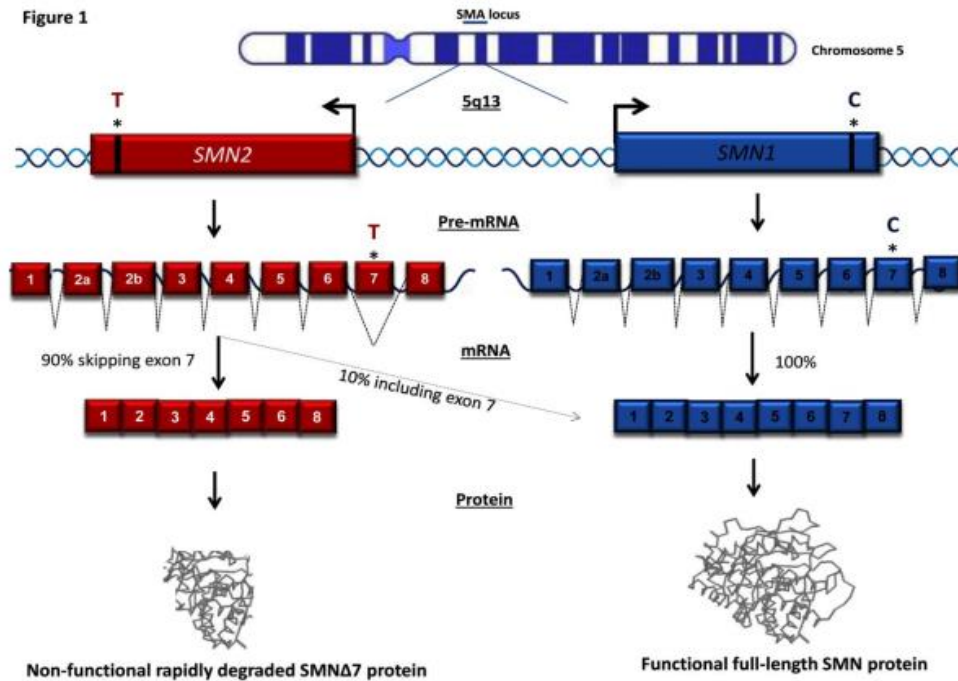
Εικόνα 1.5: Η περιοχή 5q13.2 στο χρωμόσωμα 5 στην οποία ανιχνεύονται τα γονίδια *SMN* (Πηγή: <https://genome.ucsc.edu/>). Accessed on 23rd December 2020, πρόσβαση 23/12/20.

Στο 98% των περιπτώσεων ανεξαρτήτου τύπου SMA (0, I, II, III και IV), υπεύθυνα θεωρούνται τα ομόζυγα ελλείμματα εξωνίων 7 ή/και 8 του *SMN1* γονιδίου (gene), ενώ το υπόλοιπο 2% οφείλεται σε σημειακές παραλλαγές του γονιδίου (Lefebvre, et al., 1995). Συνήθως, οι συγκεκριμένες παραλλαγές υπάρχουν μαζί με έλλειμμα του εξωνίου 7 του *SMN1* γονιδίου στο άλλο χρωμόσωμα (σύνθετοι ετεροζυγώτες). Αφορούν παραλλαγές παρερμηνεύσιμες (missense), ανερμηνεύσιμες (nonsense), ενθέσεων (insertions), ελλειμμάτων (deletions) και διπλασιασμού (duplications) (Keinath et al., 2021). Το αποτέλεσμα είναι να μην παράγεται λειτουργική πρωτεΐνη SMN (Survival Motor Neuron protein) με συνέπεια τον εκφυλισμό των κινητικών νευρώνων (Lefebvre et al., 1995). Επιπλέον, έχουν ανιχνευθεί παρερμηνεύσιμες παραλλαγές στο εξώνιο 6 του *SMN1* γονιδίου οι οποίες συμβάλλουν στη μείωση του αυτό-ολιγομερισμού της πρωτεΐνης SMN, με την πιο συχνή να είναι η p.Tyr272Cys (Keinath et al., 2021). Πρόσφατα έχει αποδειχθεί χάρη στην τεχνολογία της αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing-NGS), ότι η περιοχή στην οποία βρίσκονται τα *SMN* γονίδια είναι ιδιαίτερα πολυμορφική και επιρρεπής στον άνισο ανασυνδυασμό μεταξύ επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών. Αποτέλεσμα είναι να προκύπτουν *de novo* μεταλλάξεις σε αυτή την περιοχή (Wirth, B, et al., 2020). Ωστόσο, έχει συσχετιστεί ότι στη διαμόρφωση του φαινοτύπου συμβάλλει και το γονίδιο *SMN2* (Wirth, B, et al., 1997; 2020).

Τα *SMN1* και *SMN2* έχουν 99% ομολογία (Monani et al., 1999), μέγεθος περίπου 28Kb και αποτελούνται από 9 εξώνια (1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7 και 8) (Sheng-Yuan et al., 2010; Chaytow et al., 2018; Vijzelaar et al., 2019). Τα 2/3 του 1^{ου} εξωνίου αποτελούν μέρος της 5'αμετάφραστης περιοχής και το υπόλοιπο χρησιμεύει στην κωδικοποίηση της αλληλουχίας ενώ το εξώνιο 8 δε μεταφράζεται (3'UTR) (Singh & Singh., 2018). Ωστόσο, τα δύο γονίδια διαφέρουν σε πέντε νουκλεοτιδικές περιοχές με την πιο σημαντική μία αντικατάσταση από C (κυτοσίνη) σε T (θυμίνη) στη θέση +6 του εξωνίου 7 στο γονίδιο *SMN2* (c.840C>T) (εικόνα 1-6) (Bebee et al., 2010; Meyer, & Schümperli, 2010; Nlend Nlend et al., 2010; Chaytow et al., 2018; Singh & Singh., 2018). Η αλλαγή δεν επιφέρει αλλαγή αμινοξέως (TTT>TTC) καθώς

είναι συνώνυμη και κωδικοποιεί και στις δύο περιπτώσεις φαινυλαλανίνη (Read & Donnai, 2010, pp.150). Με τη συγκεκριμένη αντικατάσταση μπορεί είτε να κατασταλεί η δραστηριότητα ενός εξονικού ενισχυτή ματίσματος (Exonic Splicing Enhancer -ESE) είτε να ενεργοποιηθεί ένας εξονικός καταστολέας ματίσματος (Exonic Splicing Silencer -ESS) και ως εκ τούτου να προκύψει μία εναλλακτική θέση ματίσματος (Beebe et al., 2010; Meyer & Schümperli, 2010; Nlend Nlend et al., 2010; Read & Donnai, 2010; Chaytow et al., 2018; Singh & Singh, 2018). Έτσι, σε ποσοστό 90%, το γονίδιο *SMN2* κωδικοποιεί μετάγραφα στα οποία απουσιάζει το εξόνιο 7. Η *SMN2* πρωτεΐνη που παράγεται είναι γενετικά ασταθής και χωρίς βιολογική λειτουργία (D7-SMN2), ενώ σε ποσοστό 10% παράγεται η φυσιολογική *SMN* (εικόνα 1-6) (Kolb & Kissel, 2015; Vijzelaar et al., 2019; Niba et al., 2021). Αν και είναι ανεπαρκής η ποσότητα *SMN* πρωτεΐνης που παράγεται από το *SMN2*, είναι απαραίτητη για την επιβίωση των ασθενών με SMA και για αυτό έχει συσχετιστεί θετικά ο αυξανόμενος αριθμός αντιγράφων *SMN2* με ηπιότερο φαινότυπο και καθυστερημένη έναρξη συμπτωμάτων (Lefebvre et al., 1998; Nlend Nlend et al., 2010; Vijzelaar et al., 2019). Συγκεκριμένα, μελέτες έχουν δείξει ότι στην πλειονότητά των ασθενών με SMA 0 δεν εντοπίζεται κανένα αντίγραφο του *SMN2*, στους ασθενείς με SMA I συνήθως ανιχνεύονται 1 ή 2 αντίγραφα ενώ στους ασθενείς με SMA II ανιχνεύονται 3 αντίγραφα. Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι στους περισσότερους ασθενείς με SMA III και SMA IV οι οποίοι εμφανίζουν ηπιότερα συμπτώματα σε σχέση με τους άλλους τύπους, ανιχνεύονται έως 4 και έως 8 αντίγραφα *SMN2* αντίστοιχα (Farrar & Kiernan, 2015).

Figure legends



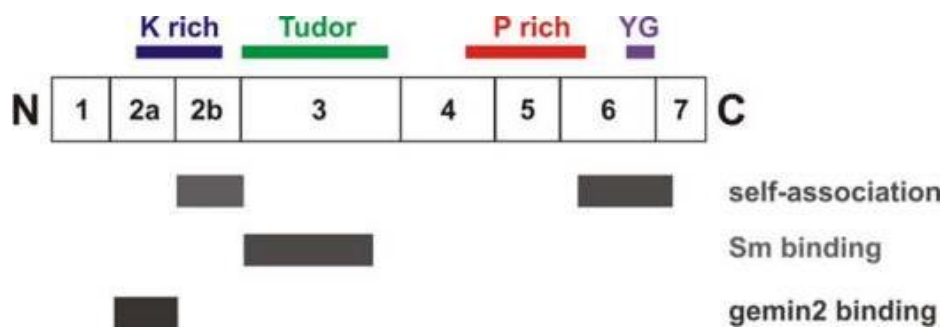
Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση ματίσματος του γονιδίου *SMN1* (μπλε) εναλλακτικού ματίσματος *SMN2* (κόκκινο) (Mulcahy et al., 2014).

1.4 ΠΡΩΤΕΙΝΗ

Στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης των κινητικών νευρώνων συμβάλλουν τα επίπεδα της SMN πρωτεΐνη (Survival Motor Neuron protein) η οποία κωδικοποιείται από τα γονίδια *SMN*. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα SMN μεταγράφα κωδικοποιούν την πρωτεΐνη FL-SMN (Full- Length Survival Motor Neuron protein) η οποία αποτελείται από 294 αμινοξέα και έχει 38 kDa μοριακό βάρος (με ηλεκτροφόρηση SDS) (Lefebvre et al., 1997). Μπορεί να εκφραστεί σε όλα τα κύτταρα αλλά σε υψηλότερα επίπεδα στους κινητικούς νευρώνες του νωτιαίου μυελού (Monani et al., 1999; Monani 2005). Διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στη βιογένεση των μικρών πυρηνικών ριβονουκλεοπρωτεϊνικών μορίων (small nuclear Ribonucleoproteins-snRNPs) στο κυτταρόπλασμα, αλλά και στην παράδοσή τους στα σωμάτια Cajal (CBs) στον πυρήνα (Liu , & Dreyfuss, 1996; Li, D, et al., 2014; Nash et al., 2016).

Η πρωτεΐνη SMN χωρίζεται σε τέσσερις διαφορετικές λειτουργικές περιοχές: έναν βασικό τομέα πλούσιο σε λυσίνη, έναν τομέα μοτίβο Tudor, μία περιοχή πλούσια σε προλίνη και το μοτίβο YG (YG box) (εικόνα 1-7) (Burghes , & Beattie, 2009; Singh & Singh., 2018). Η περιοχή η οποία είναι πλούσια σε λυσίνη κωδικοποιείται κυρίως από το εξώνιο 2 (2b) του *SMN*, εντοπίζεται στο αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης και είναι απαραίτητη για την αλληλεπίδραση με άλλες πρωτεΐνες (Gemin 2) και με RNA (Burghes & Beattie, 2009;

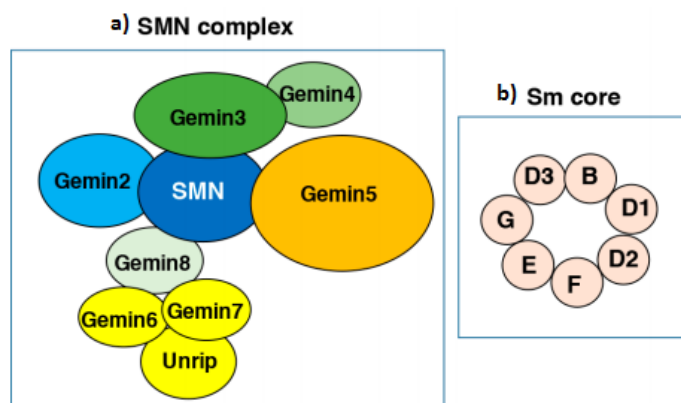
Martinez-Salas et al., 2020). Η γειτονική περιοχή αποτελείται από το μοτίβο Tudor, μία συντηρημένη περιοχή που ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1985 στη *Drosophila* (Arnold, W.D., et al., 2015). Ευθύνεται για την αλληλεπίδραση ανάμεσα στην SMN και στις Sm πρωτεΐνες συνεισφέροντας στη βιοσύνθεση των snRNPs, αλλά και για την αλληλεπίδραση τους με τα σωμάτια Cajal (CBs) τα οποία θα αναφερθούν παρακάτω (Selenko et al., 2001; Burghes & Beattie, 2009; Chaytow et al., 2018). Το μοτίβο που είναι καλυμμένο με προλίνη, εκτείνεται από το εξώνιο 4 έως 6 του γονιδίου και έχει ρόλο στη σύνδεση των προφιλινών, μικρών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στον έλεγχο της δυναμικής της ακτίνης (Giesemann et al., 1999; Burghes & Beattie, 2009). Στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης βρίσκεται το YG μοτίβο (YG box) και αποτελεί την υπεύθυνη περιοχή αυτό-ολιγομερισμού της (εικόνα 1-7). Προκύπτει από την κωδικοποίηση ενός τμήματος του εξωνίου 6 και κυρίως του εξωνίου 7, πράγμα που δικαιολογεί ότι οποιαδήποτε παραλλαγή ή απαλοιφή τους (D7-SMN) συμβάλλει στη μείωση αυτοολιγομερισμού και στην αστάθεια του προϊόντος (Nash, et al., 2016; Singh & Singh., 2018).



Εικόνα 1.7: Οι τέσσερις διαφορετικές λειτουργικές περιοχές της πρωτεΐνης SMN είναι: ο βασικός τομέας πλούσιος σε λυσίνη (μπλε), το μοτίβο Tudor (πράσινο), η περιοχή πλούσια σε προλίνη (κόκκινο) και το μοτίβο YG (μωβ) (Burghes & Beattie, 2009).

Τα snRNPs (spliceosomes) είναι σύμπλοκα που αποτελούνται από μικρό πυρηνικό RNA (small nuclear RNAs-snRNA) και πρωτεΐνες Sm (spliceosomal Sm) με ενεργό ρόλο στην ωρίμανση του mRNA (Li, D, et al., 2014; Nash et al., 2016; Chaytow et al., 2018). Συγκεκριμένα, είναι υπεύθυνα για την αποκοπή των ιντρονίων από το ανώριμο mRNA και τη συρραφή των εξωνίων, σχηματίζοντας το ώριμο mRNA (Li, D, et al., 2014; Chaytow et al., 2018). Απαραίτητη προϋπόθεση για τη βιογένεση τους στο κυτταρόπλασμα είναι η SMN πρωτεΐνη να αλληλεπιδράσει με άλλες πρωτεΐνες (Gemins 2-8) και όλο αυτό το σύμπλεγμα να αλληλεπιδράσει με την Unrip (συμπαράγοντας) (Carissimi et al., 2005; Nash et al., 2016; Chaytow et al., 2018). Στον πυρήνα δεν υπάρχει η Unrip (Carissimi et al., 2005) και η SMN μαζί με τις Gemins πρωτεΐνες σχηματίζουν τα σωμάτια «gems» με πρώτους τους Liu και Dreyfuss να το αποδεικνύουν (Liu, & Dreyfuss, G., 1996; Nash et al., 2016). Τα σωμάτια «gems» εντοπίζονται σε περιοχές υψηλής συγκέντρωσης snRNPs και συνδέονται με τα σωμάτια Cajal τα οποία είναι υπεύθυνα για το μεταβολισμό των snRNPs στον πυρήνα (Li, D,

et al., 2014). Ως εκ τούτου, τόσο η παραγωγή της όσο και η δράση της SMN πρωτεΐνης είναι αναγκαία για τη διαδικασία του pre-mRNA splicing (Nash et al., 2016).



Εικόνα 1.8: Αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης του συμπλόκου SMN-Gemins με Unrip (a) και απεικόνιση αλληλεπιδράσεων των Sm πρωτεϊνών (b) (Martinez-Salas et al., 2020).

1.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

1.5.1. Διαγνωστικά κριτήρια

Το 1992 πραγματοποιήθηκε μία διεθνής συνάντηση (International SMA Consortium) σκοπός της οποίας ήταν να καθοριστούν τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου, τα οποία το 2001 αναθεωρήθηκαν και συνοψίζονται παρακάτω (Munsat & Davies, 1992):

1) Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρείται αδυναμία η οποία είναι συμμετρική κυρίως κεντρομελική και συνοδεύεται από υποτονία.

2) Παρατηρείται απονεύρωση η οποία επιβεβαιώνεται με κλινικά κριτήρια, ηλεκτρομυογράφημα και βιοψία μυός.

3) Ως κριτήρια αποκλεισμού αποτελούν η αρθρογρύπωση, η αδυναμία προσώπου ή οφθαλμών και η συμμετοχή από το κεντρικό νευρικό σύστημα (εκτός από τους κινητικούς νευρώνες του νοτιαίου μυελού).

Το 2015 από την επιστημονική ομάδα Finkel et al (2015), ορίστηκε η διεθνής κατάταξη των ασθενών με SMA. Σύμφωνα με αυτή την κατάταξη, οι ασθενείς με SMA κατατάσσονται σε 5 κατηγορίες με βάση τη βαρύτητα και την ηλικία εμφάνισης των συμπτωμάτων. Ο τύπος SMA 0 αφορά ασθενείς με εμφάνιση συμπτωμάτων κατά την εμβρυική ηλικία. Για ασθενείς με SMA I, ορίστηκε το σύστημα “ABC”, το οποίο ταξινομεί τους ασθενείς αυτής της κατηγορίας σε τρεις υποκατηγορίες βάση της ηλικίας έναρξης συμπτωμάτων και της βαρύτητας. Ασθενείς που εμφανίζουν συμπτώματα τις 2 πρώτες εβδομάδες ζωής κατατάσσονται στον τύπο IA, εμφάνιση συμπτωμάτων έως τους 3 πρώτους μήνες SMAIB, και έως 6 μηνών SMAIC. Οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με SMAII εμφανίζουν συμπτώματα μεταξύ 6 έως 18 μηνών, οι ασθενείς με SMAIII μεταξύ 3 έως 12 ετών και με SMAIV κατά την ενηλικίωσή τους με πιο ήπια συμπτώματα (Finkel et al., 2015).

1.5.2. Βιοχημικός έλεγχος

Σε έναν βιοχημικό έλεγχο ελέγχονται μόνο τα επίπεδα κρεατινικής κινάσης (Creatine Phosphokinase-CPK) στον ορό του αίματος. Τα αποτελέσματα σε ασθενείς με SMA III έχουν δείξει μία ελαφρώς αύξηση (<10x) των επιπέδων κρεατινικής κινάσης από την ανώτερη φυσιολογική τιμή (Wirth, B, et al., 2020).

1.5.3. Βιοψία μυός

Η βιοψία μυός επί το πλείστον στοχεύει στην ανίχνευση των ατροφικών μυϊκών ινών σε ασθενείς τύπου I και II και σπάνια στην ανίχνευση υπερτροφικών μυϊκών ινών που εμφανίζονται σε πάσχοντες SMA τύπου I. Όμως, η βιοψία μυός και το ηλεκτρομυογράφημα δεν αποτελούν μέθοδο επιλογής για διάγνωση της SMA λόγω της αυξημένης αποτελεσματικότητας και διαθεσιμότητας των γενετικών δοκιμών (Arnold, W.D., et al., 2015; Wirth, B, et al., 2020).

1.5.4. Μοριακή Διάγνωση

Το αποτέλεσμα μίας κλινικής διάγνωσης σε ένα παιδί ή σε έναν ενήλικα επιβεβαιώνεται μόνο με τον γενετικό έλεγχο καθορίζοντας την ύπαρξη ή μη της νόσου (Arnold, W.D., et al., 2015; Britton et al., 2017), έχοντας 100% ειδικότητα και 95% ευαισθησία (Thirunavukkarasu et al., 2020). Το πρώτο επίπεδο διαγνωστικού ελέγχου στοχεύει στην εύρεση των ομόζυγων ελλειμμάτων/διπλασιασμών εξονίων του *SMN1* και *SMN2* γονιδίων με την τεχνική MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) (Wirth, B, et al., 2020). Χρησιμοποιώντας τη συγκεκριμένη τεχνική επιτυγχάνεται η ανίχνευση του 98% του συνόλου των ασθενών με SMA, διότι σε αυτό το ποσοστό ανιχνεύονται ομόζυγα ελλείμματα των εξονίων 7 και 8 του *SMN1* γονιδίου τα οποία είναι υπεύθυνα για τη νόσο. Επιπλέον, επιτυγχάνεται η εύρεση ετεροζυγωτών (φορέων) αλλά και η ταυτοποίηση του αριθμού αντιγράφων του *SMN2* γονιδίου το οποίο τροποποιεί την βαρύτητα της νόσου (Arnold, W. D., et al., 2015; Prior, & Nagan, 2016). Ωστόσο, το αποτέλεσμα είναι ποσοτικό και αποτυγχάνει να διακρίνει εάν τα αντίγραφα του γονιδίου *SMN1* βρίσκονται τοποθετημένα στο ίδιο χρωμόσωμα 5 (*cis* θέση) ή στο ομόλογό του (*trans* θέση) (Wirth et al., 2020). Επομένως, ένα άτομο με 2 αντίγραφα *SMN1* μπορεί να φέρει απαλοιφή του ενός *SMN1* γονιδίου στο ένα χρωμόσωμα 5 και διπλασιασμό στο άλλο και έτσι να είναι φορέας. Επιπλέον, με τη μέθοδο MLPA είναι αδύνατον να γίνει η ταυτοποίηση των σημειακών παραλλαγών στο υπόλοιπο 2% των ασθενών. Έτσι, είναι πιθανόν ασθενείς με ετερόζυγη έλλειψη ενός αλληλομόρφου *SMN1* να φέρονται ως φορείς, ενώ στο άλλο αλληλόμορφο υπάρχει σημειακή παραλλαγή (σύνθετοι ετεροζυγώτες), οδηγώντας σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (Arnold, W. D., et al., 2015; Wirth, B, et al., 2020). Για το λόγο αυτό, η ανίχνευση φορέων στην SMA θέλει ιδιαίτερη

διαχείριση και είναι απαραίτητο, όπως και σε όλους τους γενετικούς ελέγχους, να παρέχεται γενετική συμβουλευτική τόσο στον ασθενή όσο και στην οικογένειά του (Arnold et al., 2015).

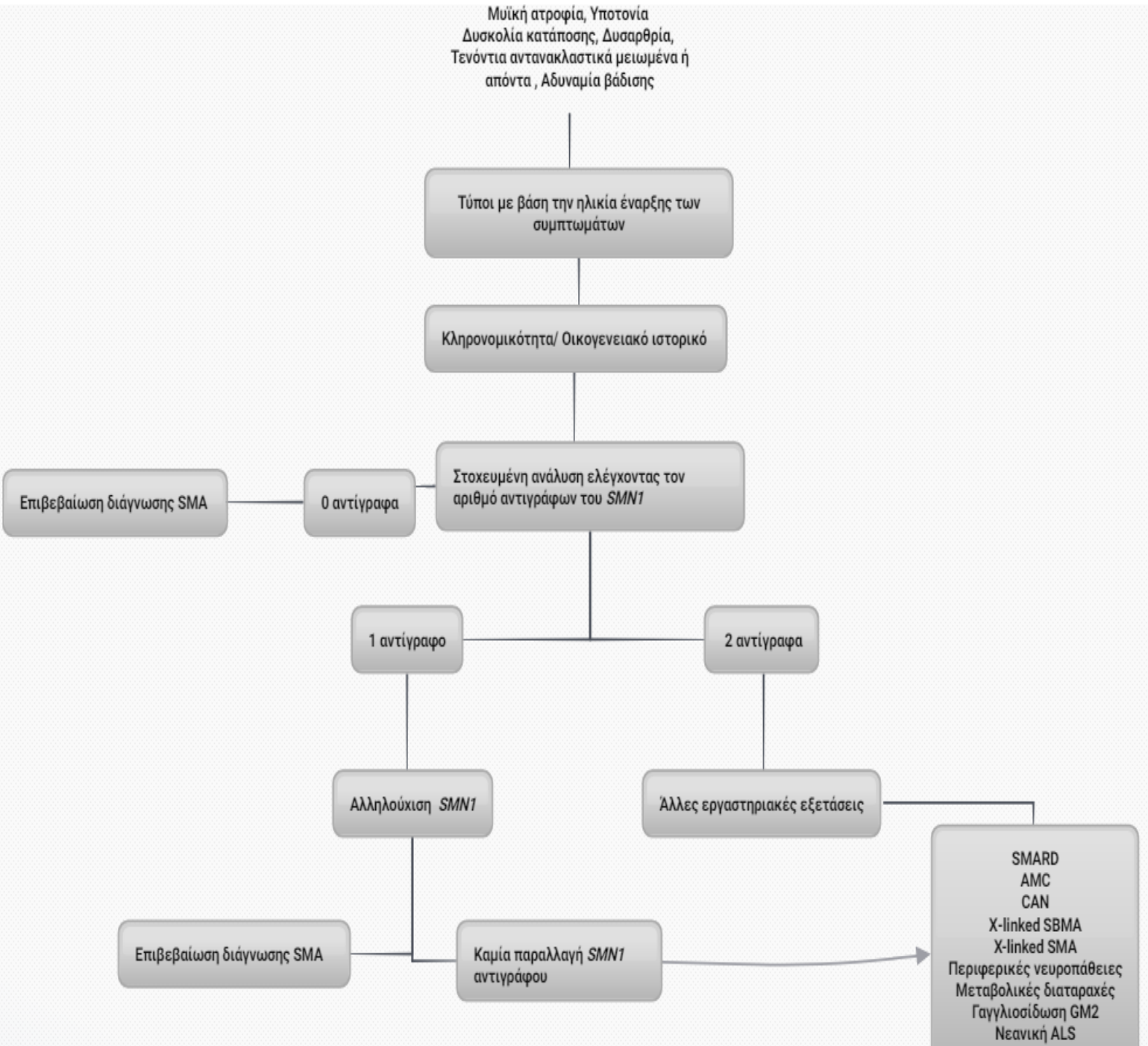
Συγκεκριμένα, σε περίπτωση αρνητικού ποσοτικού ελέγχου, ενώ υπάρχουν τα κλινικά χαρακτηριστικά, γίνονται περαιτέρω εργαστηριακές εξετάσεις συμπεριλαμβανομένης ηλεκτρομυογραφίας και ελέγχου νευρικής αγωγιμότητας του μυ (Thirunavukkarasu et al., 2020). Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος ηλεκτρομυογραφίας γίνεται μοριακός έλεγχος για τον εντοπισμό σημειακών παραλλαγών και επιβεβαίωση του αποτελέσματος (Wirth, B, et al., 2020; Thirunavukkarasu et al., 2020). Οι τεχνικές που εφαρμόζονται είναι:

- η τεχνική PCR μεγάλης εμβέλειας (Long Range PCR), σχεδιάζοντας κατάλληλους εκκινητές ώστε να ελέγχονται οι παραλλαγές που βρίσκονται μόνο στα εξώνια του γονιδίου *SMNI* (1 έως 8 εξώνιο) (Wirth, B, et al., 2020) και
- η τεχνική κλωνοποίησης επιθυμητού τμήματος cDNA του γονιδίου *SMNI*, γίνεται σχεδιασμός κατάλληλων εκκινητών για ενίσχυση του τμήματος cDNA και παρακολούθηση του προϊόντος μέσω PCR. Είναι τεχνική μέσω της οποίας μπορεί να αποκαλυφθούν παραλλαγές σε περιοχές εξωνίων και εσωνίων, που επηρεάζουν το μάτισμα (Wirth, B, et al., 2020).

Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να υπάρχει συναίνεση και συγκατάθεση πριν οποιαδήποτε ανάλυση. Όπως επίσης σημαντικό είναι να παρέχεται σωστή ενημέρωση μέσω γενετικής συμβουλευτικής πριν και μετά από κάθε εξέταση τόσο στους γονείς όσο και στους ασθενείς λόγω της πολυπλοκότητας του νοσήματος (Britton et al., 2017).

1.5.5. Διαφορική Διάγνωση

Η διαφορική διάγνωση γίνεται ώστε να αποκλειστούν ασθένειες με παρόμοια συμπτώματα με την SMA (Arnold et al., 2015; Prior & Nagan, 2016). Με την συγκεκριμένη διάγνωση μαζί με την SMA εξετάζονται η νεογνική SMA συνδεδεμένη με το χρωμόσωμα X και με αρθρογρύπωση, η γεφυροπαρεγκεφαλιδική υποπλασία, η προμήκο-νωτιαία μυϊκή ατροφία SBMA, αναπνευστική δυσχέρεια τύπου 1 με SMA (SMARD1), μιτοχονδριακές διαταραχές, μεταβολικές διαταραχές, πλάγια μυατροφική σκλήρυνση (Amyotrophic Lateral Sclerosis-ALS), μυασθένεια gravis, μυϊκές δυστροφίες δηλαδή ασθένειες που έχουν παρόμοια κλινικά χαρακτηριστικά αλλά διαφορετική μοριακή αιτιολογία (Arnold, W. D., et al., 2015; Prior, & Nagan, 2016). Σε αυτές τις περιπτώσεις εργαστηριακές εξετάσεις όπως βιοψία μυός, ηλεκτρομυογράφημα και MRI (Magnetic Resonance Image) δεν πραγματοποιούνται εφόσον η μοριακή διάγνωση αποτελεί την άμεση επιβεβαίωση του αποτελέσματος (εικόνα 1-9) (Arnold et al., 2015).



Εικόνα 1.9: Στρατηγική Διαφορικής Διάγνωσης μεταξύ SMA και άλλων παθήσεων με παρόμοια κλινικά χαρακτηριστικά. (Τροποποιημένο/μεταφρασμένο σχήμα από: Prior & Nagan, 2016).

1.6 ΑΝΑΚΟΥΦΙΣΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ

Η έγκαιρη διάγνωση και η σωστή διαχείριση της νόσου παίζουν καθοριστικό ρόλο στη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών καθώς μπορούν να ανακουφίσουν τα συμπτώματα χωρίς να εξαλείψουν την ασθένεια. Η θεραπευτική ομάδα παρέμβασης αποτελείται από μια διεπιστημονική ομάδα νευρολόγων, παιδιάτρων, ψυχολόγων, εργοθεραπευτών, φυσικοθεραπευτών και γενετιστών (Iannaccone, 2007).

1.6.1. Αναπνευστικές παρεμβάσεις

Στο πρώτο στάδιο γίνονται εξειδικευμένες εξετάσεις και ανάλογα την περίπτωση εφαρμόζονται οι κατάλληλες παρεμβάσεις.

Η υποστήριξη του αναπνευστικού συστήματος μπορεί να πραγματοποιηθεί με αναπνευστικές ασκήσεις μέσω φυσιοθεραπείας προλαμβάνοντας καταστάσεις όπως υποαερισμού και ατελεκτασίας (Iannaccone, 2007). Απαιτείται καθημερινή παρακολούθηση με σωστή διατροφή, ενυδάτωση και αγωγή με χορήγηση εισπνεόμενων βρογχοδιασταλτικών φαρμάκων για την αντιμετώπιση βρογχίτιδας σε ορισμένες περιπτώσεις. Σε βρέφη με τύπο SMA I η αναπνευστική υποστήριξη ενισχύει την αναπνοή τους μέσω μη επεμβατικού μηχανισμού αερισμού παρέχοντας ρινικές μάσκες που καλύπτουν μόνο τη μύτη τους ασθενούς ή στοματορινικές καλύπτοντας τη μύτη και το στόμα του ασθενούς (εικόνα 1-10) (Iannaccone, 2007; Wang, C, et al., 2007; Roper et al., 2010; Markström et al., 2010). Επίσης, χάρη στην τεχνολογία μπορεί και μετρίεται η νυχτερινή οξυμετρία για προσδιορισμό του οξυγόνου κατά τη διάρκεια της νύχτας σε βρέφη στο σπίτι μέσω παλμικής οξυμετρίας (Iannaccone, 2007; Wang, C, et al., 2007; Kolb & Kissel, 2015).

Άλλη παρέμβαση είναι η ανάγκη μηχανικού καθαρισμού των αεραγωγών από τις εκκρίσεις απομακρύνοντας την περίσσεια βλέννας και αποτρέποντας πιθανές λοιμώξεις, ενώ για πρόληψη πνευμονίας χορηγούνται αντιβιοτικά. Δεδομένου ότι η προσβολή των αναπνευστικών μυών μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση οξέων αναπνευστικών λοιμώξεων, η παρέμβαση ίσως κριθεί απαραίτητη χρησιμοποιώντας κατάλληλα πρωτόκολλα για προ- και μετεγχειρητική αποκατάσταση. Η προεγχειρητική φροντίδα είναι το πρώτο στάδιο της περιεγχειρητικής φροντίδας πραγματοποιώντας μαζί με τον πνευμονολογικό έλεγχο, την καρδιολογική εκτίμηση. Η μετεγχειρητική παρακολούθηση πραγματοποιείται από νευρολόγους, εργοθεραπευτές και φυσιοθεραπευτές συνεισφέροντας στην αποκατάσταση (Iannaccone, 2007; Schroth, 2009; Kolb & Kissel, 2015).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, υπάρχει αλληλεπίδραση των μυοσκελετικών προβλημάτων με την αναπνευστική ικανότητα και έχει προκύψει ότι και η σκολίωση με την αναπνευστική λειτουργία είναι άρρηκτα συνδεδεμένη, επομένως η έγκαιρη θεραπεία της είναι αναγκαία (Haaker & Fujak, 2013).



Εικόνα 1.10: Παιδί 5 μηνών με SMA χορηγώντας μάσκα που καλύπτει τη μύτη ως μηχανική υποστήριξη αερισμού (Iannaccone, 2007).

1.6.2. Μυοσκελετικές και ορθοπεδικές παρεμβάσεις

Συστήνονται φυσικοθεραπείες για αποφυγή συγκάμψεων και καταγμάτων αλλά και για ενδυνάμωση μυός, εκτελώντας ειδικά προγράμματα ασκήσεων, κολύμβησης και όποτε κρίνεται απαραίτητο γίνεται χρήση νάρθηκα υποστήριξης του κορμού ή καθήλωση των ασθενών σε αναπηρικά αμαξίδια (Haaker & Fujak, 2013; Kolb & Kissel, 2015). Ορθοπεδικές επεμβάσεις σε περιπτώσεις ασθενών ήπιας μορφής SMA, κρίνονται απαραίτητες έτσι ώστε να μη χάσουν την ικανότητα βάδισης. Αντίθετα, δε συνιστάται πραγματοποίηση επεμβάσεων σε ασθενείς με βαριά μορφή SMA διότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος επιδείνωσης της μυϊκής αδυναμίας (Haaker & Fujak, 2013). Απαραίτητη είναι και η πρόσληψη βιταμίνης D και ασβεστίου για την πρόληψη της οστεοπενίας (Kinali et al., 2004; Kolb & Kissel, 2015).

Η συντηρητική αντιμετώπιση της σκολίωσης είναι αναποτελεσματική (Haaker , & Fujak, 2013). Η χρήση κηδεμόνα ενδείκνυται σπάνια σε ασθενείς που μπορούν και περπατούν διότι η ακινησία του κορμού τους μπορεί να οδηγήσει σε μυϊκή ατροφία (Haaker & Fujak, 2013). Εντούτοις, δεν έχει ένδειξη εφαρμογής σε ασθενείς τύπου II και IIIa εφόσον δεν αντιμετωπίζεται η σκολίωση (Rodillo et al., 1989; Haaker & Fujak, 2013). Παρόλα αυτά, σε περιπτώσεις που είναι αδύνατη η χειρουργική επέμβαση μπορεί να γίνει προσωρινή χρήση κηδεμόνα (Haaker & Fujak, 2013). Η χειρουργική επέμβαση συνιστάται σε άτομα που δεν μπορούν να περπατήσουν ανεξάρτητα και ηλικίας <10-12 ετών (Fujak et al., 2012; Haaker & Fujak, 2013). Βελτιώνοντας τη στάση του σώματος τους στο αμαξίδιο, διασφαλίζεται η άνεση τους σε αυτό, ενισχύεται η αυτοπεποίθησή τους αλλά και η ποιότητα ζωής τους (Haaker & Fujak, 2013).

1.6.3. Γαστρεντερικές και Διατροφικές παρεμβάσεις

Ανάλογα της σοβαρότητας της νόσου συστήνονται διαφορετικές παρεμβάσεις. Ορισμένοι ασθενείς παρόλο που έχουν χαμηλό ΔΜΣ (Δείκτης Μάζας Σώματος), εξαιτίας της απώλειας μυϊκής μάζας, διατρέχουν υψηλό κίνδυνο να γίνουν υπέρβαροι και για αυτό, συνιστάται τακτική παρακολούθηση από διατροφολόγο (Wang, C, et al., 2007; Kolb & Kissel, 2015). Η αποφυγή περιόδων ασιτίας και νηστείας είναι αναγκαία για να μην ενισχύεται η απώλεια μυϊκής μάζας (Haaker & Fujak, 2013). Ένας τρόπος αντιμετώπισης της ασιτίας είναι η διαδερμική ενδοσκοπική τοποθέτηση σωλήνα γαστροστομίας ή PEG (Percutaneous Endoscopic Gastronomy) (Haaker & Fujak, 2013). Όσον αφορά την αντιμετώπιση της γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης σε βρέφη που πάσχουν από SMA I, η συνηθέστερη τεχνική που εφαρμόζεται είναι η λαπαροσκοπική θολοπλαστική κατά Nissen (Iannaccone, 2007; Durkin, 2008; Kolb & Kissel, 2015).

1.7 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

1.7.1. Nusinersen (Spinraza™)

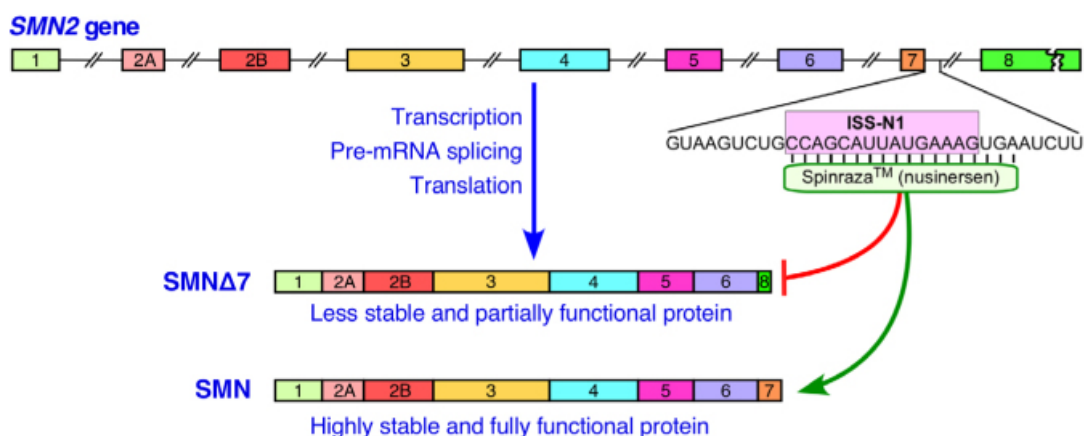
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, από την έκφραση του *SMN2* γονιδίου παράγεται μικρό ποσοστό φυσιολογικής πρωτεΐνης SMN. Αυτή, η μικρή ποσότητα λειτουργικής πρωτεΐνης που παράγεται είναι ικανή να τροποποιήσει τη βαρύτητα της νόσου στους ασθενείς και καθορίζεται από τον αριθμό αντιγραφών του *SMN2* (Wirth, B, et al., 1997; 2020). Εξαιτίας αυτού, θεραπείες στοχεύουν στο *SMN2* γονίδιο με χρήση αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (Antisense Oligonucleotides-ASO) και αποσκοπούν στην αύξηση του ποσοστού παραγωγής λειτουργικής πρωτεΐνης. Το 2004 από τον Δρ. Ravindra Singh και την ομάδα του, ταυτοποιήθηκε η αλληλουχία του γονιδίου *SMN2* στην οποία μπορούν να δράσουν με αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια. Αργότερα, το 2011 ανακαλύφθηκε το Nusinersen από τον Δρ. Adrian Krainer σε συνεργασία με τους Δρ. Frank Bennet και Frank Rigo για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενών με SMA (Hua et al., 2010; Ottesen, 2017). Στις 23 Δεκεμβρίου 2016 εγκρίθηκε η κυκλοφορία του Nusinersen από τις Ionis Pharmaceuticals και Biogen, με εμπορική ονομασία Spinraza™ από τον FDA ([L.FDA](#)) και στις 30 Μαΐου 2017 εγκρίθηκε και από τον EMA (εικόνα 1-11) ([L.EMA](#); Arnold & Fischbeck, 2018).



Εικόνα 1.11: Συσκευασία φαρμάκου Nusinersen το οποίο είναι διαθέσιμο με εμπορική ονομασία Spinraza™. (Πηγή: <https://smanewstoday.com/news-posts/2019/09/19/higher-doses-of-spinraza-to-be-tested-in-new-phase-2-3-trial/>). Accessed on 25nd January 2021, πρόσβαση 25/01/21.

Το συγκεκριμένο φάρμακο βασίζεται στο σχεδιασμό ενός τροποποιημένου αντινοσηματικού ολιγονουκλεοτιδίου με ομάδες 2'-O- (2-μεθοξυαιθυλ) δρώντας ως ρυθμιστής ματίσματος του pre-mRNA του *SMN2* (Chiriboga et al., 2016; Hoy, 2017; Ottesen, 2017). Αρχικά, υβριδίζεται συμπληρωματικά στη θέση Intrinsic Splicing Silencer N1 (ISS-N1) του ιντρονίου 7 του *SMN2* γονιδίου (εικόνα 1-12) (Ottesen, 2017; Li Q, 2020). Έτσι, επιτυγχάνεται η απομάκρυνση των κατασταλτικών παραγόντων ματίσματος (hnRNP-A1/A2) διευκολύνοντας την πρόσδεση των U1 μικρών ριβονουκλεοπρωτεϊνικών μορίων στην 5' θέση ματίσματος του ιντρονίου 7. Αποτέλεσμα αυτού, είναι να προάγουν την ένταξη του εξωνίου 7 στο ώριμο mRNA του *SMN2*. Το αποτέλεσμα χρήσης του Spinraza είναι η παραγωγή mRNA του γονιδίου *SMN2* με διατηρημένο το εξώνιο 7 και τελικά παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης SMN πλήρους μήκους (Chiriboga et al., 2016; Ottesen, 2017; Bennett et al., 2019; Li Q, 2020).

Η χορήγηση του φαρμάκου πραγματοποιείται με ενδοραχιαία έγχυση συνήθως μέσω οσφυνωτιαίας παρακέντησης (Arnold, & Fischbeck, 2018, pp. 591-601). Η συνιστώμενη δόση του φαρμάκου είναι 12mg (5mL) ανά δόση. Οι 3 πρώτες δόσεις χορηγούνται ανά διάστημα 14 ημερών και η 4^η δόση (δόση συντήρησης) χορηγείται μετά από 30 ημέρες από τη τελευταία δόση και επαναλαμβάνεται κάθε 4 μήνες ([Nusinersen prescribing information](#); [2.EMA](#)).



Εικόνα 1.12: Μηχανισμός δράσης του φαρμάκου Spinraza™ (Ottesen, 2017).

1.7.2. Risdiplam (Evrysdi™)

Πρόσφατα στις 7 Αυγούστου του 2020 ο FDA ενέκρινε και άλλο φάρμακο, τροποποιητή ματίσματος, για τη θεραπεία της νωτιαίας μυϊκής ατροφίας (ROCHE; 4.FDA) και ο EMA στις 30 Μαρτίου 2021 για ασθενείς πάνω από 2 μηνών και για τους τύπους I, II, III. Το Risdiplam με εμπορική ονομασία Evrysdi™ αναπτύχθηκε από την Roche, PTC Therapeutics και το Ίδρυμα SMA (εικόνα 1-13) (Singh et al., 2020).

Πρόκειται για ένα μικρό μόριο μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η τροποποίηση του ματίσματος του pre-mRNA του SMN2 γονιδίου (Messina, & Sframeli, 2020). Δεσμεύεται και στον εξονικό ενισχυτή ματίσματος 2 (Exonic Splicing Enhancer 2- ESE2) του εξωνίου 7 του pre-mRNA του SMN2 και στη 5' θέση ματίσματος (5' splice site-5'ss) του ιντρονίου 7 διευκολύνοντας την πρόσδεση των U1 snRNP. Ως αποτέλεσμα, επιτυγχάνεται η συμπερίληψη του εξωνίου 7 στο ώριμο mRNA και κατ' επέκταση παραγωγή πρωτεΐνης SMN πλήρους μήκους (Messina & Sframeli, 2020).



Εικόνα 1.13: Συσκευασία φαρμάκου Risdiplam που είναι διαθέσιμο στο εμπόριο με ονομασία Evrysdi™. (Πηγή: <https://smanewstoday.com/faqs/2020/08/07/faqs-about-evrysdi-risdiplam/>).

Accessed on 2nd February 2021, πρόσβαση 2/02/21.

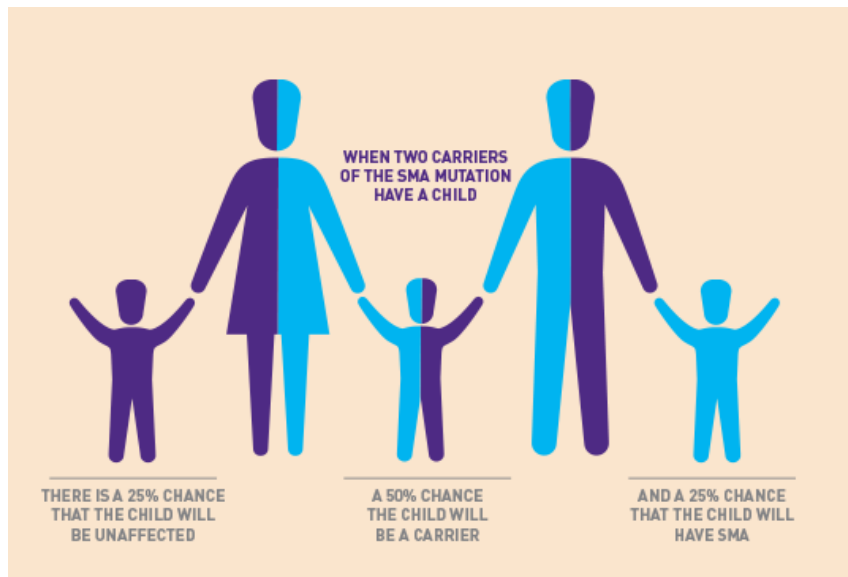
Πριν την έγκριση από τον FDA διεξήχθησαν πολυκεντρικές κλινικές μελέτες του Risdiplam (FIREFISH, SUNFISH) σε άτομα με διαφορετική ηλικία έναρξης και βαρύτητα συμπτωμάτων για τη διερεύνηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου. Από τις συγκεκριμένες μελέτες καταγράφηκαν θετικά αποτελέσματα και ακολούθησε η έγκρισή του. Ωστόσο, υπό εξέλιξη βρίσκονται άλλες δύο κλινικές μελέτες (JEWELFISH, RAINBOWISH) για τη διερεύνηση της αύξησης της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του (Messina, & Sframeli, 2020; [ROCHE](#); [Genentech](#)).

Αποτελεί το πρώτο φάρμακο για θεραπεία της SMA το οποίο είναι πόσιμο και μπορεί να ληφθεί στο σπίτι. Επίσης, μπορεί να χορηγηθεί σε ασθενείς με νοτιαία μυϊκή ατροφία ηλικίας δύο μηνών και άνω (Messina, & Sframeli, 2020; [ROCHE](#); [4.FDA](#)).

1.8 ΠΡΟΛΗΨΗ

1.8.1. Έλεγχος φορείας

Όπως έχει αναφερθεί στην τυπική της μορφή, η SMA κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο (Farrar , & Kiernan, 2015), δηλαδή, το νόσημα εκδηλώνεται σε παιδιά των οποίων οι γονείς είναι ασυμπτωματικοί φορείς (Gulani et al., 2020), ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις (2%) μπορεί η εκδήλωση του νοσήματος να οφείλεται σε *de novo* παραλλαγές (Wirth, B, et al., 1997). Σε περιπτώσεις φορείας των επικείμενων γονέων, ο κίνδυνος απόκτησης παιδιού με SMA ανέρχεται στο 25% (1 στους 4), η πιθανότητα απόκτησης παιδιού φορέα (είτε με τη μητρική, είτε με την πατρική παραλλαγή) είναι στο 50% και η πιθανότητα απόκτησης παιδιού που δεν είναι φορέας παραλλαγής στο γονίδιο *SMN1* είναι στο 25% (εικόνα 1-14) (Prior & Nagan, 2016; Gulani et al., 2020). Συνεπώς, τόσο ο προγεννητικός έλεγχος όσο και ο προεμφυτευτικός έλεγχος σε περιπτώσεις εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF), είναι σημαντικοί καθώς είναι τα μέσα που προλαμβάνουν τη γέννηση παιδιού με SMA (Arnold, W. D., et al., 2015).

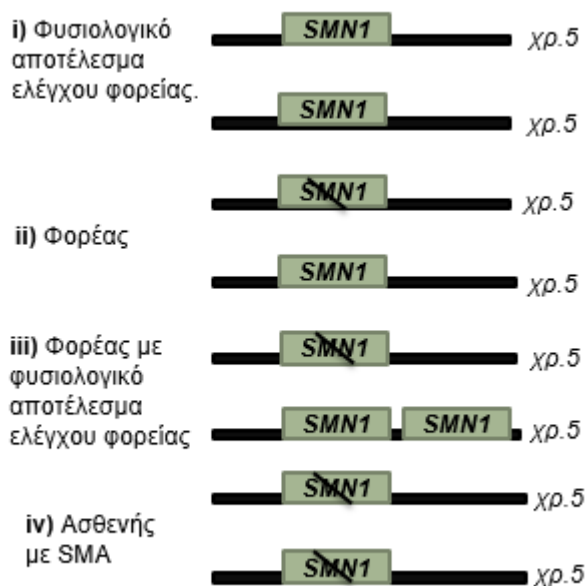


Εικόνα 1.14: Κληρονομηση αυτοσωμικού υπολειπόμενου νοσήματος. (Πηγή: <https://www.curesma.org/carriers-of-sma/>). Accessed on 10th January 2021, πρόσβαση 10/01/2021.

Το Αμερικανικό Κολλέγιο Ιατρικής Γενετικής (ACMG) (Carré & Empey, 2016) και το Αμερικανικό Κολλέγιο Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (ACOG) συστήνουν να γίνεται προληπτικός έλεγχος ανίχνευσης φορείας SMA (carrier testing) σε όλα τα ζευγάρια, ανεξαρτήτου οικογενειακού ιστορικού και εθνικότητας τα οποία επιθυμούν να προχωρήσουν σε εγκυμοσύνη ή να γίνεται έλεγχος στην αρχή της κύησης (Britton et al., 2017).

Ο έλεγχος φορείας που διενεργείται στο γενικό πληθυσμό γίνεται για προληπτικούς λόγους, εξαιτίας της σοβαρότητας και της συχνότητας φορέων της νόσου (Prior , & Nagan, 2016). Ενώ, ο έλεγχος φορείας των γονέων των ασθενών πραγματοποιείται προκειμένου να διαπιστωθεί εάν η ασθένεια οφείλεται σε *de novo* παραλλαγή ή έχει κληρονομηθεί και κατόπιν παρέχεται γενετική συμβουλευτική δίνοντας τη δυνατότητα πρόληψης σε επόμενη κύηση (Prior & Nagan, 2016). Οι οδηγίες για παραπομπή προγεννητικού ελέγχου σε έμβρυα γίνονται μόνο σε κυήσεις υψηλού κινδύνου με λήψη δείγματος από χοριακή λάχνη ή αμνιακό υγρό (Arnold, W.D., et al., 2015; Prior , & Nagan, 2016). Κυήσεις υψηλού κινδύνου, θεωρούνται οι κυήσεις οι οποίες έχουν αυξημένες πιθανότητες απόκτησης παιδιού με SMA λόγω οικογενειακού ιστορικού, ή λόγω υπερηχογραφικών ευρημάτων (Prior , & Nagan, 2016).

Αντίστοιχα με το διαγνωστικό έλεγχο έτσι και για τον έλεγχο φορείας δεν αποκλείεται η εύρεση δύο αντιγράφων του γονιδίου *SMN1* στο ίδιο χρωμόσωμα (*in cis*) καταλήγοντας σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (Prior , & Nagan 2016; Britton et al., 2017). Ο γονέας στον οποίο ανιχνεύονται και τα δύο αντίγραφα *SMN1* στο ίδιο χρωμόσωμα, θεωρείται φορέας της νόσου. Έχει 50% πιθανότητες να μεταδώσει στους απογόνους του είτε το χρωμόσωμα εκείνο στο οποίο ανιχνεύεται έλλειμμα εξωνίων 7 ή/και 8 του γονιδίου *SMN1* είτε εκείνο που φέρει τη σημειακή παραλλαγή του γονιδίου *SMN1* (εικόνα 1-15) (Britton et al., 2017).

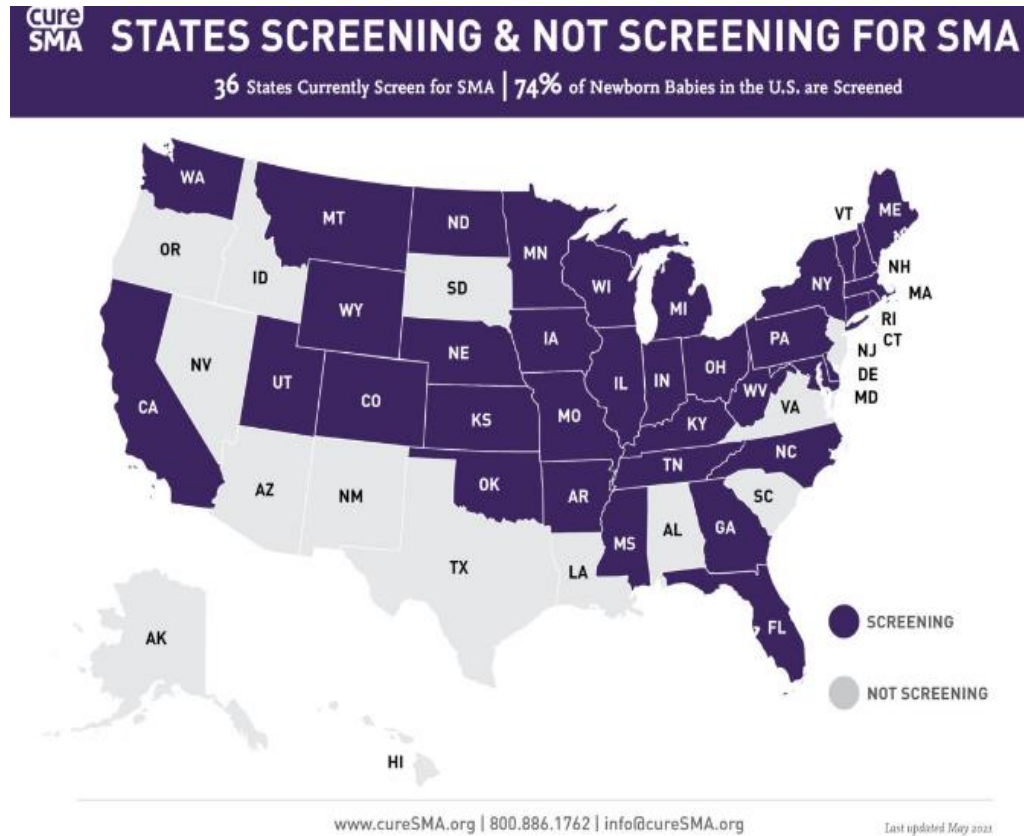


Εικόνα 1.15: I) Φυσιολογικά στον άνθρωπο ανιχνεύονται δύο αντίγραφα του γονιδίου *SMN1*, ένα σε κάθε ένα χρωμόσωμα 5. II) Φορέας με ανενεργό το ένα από τα δύο αντίγραφα *SMN1*. III) Φορέας με τα δύο αντίγραφα *SMN1* στο ίδιο χρωμόσωμα και στο ομόλογο του είναι ανενεργό, περίπτωση με φυσιολογικό αποτέλεσμα στον έλεγχο φορέας. IV) Ασθενής SMA με μη λειτουργικά και τα δύο αντίγραφα *SMN1* (τροποποιημένο/μεταφρασμένο σχήμα από: Britton et al., 2017).

1.9 ΝΕΟΓΝΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι ειδικοί έχουν επισημάνει ότι όσο πιο άμεσα χορηγηθεί θεραπεία αμέσως μετά τη γέννηση παιδιού με SMA, τόσο λιγότερη θα είναι η απώλεια των κινητικών νευρώνων και κατ'έπекταση θα επιβραδύνει την εξέλιξη της νόσου παρέχοντας στο πάσχον παιδί μια πιο φυσιολογική ζωή (Jędrzejowska., 2020). Επομένως, ο διαγνωστικός έλεγχος νεογνών (Newborn Screening-NBS) για Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (SMA) επιτρέπει τον εντοπισμό προσυμπτωματικών νεογνών. Έχοντας αυτό κατά νου, η Ευρωπαϊκή Συμμαχία ιδρύθηκε για τον καθολικό διαγνωστικό έλεγχο νεογνών με SMA στην Ευρώπη. Στα ιδρυτικά μέλη της Συμμαχίας περιλαμβάνονται το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Αναφοράς EURO-NMD, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Σπάνιων Νοσημάτων EURORDIS, η Συμμαχία TREAT-NMD, η Ευρωπαϊκή Συμμαχία των Συλλόγων Νευρομυϊκών Διαταραχών (EAMDA) και οι φαρμακευτικές εταιρείες Biogen, Novartis Gene Therapies και Roche. Έτσι στις 26 Μαρτίου του 2021, η Ευρωπαϊκή Συμμαχία δημοσίευσε την πρώτη της Λευκή Βίβλο με τίτλο «*Spinal muscular atrophy: screen at birth, save lives*» και είναι διαθέσιμη στη διεύθυνση: <https://www.sma-screening-alliance.org/tools/>, καλώντας όλα τα κράτη της Ευρώπης να διασφαλίσουν την εφαρμογή προληπτικού ελέγχου της γενετικής παραλλαγής η οποία ευθύνεται για το SMA σε

όλα τα νεογνά έως το 2025. Επιπλέον, 36 πολιτείες στις ΗΠΑ, έως και στη 1^η Μαΐου του 2021 είχαν εντάξει τον προληπτικό διαγνωστικό έλεγχο νεογνών για SMA και ελέγχθηκε το 74% των νεογνών (εικόνα:1-16) ([CureSMA](https://www.curesma.org)).



Εικόνα 1.16: Πολιτείες των ΗΠΑ, οι οποίες έχουν εντάξει το διαγνωστικό νεογνικό έλεγχο για SMA. (Πηγή: <https://www.curesma.org/newborn-screening-for-sma/>). Accessed on 5th May 2021, πρόσβαση 05/05/2021.

2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Ως γονιδιακή θεραπεία, σύμφωνα με την Αμερικανική Υπηρεσία Φαρμάκων και Τροφίμων (Food and Drug Administration-FDA), ορίζεται μια μορφή θεραπείας που επιδιώκει την αντικατάσταση, την εισαγωγή ή την απενεργοποίηση ενός ή περισσότερων γονιδίων στα κύτταρα ενός ατόμου, για την αποκατάσταση ενός παθολογικού φαινοτύπου (Wirth, T, et al., 2013; [5.FDA](#)). Η μεταφορά των θεραπευτικών προϊόντων πραγματοποιείται είτε μέσω αδρανοποιημένων ιικών φορέων είτε μέσω μη ιικών φορέων, είτε με «γυμνό» DNA (Wirth, T, et al., 2013; Collins , & Thrasher, 2015).

2.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Εκτιμάται ότι η αφορμή για την ανάπτυξη της εν λόγω τεχνικής προέκυψε τις δεκαετίες του '60 και του '70. Το 1966, ο Edward Tatum ήταν πρωτοπόρος μιας ιδέας, προτείνοντας τη δυνατότητα μεταφοράς γενετικού υλικού σε σωματικά κύτταρα χρησιμοποιώντας ιικούς φορείς (Tatum, 1966). Με βάση τις θεωρίες του Tatum, το 1968 οι Rogers και Pfuderer απέδειξαν την ιδέα μεταφοράς γονιδίου με τη μεσολάβηση ιικού φορέα. Εφάρμοσαν την πρώτη δοκιμή χρησιμοποιώντας τον ιό του θηλώματος (Shore Papilloma, SPV), για τη μεταφορά του θεραπευτικού γονιδίου αργινάσης σε δύο θήλαα παιδιά. Οι δύο ασθενείς είχαν διαταραχή του κύκλου ουρίας, και παρόλο που έλαβαν γονιδιακή θεραπεία, δεν επετεύχθη κάποιο θεραπευτικό αποτέλεσμα (Rogers , & Pfuderer, 1968). Αργότερα, το 1972, δημοσιεύθηκε στο Science ένα άρθρο με τίτλο «*Gene Therapy for Human Genetic Disease*» από τους Theodore Friedmann και Richard Roblin, στο οποίο έγινε αναφορά στην πρόταση του Rogers. Ως αποτέλεσμα η γονιδιακή θεραπεία ξεκίνησε να θεωρείται ως πιθανή θεραπεία για την καταπολέμηση γενετικών διαταραχών (Friedmann , & Roblin , 1972). Ωστόσο βάσει της πρότασης αυτής, δεν υπήρχαν σημαντικές εξελίξεις της θεραπείας έως και το 1999 (Wirth, T, et al., 2013).

Η πρώτη επιτυχημένη κλινική δοκιμή ξεκίνησε το 1999 σε ασθενείς που νόσησαν από Βαριά Συνδυασμένη Ανοσοανεπάρκεια (Severe Combined Immunodeficiency-X1- SCID-X1). Η Βαριά Συνδυασμένη Ανοσοανεπάρκεια είναι ένα σπάνιο θανατηφόρο φυλοσύνδετο νόσημα. Χαρακτηρίζεται από έλλειψη συνύπαρξης T και B λεμφοκυτταρικής σειράς, ενώ σε πολλές περιπτώσεις υπάρχει έλλειψη λειτουργίας των φυσικών φονικών κυττάρων λεμφοκυττάρων (Natural Killer cells-NK). Οι διαταραχές αυτές μπορούν να προκαλέσουν έντονη ευαισθησία σε πολύ σοβαρές λοιμώξεις. Το αποτέλεσμα των πειραμάτων που διεξήχθησαν, ήταν θετικό, καθώς σε δύο ασθενείς που έλαβαν γονιδιακή θεραπεία, ανιχνεύτηκαν να εκφράζονται T, B και NK (Natural Killer cells) λεμφοκύτταρα, ενώ οι μετρήσεις τους είχαν βελτιωθεί σε σύγκριση με αυτούς που δεν είχαν λάβει θεραπεία (Cavazzana-Calvo et al., 2000). Παρόλο την επιτυχία, όλες οι κλινικές μελέτες πάγωσαν το 2003 λόγω ανάπτυξης T οξείας λεμφοβλαστικής

λευχαιμίας (T-cell Acute Lymphoblastic Leukaemia- T-ALL) που προκλήθηκε μετά από ενεργοποίηση του ογκογονιδίου *LMO2* από την ενσωμάτωση ρετροϊού φορέα σε συγκεκριμένη θέση στο γονιδίωμα του κυττάρου-στόχου (διεισδυτική μεταλλαξιογένεση-insertional mutagenesis) (Hacein-Bey-Abina et al., 2003; Menon et al., 2015). Την ίδια εποχή το 1999, μια άλλη κλινική μελέτη διεξήχθη στο πανεπιστήμιο της Πενσυλβάνιας στη Φιλαδέλφεια, αποτέλεσμα της οποίας ήταν να καταλήξει ο πρώτος ασθενής. Ο Jesse Gelsinger, 18 ετών ασθενής, που συμμετείχε στην κλινική δοκιμή έλαβε γονιδιακή θεραπεία, με σκοπό την αντιμετώπιση ανεπάρκειας τρανσκαρβαμυλάσης της ορνιθίνης. Μετά τη χορήγηση υψηλής δόσης αδενοϊού εμφάνισε ανοσολογική αντίδραση (μη-ειδική ανοσία) προς την πρωτεΐνη του καψιδίου του αδενοϊού που χρησιμοποιήθηκε ως φορέας του θεραπευτικού γονιδίου και κατέληξε 4 ημέρες αργότερα. Έπειτα από αυτό το τραγικό συμβάν, οι κλινικές δοκιμές περιορίστηκαν τόσο στις ΗΠΑ όσο και στην ΕΕ (Stolberg, 1999). Στις 16 Οκτωβρίου του 2003, στην Κίνα εγκρίθηκε από την Κρατική Υπηρεσία Φαρμάκων και Τροφίμων της Κίνας (Saudi Food and Drug Authority-SFDA), το πρώτο γονιδιακό προϊόν για την αντιμετώπιση καρκίνου του εγκέφαλου και του λαιμού (Pearson et al., 2004; Li, B, et al., 2017).

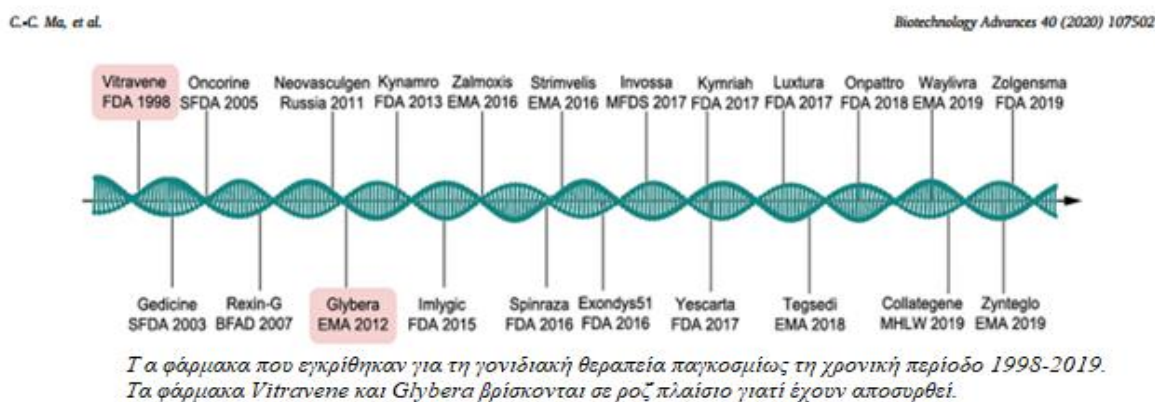
Μετά από αρκετά χρόνια, στις 19 Ιουλίου του 2012, εγκρίθηκε και από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) το πρώτο φάρμακο γονιδιακής θεραπείας το Glybera. Αναπτύχθηκε από την Amsterdam Molecular Therapeutics (AMT) και αργότερα κυκλοφόρησε στο εμπόριο από την UniQure. Το Glybera ενδείκνυται για ασθενείς με διάγνωση ανεπάρκειας λιποπρωτεϊνικής λιπάσης καθώς το θεραπευτικό πρωτόκολλο στηρίζεται στη χρήση ενός ιϊκού φορέα αδενοσυσχετιζόμενου ιού (Adeno-Associated Viruses-AAV) παρέχοντας το φυσιολογικό αντίγραφο του γονιδίου της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στα μυϊκά κύτταρα. Έτσι, επιτυγχάνεται η έκφραση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στο μυϊκό ιστό. Τελικά, η UniQure απεφάνθη να αποσύρει το φάρμακο λόγω του υψηλού κόστους αλλά και λόγω του ότι είναι μία σπάνια ασθένεια (Ylä-Herttuala, 2012). Παρόλο που απεσύρθηκε το Glybera, η έγκρισή του σηματοδότησε μία νέα εποχή στην ανάπτυξη της γονιδιακής θεραπείας με στόχο βελτιωμένους ιϊκούς φορείς, και έως και σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί πολλές κλινικές μελέτες που οδήγησαν στην έγκριση γονιδιακών φαρμάκων (Kaufmann et al., 2013; Hanna et al., 2017).

Η πιο σημαντική πρόοδος έγινε τον Οκτώβριο του 2015 με την έγκριση από τον FDA του Talimogene laherparepvec (T-Vec) με εμπορική ονομασία Imlygic. Το Imlygic εγχέεται απευθείας σε όγκους μελανώματος οι οποίοι είναι αδύνατο να αντιμετωπιστούν με χειρουργική παρέμβαση (Ott et al., 2016). Ένα χρόνο αργότερα, το 2016 έλαβαν έγκριση από τον FDA, δύο αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτιδικά φάρμακα για την καταπολέμηση δύο νευρομυϊκών νοσημάτων. Πρώτο το Spinraza (nusinersen) για την αντιμετώπιση της Νωτιαίας Μυϊκής Ατροφίας (Spinal Muscular Atrophy, SMA) (Glascock et al., 2017; Ottesen, 2017) και δεύτερο το Exondys 51 (Eteplirsen) για τη μυϊκή δυστροφία Duchenne (Korinthenberg, 2019).

Επιπλέον, το 2017 σημειώθηκε επιτυχία με το πρώτο φάρμακο βασισμένο σε γενετικά τροποποιημένα αυτόλογα Τ-λεμφοκύτταρα τα οποία φέρουν έναν χμιαϊκό αντιγονικό υποδοχέα (Chimeric Antigen Receptor T cells-CAR-T therapy) και το οποίο έλαβε άδεια κυκλοφορίας από τον FDA. Το Yescarta χορηγείται για τη θεραπεία αιμοποιητικών κακοηθειών σε ενήλικες ασθενείς με ανθεκτικό ή υποτροπιάζον λέμφωμα, διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β-κύτταρα (Diffuse Large B-Cell Lymphoma-DLBCL) και πρωτοπαθές λέμφωμα μεσοθωρακίου από Β-κύτταρα (Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma-PMBCL) (Chow et al., 2018; Yip, & Webster, 2018). Ενώ, το δεύτερο φάρμακο που εγκρίθηκε από τον FDA την ίδια εποχή, είναι το Luxturna από την Spark Therapeutics και ενδείκνυται για την αντιμετώπιση κληρονομικής αμφιβληστροειδικής δυστροφίας και συγκεκριμένα σε ασθενείς που έχουν μετάλλαξη στο γονίδιο *RPE65* (Dias et al., 2018). Πρόσφατα, ένα άλλο σημαντικό ορόσημο στην εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας έλαβε χώρα και αφορά την αντιμετώπιση SMA. Η φαρμακοβιομηχανία Novartis πήρε έγκριση από τον FDA στις 24 Μαΐου του 2019 για το φάρμακο onasemnogene abernarvonες με εμπορική ονομασία Zolgensma (Hoy, 2019).

2.3 ΣΤΟΧΟΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Ο στόχος των κλινικών δοκιμών και κατ' επέκταση της γονιδιακής θεραπείας είναι η αποκατάσταση ενός παθολογικού φαινοτύπου όπως είναι, για παράδειγμα η κυστική ίνωση (Griesenbach et al., 2015) η αιμορροφιλία (Nathwani et al., 2014), η δρεπανοκυτταρική αναιμία (Ribeil et al., 2017) καθώς και η αντιμετώπιση επίκτητων ασθενειών όπως είναι διάφοροι τύποι καρκίνου, νόσος AIDS (DiGiusto et al., 2010) αλλά και νευρολογικές ασθένειες όπως Alzheimer και νόσος Parkinson (Patil et al., 2005). Ωστόσο, περισσότερο από το 60% των κλινικών δοκιμών για παραγωγή προϊόντων γονιδιακής θεραπείας, που διεξήχθησαν ή βρίσκονται σε εξέλιξη, αφορά τη θεραπεία κακοηθειών (Ginn et al., 2018) ενώ, 22 φάρμακα είχαν εγκριθεί έως τον Αύγουστο του 2019 από τους αρμόδιους οργανισμούς (Ma et al., 2020). (εικόνα 2-1).



Εικόνα 2.1: Σχηματική απεικόνιση φαρμάκων που έχουν εγκριθεί για τη γονιδιακή θεραπεία παγκοσμίως από το 1998 έως το 2019 (τροποποιημένο/μεταφρασμένο σχήμα από: Ma et al., 2020).

Συμπερασματικά, έχει πραγματοποιηθεί πληθώρα μελετών σε ασθενείς με μονογονιδιακά νοσήματα, καρκινικά, λοιμώδη, καρδιαγγειακά, νευρολογικά, οφθαλμικά, φλεγμονώδη αλλά και άλλα νοσήματα (Ginn et al., 2018).

2.4 ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στις παραπάνω ενότητες, η γονιδιακή θεραπεία στοχεύει στην επιδιόρθωση ενός παθολογικού φαινοτύπου και αυτό επιτυγχάνεται χάρη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA και με τη βοήθεια διαφορετικών προσεγγίσεων και εφαρμογών ανάλογα την περίπτωση. Στις παρακάτω παραγράφους παρουσιάζονται κάποιοι από τους χειρισμούς γονιδίων που είχαν χρησιμοποιηθεί και χρησιμοποιούνται στις τρέχουσες θεραπείες.

- **Θεραπεία ενίσχυσης γονιδίου (gene augmentation therapy):**

Αποτελεί την πιο απλή στρατηγική γονιδιακής θεραπείας. Πραγματοποιείται η μεταφορά και η προσθήκη ενός φυσιολογικού αλληλόμορφου στο κύτταρο-στόχο, με αποτέλεσμα την κωδικοποίηση και παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης. Εφαρμόζεται κυρίως σε μονογονιδιακά νοσήματα που κληρονομούνται με υπολειπόμενο τρόπο στα οποία έχουμε παραγωγή είτε μη λειτουργικού προϊόντος είτε λειτουργικού προϊόντος, μειωμένης ποσότητας. Η επιτυχία της στην πράξη εξαρτάται από δύο παράγοντες α) τα επίπεδα παραγωγής της πρωτεΐνης μετά την προσθήκη του γονιδίου και β) εάν είναι αναστρέψιμη η νόσος. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη τεχνική αναφέρεται συχνά με τον όρο γονιδιακή αντικατάσταση (gene replacement) και μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε *in vivo* είτε *ex vivo* (Wang, D., & Gao 2014; Nóbrega et al., 2020).

- **Καταστολή γονιδιακής έκφρασης (gene silencing therapy or gene inhibition therapy):**

Η συγκεκριμένη προσέγγιση κατέστη δυνατή είτε με τη χρήση ριβοενζύμων (Ziccardi et al., 2019) είτε με την ανακάλυψη του μονοπατιού RNAi (RNA interference) το 1998, από τον Andrew Fire και Craig Mello (Fire et al., 1998). Εφαρμόζεται σε περιπτώσεις όπως α) επικρατητικά μονογονιδιακά νοσήματα, β) πολυπαραγοντικά νοσήματα π.χ. καρκίνος λόγω υπερέκφρασης ογκογονιδίου και γ) μολυσματικές ασθένειες.

1. Τα ριβοένζυμα είναι ένα είδος RNA που έχουν την ιδιότητα να καταλύουν αντιδράσεις. Με την κατάλληλη τροποποίηση οι επιστήμονες έχουν επιτύχει να πραγματοποιείται ειδική αναστολή της γονιδιακής έκφρασης του γονιδίου-στόχου (Ziccardi, L, et al., 2019).
2. Το RNAi είναι ένας ενδογενής συντηρημένος μηχανισμός και βασίζεται στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης καταστέλλοντας την έκφραση του συμπληρωματικού RNA. Η αποσιώπηση μπορεί να επιτευχθεί είτε με siRNA (small interfering RNAs) είτε με miRNA (microRNA) (Chakraborty et al., 2017). Το siRNA προκαλεί αποικοδόμηση RNA ή/και αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης με απόλυτη

συμπληρωματικότητα (Borel et al., 2014), ενώ το miRNA απενεργοποιεί το γονίδιο-στόχο έχοντας μερική συμπληρωματικότητα με αυτό (Boudreau et al., 2009).

- **Επεξεργασία γονιδιώματος (genome editing)**

Με τις τεχνικές γονιδιωματικής επεξεργασίας, μία αλληλουχία DNA μπορεί να τροποποιηθεί, να εισαχθεί ή να απομακρυνθεί από το γονιδίωμα (genome) με προγραμματιζόμενες νουκλεάσες, TALENs, ZFNs, CRISPR οι οποίες δρουν ως ένα «μοριακό ψαλίδι» (Wang, D., & Gao, 2014; Nóbrega et al., 2020). Κοινό τους στοιχείο είναι ότι αποτελούνται από έναν τομέα αναγνώρισης DNA-στόχου και έναν τομέα διάσπασης της αλληλουχίας, δημιουργώντας δίκλινα θραύσματα (Gaj et al., 2013). Παράλληλα ακολουθείται η επιδιόρθωση των δίκλωνων θραυσμάτων με τους ενδοκυττάριους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς είτε με ομόλογη καθοδηγούμενη επιδιόρθωση (Homology Directed Repair-HDR) είτε με μη ομόλογη ένωση άκρων (Non-Homologous End Join-NHEJ) (Ran et al., 2013; Wang, D., & Gao, 2014).

1. ZFNs (Zing Finger Nucleases) είναι νουκλεάσες δακτύλων ψευδαργύρου, μια κατηγορία τεχνητών πρωτεϊνών δέσμησης του DNA που διευκολύνουν τη στοχευμένη επεξεργασία του γονιδιώματος. Αποτελούνται από έναν τομέα δέσμησης DNA δακτύλων ψευδαργύρου και από έναν τομέα περιοριστικής ενδονουκλεάσης Fok I (Geurts , & Moreno, 2010).
2. TALENs (Transcription Activator-Like Effectors Nucleases) είναι ενισχυτικοί μεταγραφικοί παράγοντες που αποτελούνται από πρωτεΐνες δέσμησης του DNA (DNA-binding proteins) και έχουν προέλθει από τις TALENs πρωτεΐνες που η έκκρισή τους πραγματοποιείται από το *Xanthomonas* βακτήριο. Επίσης γίνεται χρήση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης Fok I (Joung & Sander, 2013).
3. CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats) αποτελεί μέρος της άμυνας των βακτηρίων και των αρχαιοβακτηρίων έναντι των φάγων. Βασίζεται στην αναγνώριση της αλληλουχίας DNA-στόχου με τη βοήθεια ενός μορίου RNA και μία πρωτεΐνη που τη διασπά. Πλεονέκτημα θεωρείται ότι με την αξιοποίηση της συγκεκριμένης τεχνικής δεν απαιτείται η σχεδίαση της πρωτεΐνης κάθε φορά (Ran et al., 2013) σε αντίθεση με τις άλλες δύο τεχνικές (Geurts & Moreno, 2010; Joung & Sander, 2013).

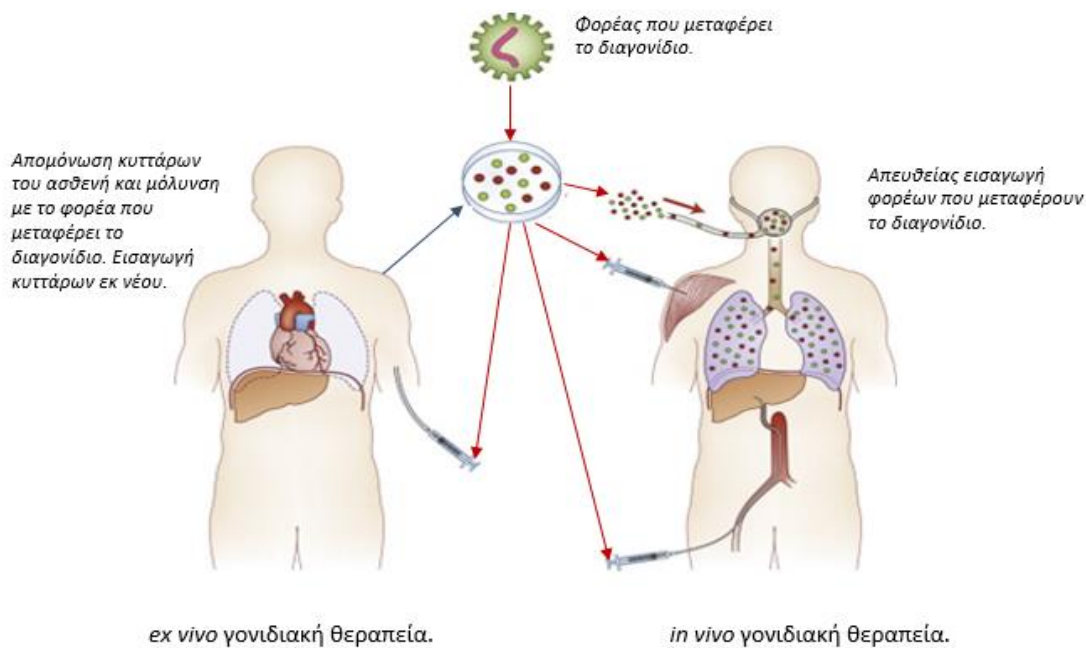
2.5 ΤΥΠΟΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Όλα τα κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα περιέχουν γονίδια, καθιστώντας τα πιθανούς στόχους γονιδιακής θεραπείας και χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: στα σωματικά κύτταρα και στα κύτταρα βλαστικής σειράς (germ - line cells) (εικόνα 2-3) (Hildt, 2016; Nóbrega et al., 2020).

Συγκεκριμένα, η γονιδιακή θεραπεία κυττάρων βλαστικής σειράς, περιλαμβάνει την τροποποίηση γονιδίων των γαμετικών κυττάρων (ωάρια ή σπερματοζωάρια), το αποτέλεσμα της οποίας είναι μόνιμο και κληρονομήσιμο στις επόμενες γενιές. Αν και θεωρητικά μπορεί να αποτελέσει μία αποτελεσματική μέθοδο θεραπείας, η τροποποίηση γαμετικών κυττάρων εγείρει ηθικούς προβληματισμούς, καθώς και ανησυχίες για τις απρόβλεπτες μακροπρόθεσμες επιπτώσεις σε μελλοντικές γενεές (Hiltdt, 2016; Nóbrega et al., 2020).

Σε αντιδιαστολή με τη θεραπεία βλαστοκυττάρων, η σωματική γονιδιακή θεραπεία έχει σαν στόχο την τροποποίηση μόνο των γονιδίων στα σωματικά κύτταρα. Αποτέλεσμα είναι ότι οποιαδήποτε τροποποίηση γονιδίου, περιορίζεται στη θεραπεία στοχευμένων κυττάρων και δε μεταβιβάζεται στους απογόνους (Pandey et al., 2018). Η γονιδιακή θεραπεία σωματικών κυττάρων δημιουργεί λιγότερα ηθικά διλήματα σε σχέση με τη γονιδιακή θεραπεία βλαστικών κυττάρων, και για αυτό το λόγο μέχρι σήμερα, θεωρείται καταλληλότερη και αποδεκτή θεραπεία για διάφορες ασθένειες (Nóbrega et al., 2020). Επιπλέον, μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε εξωσωματικά (*ex vivo*), είτε ενδοσωματικά (*in vivo*).

- Στην *ex vivo* θεραπεία, αφού αρχικά γίνει λήψη συγκεκριμένων κυττάρων του ασθενή, επιμολύνονται με τον φορέα ο οποίος μεταφέρει το διαγονίδιο (transgene). Κατόπιν χορηγούνται πίσω στον οργανισμό (Rosenberg et al., 2012).
- Στην *in vivo* θεραπεία επιτυγχάνεται ενσωμάτωση του θεραπευτικού γονιδίου σε φορείς και απευθείας χορήγηση στον πάσχοντα (Rosenberg et al., 2012).



Εικόνα 2.2: Απεικόνιση της *ex vivo* και της *in vivo* σωματικής γονιδιακής θεραπείας (τροποποιημένο σχήμα από: Rosenberg et al., 2012).

2.6 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΟΡΕΩΝ

Τα συστήματα μεταφοράς ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες (εικόνα 2-3):

- Ίκους φορείς
- Μη ιϊκούς φορείς

Ανάλογα τον τύπο του νοσήματος συνιστάται η εφαρμογή διαφορετικού και κατάλληλου συστήματος μεταφοράς, για την αποτελεσματικότερη θεραπεία (Ibraheem et al., 2014). Το ιδανικό σύστημα μεταφοράς πρέπει να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις (Somia , & Verma, 2000):

1. Μειωμένη ανοσολογική απόκριση.
2. Ικανότητα χωρητικότητας και μεταφορά DNA οποιοδήποτε μεγέθους.
3. Συνεχόμενη και ρυθμισμένη γονιδιακή έκφραση.
4. Κυτταροειδική και ιστοειδική διαμόλυνση.
5. Πραγματοποίηση γονιδιακής μεταφοράς σε διαιρούμενα και μη-διαιρούμενα κύτταρα.
6. Ενσωμάτωση σε συγκεκριμένες θέσεις ή παραμονή του DNA του στον πυρήνα του κυττάρου χωρίς ενσωμάτωση (επίσωμα).
7. Ευκολία στο σχεδιασμό του και εμπορική διάθεση.
8. Χαμηλό κόστος.

2.6.1. Ίικοί Φορείς

Οι επιστήμονες εκμεταλλεύτηκαν τις φυσικές ιδιότητες των ιών και τους αξιοποίησαν ως φορείς μεταφοράς (vectors) γονιδίων για γονιδιακή θεραπεία. Έχουν την ιδιότητα να αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς του κυττάρου-στόχου και, αφού προσδεθούν σε αυτό, εισέρχονται μέσα στο κύτταρο (ενδοκυττάρωση) και ενσωματώνουν τα γονίδια τους στο γενετικό υλικό του κυττάρου-ξενιστή. Αποτέλεσμα είναι η γονιδιακή έκφραση των γονιδίων που μεταφέρονται από τον ιό στον πυρήνα του ξενιστή (Giacca & Zacchigna, 2012).

- **Αδενοϊκοί φορείς (AdenoVirus-AdV):** Διαθέτουν DNA ως γενετικό υλικό και μπορεί να γίνει ένθεση έως 48Kb. Δεν ενσωματώνονται στο γενετικό υλικό του κυττάρου ξενιστή (επίσωμα). Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα τους, εκτός του υψηλού τίτλου και της αυξημένης χωρητικότητας τους για μεταφορά γενετικού υλικού, είναι ότι έχουν υψηλή απόδοση μεταγωγής είτε *in vivo* είτε *in vitro*. Επίσης, έχουν δυνατότητα μόλυνσης τόσο διαιρούμενων όσο και μη διαιρούμενων κυττάρων. Κύριο μειονέκτημα τους είναι ότι μπορεί να ενεργοποιήσουν την ανοσολογική απόκριση έναντι των μεταγόμενων κυττάρων και πιθανόν να είναι τοξικοί για αυτά με επαναλαμβανόμενη χορήγησή τους. Καθίστανται ακατάλληλοι σε θεραπείες που απαιτείται μακροχρόνια έκφραση του διαγονιδίου, διότι έχουν παροδική διαγονιδιακή έκφραση (Kafri et al., 1998; Ratko, et al., 2003; Wirth, T, et al., 2013). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν δημιουργηθεί πιο ασφαλείς και αποτελεσματικοί αδενοϊοί με διαγραφή όλων των ιϊκών πρωτεϊνών παραμένοντας οι ανεστραμμένες τελικές επαναλήψεις (Inverted Terminal Repeats-ITR) και οι ακολουθίες πακεταρίσματος, ενώ απαιτείται ένας άλλος «βοηθός» ιός για την αναπαραγωγή τους (O'Neal et al., 2000; Ratko et al., 2003).
- **Αδενο-συσχετιζόμενοι ιϊκοί φορείς (Adeno-Associated Viruses-AAVs):** Οι AAVs είναι μη παθογόνοι ιοί με μονόκλωνο γραμμικό DNA (μέγεθος ~4,7Kb) και διαθέτουν καψίδιο (virus capsids) με διάμετρο 22nm. Ανήκουν στην οικογένεια των παρβοϊών του γένους Dependovirus, ενώ η παραγωγική μόλυνση και ο πολλαπλασιασμός τους εξαρτάται από τη συνύπαρξη ενός βοηθού ιού (helper virus-αδενοϊός ή ερπητοϊός). Οι άγριου τύπου AAV ενσωματώνονται στο ανθρώπινο γονιδίωμα και κυρίως σε συγκεκριμένες θέσεις στο χρωμόσωμα 19. Διάφορα χαρακτηριστικά τους καθιστούν κατάλληλα συστήματα μεταφοράς στη γονιδιακή θεραπεία, όπως η έλλειψη παθογένειας, η ικανότητα τους να προσβάλλουν και μη διαιρούμενα κύτταρα, η ικανότητά να έχουν παρατεταμένη γονιδιακή έκφραση του διαγονιδίου που μεταφέρουν, αλλά και ότι διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα τροπισμού που τους επιτρέπει να μολύνουν διαφορετικά κύτταρα. Το κύριο πρόβλημα προκύπτει από τη μειωμένη χωρητικότητά τους. Ως εκ τούτου αποκλείονται σε θεραπείες στις οποίες απαιτούνται μεγάλα γονίδια για μεταφορά (Ratko et al., 2003; Coura & Nardi, 2007).

- **Λεντιϊκοί φορείς (lentiviruses-LVs):** Οι LVs είναι RNA ιοί και ανήκουν στην οικογένεια των ρετροϊών με πιο γνωστό τον HIV-1. Χαρακτηριστικό τους είναι ότι μπορούν να ενσωματώσουν το γενετικό τους υλικό στο κύτταρο ξενιστή, σε μορφή δίκλωνου DNA με τη βοήθεια του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση. Διαθέτουν σχετικά υψηλούς τίτλους, δυνατότητα να μολύνουν διαιρούμενα αλλά και μη-διαιρούμενα κύτταρα, ενώ άλλο ένα πλεονέκτημά τους είναι η παρατεταμένη διάρκεια έκφρασης του διαγονιδίου στο κύτταρο-ξενιστή. Παρόλα αυτά, δεν παύει να προβληματίζει η ασφάλεια των ασθενών χρησιμοποιώντας τους ως φορείς καθώς και το περιορισμένο μέγεθος χωρητικότητας τους (~8Kb) (Ratko et al., 2003; Ziccardi et al., 2019).
- **Ρετροϊκοί φορείς (RVs):** Είναι RNA ιοί με χωρητικότητα ένθεσης γονιδίου μεγέθους ~ 9-12 Kb. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι λεντιϊοί και η κύρια διαφορά τους εστιάζει στο ότι οι RVs μολύνουν μόνο διαιρούμενα κύτταρα. Μπορεί να διαμολύνουν ένα ευρύ φάσμα κυττάρων με ικανότητα μεγάλης διάρκειας γονιδιακής έκφρασης. Ωστόσο, υπάρχουν αυξημένες πιθανότητες μεταλλαξιογένεσης με την ενσωμάτωσή (integration) τους στο γονιδίωμα του κυττάρου που μολύνουν (Ratko et al., 2003).

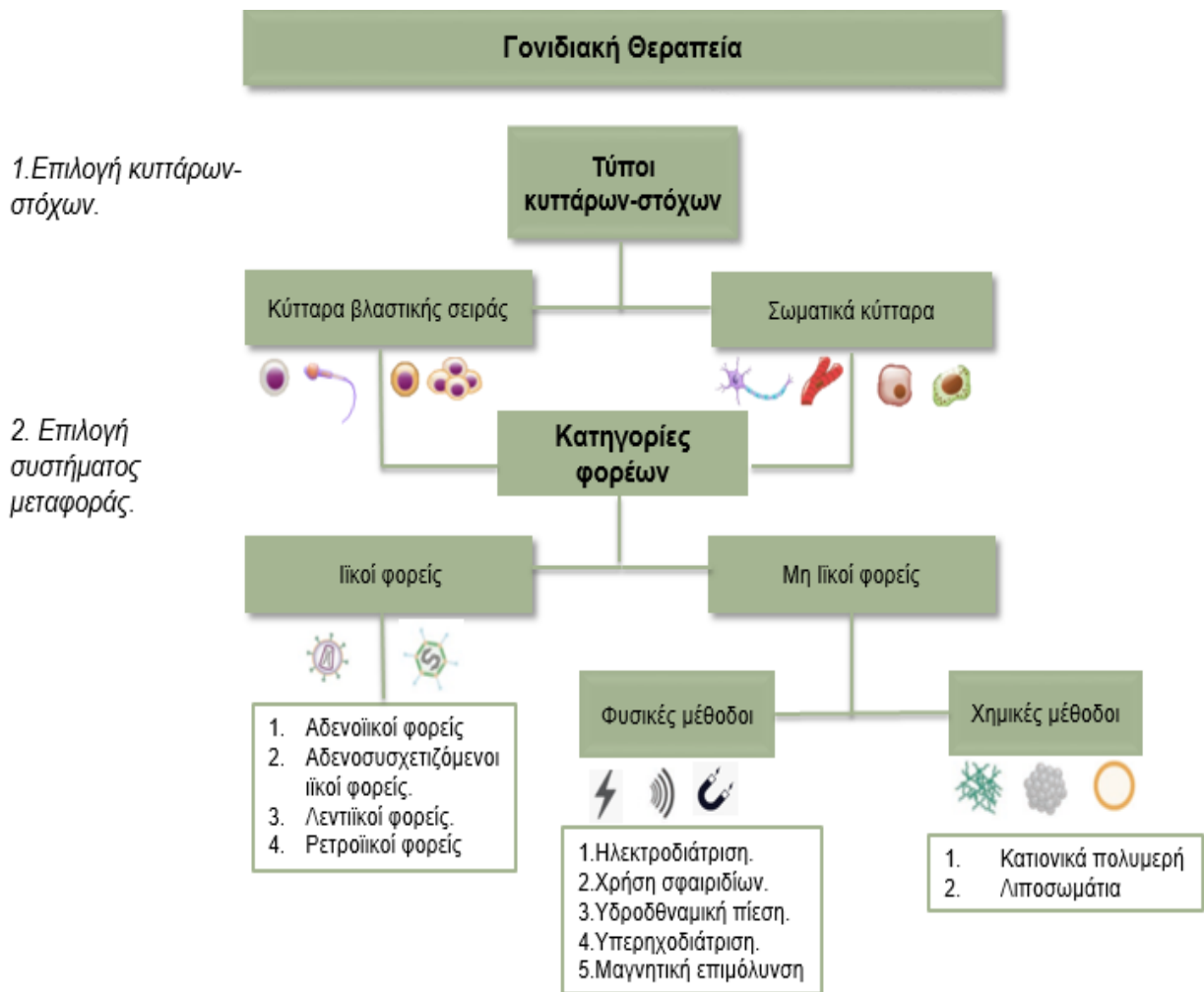
2.6.2. Μη Ίικοί Φορείς

Το σημαντικό μειονέκτημα των ιών να ενεργοποιούν ανοσολογική απόκριση στον πάσχοντα, έστρεψε το ενδιαφέρον των επιστημόνων στην εύρεση ασφαλέστερων συστημάτων μεταφοράς. Αυτά είναι μη ιογενή συστήματα μεταφοράς με δυνατότητα μεγαλύτερης παραγωγής σε χαμηλότερο κόστος. Επιπλέον, δίνουν τη δυνατότητα εφαρμογής σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων, αλλά και μεταφορά μεγάλου μεγέθους διαγονιδίων. Από την άλλη, κύριο μειονέκτημα τους είναι η χαμηλή απόδοση της επιμόλυνσης (Bergen et al., 2008; Ibraheem et al., 2014).

Η μεταφορά του γενετικού υλικού στο κύτταρο-στόχο μπορεί να επιτευχθεί είτε με φυσικές μεθόδους, είτε με χημικές (εικόνα 2-3).

1. **Φυσικές μέθοδοι:** Αποτέλεσμα αυτών των μεθόδων είναι η μεταφορά του «γυμνού» DNA στον πυρήνα του κυττάρου-στόχου κάνοντας διαπερατή τη μεμβράνη του. Είναι τεχνικές όπως ηλεκτροδιάτρηση, χρήση σφαιριδίων (gene gun), υδροδυναμική πίεση, υπερηχοδιάτρηση και μαγνητική επιμόλυνση (Ibraheem et al., 2014). Ωστόσο, είναι αναποτελεσματική η επιμόλυνση τόσο *in vivo* και όσο *ex vivo*, ενώ παρέχουν παροδική διαγονιδιακή έκφραση στους περισσότερους ιστούς (Ratko et al., 2003).
2. **Χημικές μέθοδοι:** Είναι βελτιωμένα μη ιϊκά συστήματα μεταφοράς. Έχουν την ικανότητα να περικλείουν το γενετικό υλικό που μεταφέρουν στο κύτταρο και επομένως να το προστατεύουν από ενδοκυτταρικές νουκλεάσες. Η διαμόλυνση του κυττάρου μπορεί να επιτευχθεί με τη μέθοδο που στηρίζεται σε κατιονικά πολυμερή αλλά κυρίως με κατιονικά λιποσώματα. Η επιμόλυνση με λιποσώματα στηρίζεται στη δημιουργία συμπλόκων

ανάμεσα στα θετικά φορτισμένα λιπίδια και στο DNA σχηματίζοντας τη δομή lipoplex (Ibraheem, D, et al., 2014). Στα αρνητικά συμπεριλαμβάνεται η παροδική έκφραση του διαγονιδίου αλλά και η αναποτελεσματική *in vivo* επιμόλυνση (Ratko et al., 2003).



Εικόνα 2.3: Σχηματική απεικόνιση των στρατηγικών της γονιδιακής θεραπείας (τροποποιημένο σχήμα από: Nóbrega et al., 2020).

2.7 ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗ ΝΩΤΙΑΙΑ ΜΥΪΚΗ ΑΤΡΟΦΙΑ

2.7.1. *Onasemnogene aberarvovec (Zolgensma®)*

Στις 24 Μαΐου του 2019, η αρμόδια Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) ενέκρινε για πρώτη φορά μία γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπιση του SMA (2.FDA). Πρόκειται για το φάρμακο *onasemnogene aberarvovec* με εμπορική ονομασία *Zolgensma®* το οποίο παρασκευάζεται από την AVEXIS εταιρεία του Ομίλου Novartis και κοστίζει 2,1 εκατομμύρια δολάρια (Stevens et al., 2020) (εικόνα 2-4). Ενδείκνυται για τη θεραπεία ασθενών με SMA ηλικίας κάτω των 2 ετών συμπεριλαμβάνοντας και τους προσυμπτωματικούς ασθενείς (Schroth, 2009; 2.FDA; 1.NOVARTIS). Στις 19 Μαΐου 2020, η AVEXIS ανακοίνωσε ότι έλαβε «έγκριση υπό όρους» (conditional approval) η γονιδιακή

θεραπεία Zolgensma® από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) για τη θεραπεία ασθενών με SMA στην ΕΕ με την προϋπόθεση να χορηγείται μόνο σε ασθενείς με διάγνωση SMA τύπου I ή σε ασθενείς στους οποίους ανιχνεύονται μέχρι και 3 αντίγραφα του SMN2 γονιδίου ([2.NOVARTIS](#)).

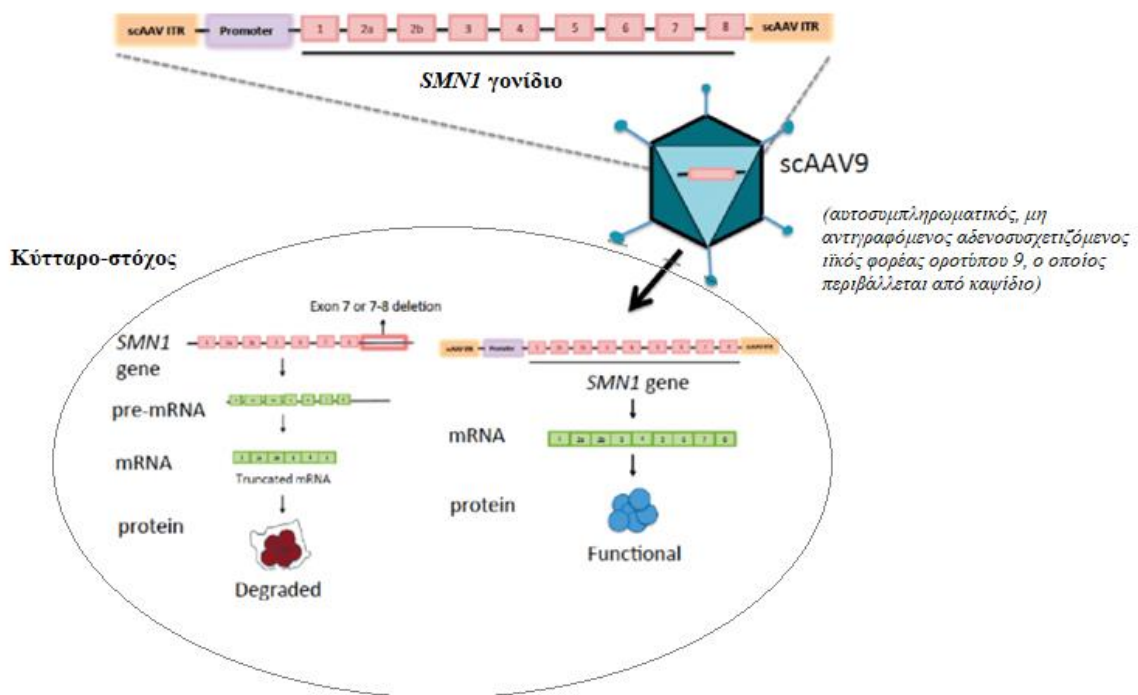


Εικόνα 2.4: Συσκευασία φαρμάκου onasemnogene abeparvovec με εμπορική ονομασία Zolgensma®. (Πηγή: <https://www.fiercepharma.com/pharma/novartis-cites-transformative-data-zolgensma-as-it-rolls-out-sma-gene-therapy-europe>). Accessed on 10th February 2021, πρόσβαση 10/02/21.

Το φάρμακο χορηγείται άπαξ με ενδοφλέβια έγχυση παρέχοντας ένα λειτουργικό αντίγραφο του γονιδίου *SMN1* στα κύτταρα των ασθενών, από το οποίο εκφράζεται η λειτουργική πρωτεΐνη SMN συμβάλλοντας στη μη εξέλιξη της νόσου (Mahajan, 2019; [3. EMA](#); [3. FDA](#)). Ο μηχανισμός δράσης του Zolgensma βασίζεται στη μεταφορά του γονιδίου *SMN1* στα κύτταρα-στόχους χρησιμοποιώντας έναν «αυτό-συμπληρωματικό» (Self-Complementary), μη αντιγραφόμενο αδενο-συσχετιζόμενο ιϊκού φορέα οροτύπου 9 (scAAV9) ο οποίος περιβάλλεται από καψίδιο (virus capsids). Ο ανασυνδυασμένος φορέας προκύπτει με διαγραφή περιοχών του γενετικού του υλικού και στις θέσεις αυτές ενσωματώνεται το cDNA του λειτουργικού ανθρώπινου *SMN1* γονιδίου. Επίσης ένα από τα πλεονεκτήματα της χρήσης του AAV9 ως φορέα είναι η ικανότητα του να διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Blood-Brain Barrier-BBB), μεταφέροντας το *SMN1* γονίδιο στους κινητικούς νευρώνες του νωτιαίου μυελού. Χρησιμοποιώντας αυτό-συμπληρωματικό (sc)AAV9 φορέα, το διαγονίδιο (transgene) εισάγεται στα κύτταρα στόχους σε δίκλωνη μορφή DNA. Ως αποτέλεσμα, είναι η αποτελεσματική, γρήγορη και παρατεταμένη διαγονιδιακή έκφραση σε σύγκριση με την τυπική μορφή των AAV με μονόκλωνο DNA (Single-Stranded) (ssAAV). Επιπλέον, το διαγονίδιο εισάγεται ως επίσωμα (episome) στον πυρήνα των κυττάρων-στόχων χωρίς να ενσωματώνεται στο DNA τους (εικόνα 2-5) (Valori et al., 2010; Mendell et al., 2017; Day et al., 2021). Η έκφραση του ελέγχεται από έναν υβριδικό υποκινητή (promoter) ο οποίος αποτελείται από έναν ενισχυτή (enhancer) κυτταρομεγαλοϊού και β-ακτίνη της όρνιθας. Έτσι, μαζί με την ικανότητα

αυτό-συμπληρωματικότητας του AAV9 ενισχύουν τη σταθερή και συνεχή έκφραση της πρωτεΐνης SMN (Mendell et al., 2017; [3. EMA](#); [3. FDA](#)).

Τέλος, επειδή οι κινητικοί νευρώνες είναι τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα (post-mitotic), δεν απαιτείται επαναχορήγηση του Onasemnogene aberarvonec (Day et al., 2021b). Παρόλα αυτά, πριν από κάθε έγχυση του onasemnogene aberarvonec ο κάθε ασθενής πρέπει να εξετάζεται εάν έχει αναπτύξει ανοσία έναντι του ιού AAV9. Ωστόσο, στις κλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου οι τίτλοι αντισωμάτων έναντι του ιού εξετάστηκαν στους ασθενείς και μετά τη χορήγηση του onasemnogene aberarvonec. Ανοσολογική απόκριση μπορεί να αναπτυχθεί μετά από φυσική έκθεση στον ιό και συγκεκριμένα παράγονται αντισώματα έναντι του καψιδίου AAV9. Επίσης, μελέτες έδειξαν ότι ορισμένοι ασθενείς είχαν αναπτύξει παθητική ανοσία μέσω πλακούντα και μεταφορά αντισωμάτων (IgG) αντι-AAV9 από τη μητέρα στο έμβρυο. Σύμφωνα με τα πρωτόκολλα εάν οι τίτλοι αντισωμάτων αντι-AAV9 που ανιχνεύονται στους ασθενείς είναι >1:50, τότε πρέπει να πραγματοποιείται επανεξέταση πριν τη χορήγηση του onasemnogene aberarvonec. Οι ασθενείς που μπορούν να λάβουν γονιδιακή θεραπεία θα πρέπει να έχουν τίτλους αντισωμάτων αντι-AAV9 \leq 1:50 (Day et al., 2021b).



Εικόνα 2.5: Απεικόνιση της σύστασης του αδενο-συσχετιζόμενο ιϊκού φορέα οροτύπου 9 (AAV9) με διαγραφή ιϊκών τμημάτων του γονιδιώματος του και στη θέση τους ενσωμάτωση cDNA του λειτουργικού ανθρώπινου SMN1 γονιδίου. Αποτέλεσμα είναι με τη μόλυνση των κυττάρων - στόχων η παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης (τροποποιημένο/μεταφρασμένο σχήμα από: Bora et al., 2018).

Ωστόσο, οι πιο συχνές ανεπιθύμητες παρενέργειες οφειλόμενες στη χορήγηση του φαρμάκου είναι η αύξηση των ηπατικών τρανσαμινασών και οι έμετοι ([3. EMA](#); [3. FDA](#)).

3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΣΚΟΠΟΣ

3.1 ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ

Η Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (SMA) είναι ένα σοβαρό γενετικό νόσημα που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο (Farrar , & Kiernan, 2015). Αποτελεί παγκοσμίως μία από τις συχνότερες αιτίες βρεφικού θανάτου με συχνότητα εμφάνισης περίπου 1/10.000 γεννήσεις ετησίως (Dangouloff et al., 2020). Ωστόσο, η συχνότητα φορέων με SMA στην Καυκάσια φυλή είναι 1/35 ανθρώπους ενώ στους Αφροαμερικανούς είναι 1/91 (Farrar, & Kiernan, 2015). Οι ασθενείς κατατάσσονται σε 5 διαφορετικούς τύπους ανάλογα τη βαρύτητα της νόσου και την ηλικίας έναρξης των συμπτωμάτων. Ο τύπος SMA 0 μαζί με τον SMA I, αποτελούν τις πιο σοβαρές μορφές SMA καθώς στην πρώτη περίπτωση οι ασθενείς καταλήγουν ενδομήτρια ή αμέσως μετά τη γέννηση και στη δεύτερη περίπτωση δεν καταφέρνουν να επιβιώσουν μέχρι τα 2 έτη (Dubowitz, 1999; Kolb & Kissel, 2015; Prior et al., 2020). Στους ασθενείς με SMA II και III εμφανίζονται λιγότερα σοβαρά προβλήματα δυσκολεύοντας ωστόσο την ποιότητα ζωής των ασθενών, ενώ τα άτομα με SMA IV εμφανίζονται πιο ήπια συμπτώματα. Λόγω της βαρύτητας του νοσήματος είναι απαραίτητη η διεπιστημονική παρέμβαση ακολουθώντας ένα θεραπευτικό πρωτόκολλο με ανακουφιστικές αλλά και γενετικές παρεμβάσεις στοχεύοντας τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Η πρώτη γενετική θεραπεία έλαβε άδεια κυκλοφορίας από τον FDA το 2016 και είναι το θεραπευτικό σκεύασμα Nusinersen, ακολούθησε η έγκριση της πρώτης γονιδιακής θεραπείας για SMA το Μάιο του 2019 με το φάρμακο onasemnogene aberavonoc και τον Αύγουστο του 2020 εγκρίθηκε το σκεύασμα Risdiplam.

Σκοπός της εργασίας είναι να περιγράψει την εξέλιξη της γονιδιακής θεραπείας για την SMA μελετώντας τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών που διεξήχθησαν τα τελευταία χρόνια. Τα αποτελέσματα από αυτές τις κλινικές μελέτες απέδειξαν ότι η χορήγηση του onasemnogene aberavonoc βελτιώνει σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών, μειώνοντας τα κινητικά και αναπνευστικά προβλήματα και αλλάζοντας τη φυσική πορεία της νόσου, ενώ καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνται σε προσυμπτωματικούς ασθενείς. Επίσης, σκοπός της εργασίας είναι να καταστεί σαφές ότι η έγκαιρη διάγνωση του νοσήματος μέσω γενετικού ελέγχου, η σωστή διαχείριση του από επαγγελματίες υγείας σε συνδυασμό με τη χορήγηση του Zolgensma επιτυγχάνουν την αποτροπή της εξέλιξης του νοσήματος.

Επιπλέον, στόχος της εργασίας είναι η πραγματοποίηση της διερεύνησης της SMA σε γενετικό επίπεδο, σε επίπεδο κλινικών χαρακτηριστικών αλλά και διαγνωστικών επιλογών. Τα παραπάνω συντελούν στην κατανόηση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τη διεξαγωγή των κλινικών μελετών που αφορούν τη θεραπευτική στρατηγική της χορήγησης του Zolgensma σε ασθενείς με SMA. Παράλληλα, με την αναφορά κλινικών δοκιμών δίνεται η πληροφόρηση

σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου τόσο σε συμπτωματικούς όσο και προσυμπτωματικούς ασθενείς.

4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η SMA είναι ένα μονογονιδιακό νόσημα που χαρακτηρίζεται από τον εκφυλισμό των πρόσθιων κεράτων των άλφα κινητικών νευρώνων του νωτιαίου μυελού με αποτέλεσμα μυϊκή αδυναμία και ατροφία. Αποτελεί από τις κύριες αιτίες βρεφικού θανάτου και στην Ελλάδα θεωρείται το τρίτο πιο συχνό γενετικό νόσημα (Manoli & Fryssira., 2015; Kekou et al., 2020). Εξαιτίας της βαρύτητας των συμπτωμάτων του νοσήματος η υποστηρικτική φροντίδα κρίνεται αναγκαία με κατάλληλο ιατρικό προσωπικό, εργοθεραπευτές, φυσικοθεραπευτές και γενετιστές.

4.1 ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκε μία βιβλιογραφική μελέτη στα πλαίσια της οποίας συγκεντρώθηκαν και αξιοποιήθηκαν υπάρχουσες επιστημονικές γνώσεις και δεδομένα από προηγούμενες πρωτογενείς έρευνες που σχετίζονται με το υπό μελέτη θέμα.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η βιβλιογραφική ανασκόπηση αναζητήθηκε υλικό από το Google, στον ιστότοπο Google Scholar (<https://scholar.google.com/>) και στον ιστότοπο Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>). Αποτελούν μηχανές αναζήτησης εκατομμυρίων δημοσιευμένων άρθρων, διατριβών, ανασκοπήσεων, περιοδικών και ηλεκτρονικών βιβλίων των οποίων η πρόσβαση είναι ελεύθερη. Ενώ, η επιλογή των άρθρων αξιολογήθηκε βάσει ορισμένων κριτηρίων όπως το περιεχόμενο, η χρονολογία δημοσίευσης, και εάν ο σκοπός της έρευνας ήταν σχετικός με το θέμα που διερευνάται στη συγκεκριμένη εργασία.

Επίσης, χρήσιμες πηγές πληροφόρησης αποτέλεσαν και οι κάτωθι ιστοσελίδες:

- FDA (<https://www.fda.gov/>),
- EMA (<https://www.ema.europa.eu/en/>),
- Spinraza (<https://www.spinraza.com/>)
- Roche (<https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2020-04-07.htm>)
- Genentech (<https://www.gene.com/media/press-releases/14866/2020-08-07/fda-approves-genentechs-evrysdi-risdipla>),
- Novartis (<https://www.novartis.com/>),
- Zolgensma- onasemnogene abeparvovec xioi (<https://www.zolgensma.com/>)
- <https://www.curesma.org/spinraza/>,

Για την εύρεση επιπλέον πληροφοριών πραγματοποιήθηκε η έρευνα σε δημόσιες βάσεις δεδομένων στο διαδίκτυο οι οποίες σχετίζονται με τις επιστήμες υγείας και είναι οι PubMed, OMIM, UCSC και ClinicalTrials.gov.

Η PubMed είναι η βάση δεδομένων βιβλιογραφικών αναφορών του NCBI και προσφέρεται δωρεάν πρόσβαση από την ιστοσελίδα <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Περιλαμβάνει πάνω από 32 εκατομμύρια βιβλιογραφικές αναφορές που προέρχονται από τη

MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) και σχετίζονται με τους κλάδους υγείας και της βιοϊατρικής. Σε ορισμένες περιπτώσεις ενδέχεται να παρέχονται διασυνδέσεις σε δημοσιεύσεις πλήρους κειμένου από την PubMed Central και των ιστότοπων των εκδοτών. Ενώ, η ανεύρεση βιβλιογραφικών αναφορών καθορίζεται από την αναζήτηση λέξεων-κλειδίων. Χρησιμοποιήθηκαν πληροφορίες από 140 άρθρα εκ των οποίων 1 ήταν στην ελληνική γλώσσα. Επίσης, διαβάστηκαν κεφάλαια από 9 βιβλία με 1 από αυτά να ανήκει στην προσωπική μου συλλογή και είναι μεταφρασμένο στην ελληνική γλώσσα, ενώ τα υπόλοιπα 7 είναι διαθέσιμα online. Όσον αφορά τις λέξεις κλειδιά, χρησιμοποιήθηκαν κυρίως λέξεις που έχουν άμεση σχέση με το θέμα της διπλωματικής εργασίας όπως είναι Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία, εξελίξεις γονιδιακής θεραπείας, onasemnogene aberparnovac-xioi (Zolgensma), πρόληψη, διάγνωση, ποιότητα ζωής.

Η OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) αποτελεί κατηγορία της βάση δεδομένων NCBI από το 1995 και σήμερα επιβλέπεται από το Ινστιτούτο Γενετικής McKusick-Nathans, της Ιατρικής Σχολής του Johns Hopkins. Πρόκειται για μία έγκυρη βάση δίνοντας πρόσβαση στους ερευνητές σε έναν κατάλογο όλων των γνώσεων που υπάρχουν μέχρι σήμερα και σχετίζονται με τις γενετικές διαταραχές, τα κληρονομικά χαρακτηριστικά ενώ, παρέχονται πληροφορίες για περισσότερα από 15.000 γονίδια. Αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για τους ερευνητές καθώς εστιάζει κυρίως στη σύνδεση φαινοτύπου-γονοτύπου. Δεδομένα τα οποία προκύπτουν από τη βάση κατά τη τελευταία ενημέρωση στις 13 Απριλίου του 2021, δείχνουν ότι έχουν καταχωρηθεί συνολικά 16.454 γονίδια και 9.362 φαινότυποι εκ των οποίων οι 6.072 (65%) έχουν συσχετιστεί με ένα συγκεκριμένο γονίδιο ενώ, οι 3.290 (35%) φαινότυποι δεν έχουν συσχετιστεί. Παρέχεται ελεύθερη πρόσβαση από τον ακόλουθο σύνδεσμο: <https://omim.org/>, και ενημερώνεται συνεχώς. Στην παρούσα εργασία η OMIM χρησιμοποιήθηκε για την αναζήτηση πληροφοριών των υπεύθυνων γονιδίων της SMA αλλά και των τύπων της.

Με τη βοήθεια της βάσης δεδομένων UCSC απεικονίστηκε στην εικόνα 1.5 η ακριβής περιοχή 5q13.2 στο χρωμόσωμα 5 στην οποία ανιχνεύονται τα γονίδια *SMN*. Πρόκειται για έναν περιηγητή γονιδιωμάτων (Genome Browser) του University of California, Santa Cruz (UCSC) στον οποίο συλλέγονται σχόλια από άλλες βάσεις δεδομένων. Παρέχεται εύκολη, γρήγορη και ελεύθερη πρόσβαση μέσω της διεύθυνσης <https://genome.ucsc.edu/>.

Για τη συλλογή και σύνταξη των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε υλικό από τη βάση δεδομένων ClinicalTrials.gov. Πρόκειται για τη μεγαλύτερη βάση δεδομένων για κλινικές δοκιμές με 374.155 καταχωρημένες κλινικές μελέτες από 220 χώρες παγκοσμίως. Διοικείται από την Εθνική Βιβλιοθήκη της Ιατρικής των Ηνωμένων Πολιτειών (National Library of Medicine-NLM) και η πρόσβαση είναι ελεύθερη από την ιστοσελίδα <https://www.clinicaltrials.gov/>.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 START

Η μελέτη START (AVXS-101-CL-101; [NCT02122952](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952)) ξεκίνησε το Μάιο του 2014 και αποτέλεσε μία παγκόσμια κλινική δοκιμή φάσης I στην οποία χορηγήθηκε εφάπαξ 1 δόση onasemnogene aberavonvec- xioi σε ασθενείς με SMA τύπου I.

Ολοκληρώθηκε το Δεκέμβριο του 2017 και πρωταρχικός στόχος ήταν η συλλογή δεδομένων για την εκτίμηση της ασφάλειας αλλά και τη δοσολογία του φαρμάκου (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952>).

Η συλλογή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε από 15 γενετικά επιβεβαιωμένα συμπτωματικά βρέφη με SMA τύπου I που είχαν χωριστεί σε δύο κοορτές. Στην πρώτη κοορτή συμπεριλήφθηκαν 3 ασθενείς (n=3) οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με χαμηλότερη δόση ($3,7 \times 10^{13}$ φορείς γονιδιώματος [vg] / kg), ενώ στη δεύτερη κοορτή 12 ασθενείς (n=12) έλαβαν υψηλότερη δόση ($1,1 \times 10^{14}$ vg / kg) (Stevens, D, et al.,2020).

Στα κριτήρια επιλογής ασθενών για τη συγκεκριμένη μελέτη συγκαταλέχθηκαν τα εξής:

- Γενετική διάγνωση με ανίχνευση επιβεβαιωμένης βλάβης (έλλειμμα ή σημειακή παραλλαγή) και στα δύο αντίγραφα του γονιδίου *SMN1* αλλά 2 αντίγραφα του γονιδίου *SMN2*.
- Η ηλικία των ασθενών να είναι ≤ 6 μηνών κατά τη χορήγηση του φαρμάκου.
- Εμφάνιση συμπτωμάτων όπως, υποτονία, απουσία ελέγχου της κεφαλής και γενικά μειωμένες κινητικές δεξιότητες.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η αξιολόγηση οφέλους-κινδύνου της θεραπείας, αξιολογώντας κάθε ανεπιθύμητο συμβάν βαθμού ≥ 3 σύμφωνα με το Common Terminology Criteria for Adverse Events–CTCAE (Κοινά Κριτήρια Ορολογίας Ανεπιθύμητων Συμβάντων) η εμφάνιση του οποίου σχετίζεται με τη χορήγηση του onasemnogene aberavonvec- xioi.

Τα αποτελέσματα συλλέχθηκαν από το αρχείο *ClinicalTrials.gov* με τελευταία ημερομηνία ενημέρωσης 19 Μαΐου του 2019 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952>).

Στην πρώτη κοορτή (n=3) παρατηρήθηκε ότι το 1/3 (33,3%) και στη δεύτερη (n=12) το 3/12 (25%) βίωσαν ανεπιθύμητο συμβάν σχετικό με τη θεραπεία μέχρι και την ηλικία των 24 μηνών. Ωστόσο, έγινε και παρακολούθηση των ασθενών με βάση την ικανότητα επιβίωσης απουσία συμβάντος. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η ανάγκη των ασθενών για αναπνευστική υποστήριξη με τη χρήση μη επεμβατικής αναπνευστικής συσκευής για ≥ 16 ώρες την ημέρα σε διάστημα ≥ 14 ημερών, χωρίς την εμφάνιση κάποιας οξείας αναστρέψιμης ασθένειας, εξαιρώντας περί-εγχειρητικό αερισμό. Στην συγκεκριμένη μελέτη τα δεδομένα έδειξαν ότι εντός των 24 μηνών παρακολούθησης όλοι οι ασθενείς (100%) και από τους δύο πληθυσμούς

κατάφεραν να επιβιώσουν χωρίς την ανάγκη μόνιμης μηχανικής αναπνευστικής υποστήριξης. Τα συμπεράσματα ήταν ενθαρρυντικά ως προς την αποτελεσματικότητα του Zolgensma εφόσον, χωρίς τη χορήγηση του, μόνο το 25% των ασθενών με SMA I με 2 αντίγραφα *SMN2* καταφέρνουν να επιβιώσουν απουσία συμβάντων (χωρίς αναπνευστική υποστήριξη) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952>).

Επίσης, έγινε εκτίμηση του βαθμού κινητικής βελτίωσης αξιολογώντας με τα κριτήρια του Παιδιατρικού Νοσοκομείου της Φιλαδέλφεια για τα βρέφη με Νευρομυϊκή Νόσο (Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders – CHOP-INTEND). Το εύρος του σκορ της κινητικής αξιολόγησης με CHOP-INTEND κυμαίνεται από 0 έως 64, με το 64 να αποτελεί το μέγιστο βαθμό ανάκτησης λειτουργικών κινητικών δεξιοτήτων. Στον πληθυσμό της 1^{ης} κοορτής παρατηρήθηκε ότι η μέση βαθμολογία στην αξιολόγηση CHOP-INTEND ήταν 16,3 ενώ, στη 2η κοορτή επιτεύχθηκε μέση βαθμολογία CHOP-INTEND = 55,5 στο 50% (6/12) των ασθενών σε διάστημα 24 μηνών.

Αλλα στοιχεία από την παρακολούθηση ασθενών στους 24 μήνες υπέδειξαν ότι το 75% (9/12) του πληθυσμού της 2^{ης} κοορτής μπόρεσαν να καθίσουν χωρίς υποστήριξη για ≥ 30 δευτερόλεπτα. Ωστόσο, από την τελευταία ενημέρωση των αποτελεσμάτων στο *ClinicalTrials.gov* στις 3 Μαΐου 2021, παρατηρήθηκε ότι όλοι οι ασθενείς στις κοορτές 1 και 2 πέτυχαν αυξημένα σκορ στην κλίμακα CHOP-INTEND και διατήρησαν αυτές τις αλλαγές κατά τη διάρκεια της μελέτης (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952>).

Ακόμη, σύμφωνα με μελέτη των Mendell et al. (2017) κατά τη τελευταία επίσκεψη οι 11/12 (92%) ασθενείς κατάφεραν να αποκτήσουν έλεγχο της κεφαλής, 9 ασθενείς μπορούσαν να αλλάζουν πλευρό (rollover), 2 ασθενείς κατάφεραν να μπουσουλήσουν, να στέκονται και να περπατούν ανεξάρτητα, ενώ 11 ασθενείς κατάφεραν να μιλήσουν. Παλαιότερα, κανένας ασθενής δεν είχε επιτύχει κάποια από τα παραπάνω κινητικά ορόσημα και σπάνια είχε την ικανότητα να μιλήσει (Mendell et al., 2017).

5.1.1. Επίδραση της ηλικίας και της κινητικής λειτουργίας.

Η δεύτερη κοορτή στην κλινική μελέτη START (*AVXS-101-CL-101*; [NCT02122952](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952)), δηλαδή η ομάδα των 12 γενετικά επιβεβαιωμένων συμπτωματικών βρεφών με SMA I, που είχαν ομόζυγη παραλλαγή του *SMN1*, και δύο αντίγραφα του *SMN2* γονιδίου, έλαβαν την προτεινόμενη θεραπευτική δόση. Για τους σκοπούς της συγκεκριμένης ανάλυσης, οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με την ηλικία κατά την εφαρμογή της θεραπείας (early: μικρότεροι των 3 μηνών ή late: μεγαλύτεροι των 3 μηνών) και τα αρχικά σκορ στην κλίμακα CHOP-INTEND (Low: <20 βαθμοί ή High: ≥ 20 βαθμοί). Επομένως εξετάστηκαν τρεις διαφορετικές ομάδες: Early Dosing/Low Motor (3 ασθενείς), Early Dosing/High Motor (3 ασθενείς) και Late Dosing (6 ασθενείς) (Lowe et al., 2019).

Όλοι οι ασθενείς (12/12) εμφάνισαν ταχεία βελτίωση στα σκορ CHOP-INTEND, έναν, τρεις και 24 μήνες μετά τη χορήγηση του AVXS-101. Τον πρώτο μήνα μετά τη θεραπεία, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση στην ομάδα Early Dosing/Low Motor (μέση αύξηση 13,7 μονάδες), η οποία εμφάνιζε σοβαρή εξέλιξη της νόσου κατά την έναρξη της μελέτης. Η ομάδα Late Dosing είχε μέση αύξηση 7,3 μονάδες, ενώ η ομάδα Early Dosing/High Motor είχε μέση αύξηση 10,7 μονάδες. Ωστόσο, η τελευταία ομάδα ξεκίνησε με υψηλότερο σκορ, περιορίζοντας έτσι τις πιθανές αυξήσεις των σκορ (Lowe et al., 2019).

Μετά από διάστημα 24 μηνών, η ομάδα Early Dosing/Low Motor έφτασε σε μέσο σκορ CHOP-INTEND 50,7 μονάδες, ενώ οι ασθενείς στην ομάδα Late Dosing έφτασαν κατά μέσο όρο σκορ CHOP-INTEND 49,8 μονάδες. Συγκρίνοντας τις δύο ομάδες μεταξύ τους, παρατηρείται ότι οι ασθενείς στην ομάδα Early Dosing/Low Motor έφτασαν σε μέσο όρο βαθμολογίας CHOP-INTEND παρόμοιο με αυτό της ομάδας Late Dosing, παρά το γεγονός ότι είχαν χαμηλότερη μέση κινητική λειτουργία. Οι ασθενείς στην ομάδα Early Dosing/High Motor έφτασαν σε μέση βαθμολογία CHOP-INTEND 60,3 μονάδες και, μάλιστα, δύο ασθενείς σε αυτήν την ομάδα έφτασαν στο ανώτατο όριο των 64 μονάδων. Επιπρόσθετα, σχεδόν όλοι οι ασθενείς κατάφεραν να κάθονται χωρίς βοήθεια μετά από θεραπεία με onasemnogene aberavonvec-xioi. Συγκεκριμένα, 24 μήνες μετά τη θεραπεία, 11 από τους 12 ασθενείς (92%) κάθισαν χωρίς βοήθεια για πέντε δευτερόλεπτα ή περισσότερο, στους οποίους περιλαμβάνονται και οι τρεις ασθενείς (100%) στην ομάδα Early Dosing/Low Motor. Επιπλέον, 9 στους 12 ασθενείς (75%) κάθισαν χωρίς βοήθεια για ≥ 30 δευτερόλεπτα, ύστερα από 24 μήνες παρακολούθησης (Lowe et al., 2019).

Ανεξάρτητα από την ηλικία τους κατά τη χορήγηση, η συντριπτική πλειονότητα των ασθενών με SMA I που έλαβαν θεραπεία με την προτεινόμενη θεραπευτική δόση του onasemnogene aberavonvec-xioi κατάφεραν να καθίσουν χωρίς βοήθεια. Είναι ιδιαίτερα σημαντικά να σημειωθούν ότι:

- οι ασθενείς που είχαν λάβει τη δόση σε μικρότερη ηλικία, κατάφεραν να επιτύχουν το αποτέλεσμα πολύ πιο γρήγορα, ανεξάρτητα από την κινητική τους λειτουργία κατά την έναρξη και
- σε ασθενείς με χαμηλή κινητική λειτουργία κατά την έναρξη, παρατηρήθηκε κλινικά σημαντική και ταχεία βελτίωση στην κινητική λειτουργία, καθώς και στην ικανότητα να κάθονται χωρίς βοήθεια (Lowe et al., 2019).

5.1.2. Σύγκριση αποτελεσμάτων χορήγησης AVXS-101 και Nusinersen

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η σύγκριση μεταξύ των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης για το onasemnogene aberavonvec-xioi (AVXS-101; Zolgensma), η οποία

διερευνήθηκε στη μελέτη START (AVXS-101-CL-101; [NCT02122952](#)), με εκείνων της κλινικής μελέτης για το Nusinersen (Spinraza) (ENDEAR; [NCT02193074](#)).

Η ENDEAR είναι μία κλινική μελέτη φάσης III, διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη για το φάρμακο Nusinersen. Η μέση ηλικία κατά την έναρξη των συμπτωμάτων ήταν 1,4 (0-3,0) μήνες για ασθενείς στην κλινική δοκιμή START και 1,8 (0,5-4,1) μήνες για ασθενείς στην κλινική δοκιμή ENDEAR. Η μέση ηλικία των ασθενών στην πρώτη δόση ήταν 3,4 (0,9-7,9) και 5,3 (1,7-7,9) μήνες για τους ασθενείς στις κλινικές δοκιμές START και ENDEAR, αντίστοιχα. Η μέση βαθμολογία CHOP-INTEND κατά την έναρξη ήταν 28,2 και 26,6 για ασθενείς στις κλινικές δοκιμές START και ENDEAR, αντίστοιχα (Dabbous, O, et al., 2019).

Αναφορικά με την επιβίωση, το 100% των ασθενών στην κλινική δοκιμή AVXS-101-CL-101 ήταν ζωντανοί κατά την τελευταία επίσκεψη, ενώ το 84% των ασθενών στην κλινική δοκιμή ENDEAR ήταν ζωντανοί κατά την τελευταία επίσκεψη. Όσον αφορά την επιβίωση χωρίς συμβάντα, δεν αναφέρθηκε θάνατος και καμία ανάγκη χρήσης μόνιμου υποβοηθούμενου αερισμού στο 100% των ασθενών στην κλινική δοκιμή με onasemnogene aberparnovec-xio και στο 61% για ασθενείς στην κλινική δοκιμή με Nusinersen (Dabbous et al., 2019).

Αναφορικά με την κινητική λειτουργία, όλοι οι ασθενείς (100%) στην κλινική δοκιμή START πέτυχαν μια αλλαγή στην κλίμακα CHOP-INTEND (δηλαδή αύξηση ≥ 4 μονάδων από την έναρξη), ενώ στην κλινική δοκιμή ENDEAR το 71% των ασθενών. Ακόμη, το 92% των ασθενών στην κλινική δοκιμή START πέτυχαν τον έλεγχο του κεφαλιού κατά την τελευταία επίσκεψη, ενώ στην κλινική δοκιμή ENDEAR το 22% των ασθενών. Το 75% των ασθενών στην START κλινική δοκιμή μπορούσε να γυρίσει (rollover) κατά την τελευταία επίσκεψη, ενώ το ποσοστό ήταν 10% για τους ασθενείς της ENDEAR. Το 92% των ασθενών στην START μπορούσε να καθίσει χωρίς βοήθεια για ≥ 5 δευτερόλεπτα στην τελευταία επίσκεψη και το 75% για ≥ 30 δευτερόλεπτα, ενώ στην ENDEAR μόνο το 8% των ασθενών μπορούσε να καθίσει χωρίς βοήθεια (Dabbous et al., 2019).

Συνολικά, και οι δύο θεραπείες έδειξαν σημαντικές βελτιώσεις στην επιβίωση και την κινητική λειτουργία των ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία στην εκάστοτε κλινική δοκιμή. Η έμμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο κλινικών δοκιμών υποδηλώνει πιθανώς ότι το onasemnogene aberparnovec-xio μπορεί να σχετίζεται με περισσότερα κλινικά οφέλη από αυτά που παρατηρήθηκαν μετά τη χορήγηση Nusinersen (Finkel et al., 2017).

Μάλιστα, έρευνες έδειξαν ότι για κάθε 2,6 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με onasemnogene aberparnovec-xio αντί για Nusinersen, μπορεί να αποφευχθεί ένας ακόμη θάνατος ή η ανάγκη χρήσης μόνιμης αναπνευστικής υποστήριξης καθώς, η πιθανότητα πρόληψης θανάτου ή ανάγκης χρήσης μόνιμης αναπνευστικής υποστήριξης είναι 60% υψηλότερη για το onasemnogene aberparnovec-xio σε σύγκριση με το Nusinersen (Talbot & Tizzano, 2017).

5.2 LONG-TERM FOLLOW-UP STUDY FOR PATIENTS FROM AVXS-101-CL-101 (START)

Η κλινική μελέτη LTFU (AVXS-101-LT-001; [NCT03421977](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03421977)) με ημερομηνία έναρξης 21/09/2017, είναι μία μακροχρόνια μελέτη παρατήρησης 15 ετών (έως το 2033) η οποία αφορά τους ασθενείς της μελέτης START (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03421977>).

Αποσκοπεί στην εξασφάλιση ενός ασφαλούς φαρμάκου χωρίς την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών μετά τη χορήγηση του. Για τους σκοπούς της συγκεκριμένης μελέτης, συμμετείχαν 3 ασθενείς από την 1^η κοορτή και 10 ασθενείς από την 2^η κοορτή της κλινικής ανάλυσης START. Δεδομένα που συλλέχθηκαν τον Ιούνιο του 2020, 10/10 (100%) ασθενείς της 2^{ης} ομάδας παρέμειναν ζωντανοί χωρίς μόνιμη μηχανική αναπνευστική υποστήριξη, ενώ 6/10 (60%) δεν χρειάστηκαν παρέμβαση καθημερινής αναπνευστικής υποστήριξης για ενίσχυση της αναπνοής τους μετά τη χορήγηση του φαρμάκου στο διάστημα 4 ετών. Εντούτοις, μόνο σε περιπτώσεις οξείας δύσπνοιας το 1/6 ασθενών έλαβε υποστήριξη με BiPAP. Επιπρόσθετα, οι ειδικοί υποστήριξαν ότι οι όποιες ανεπιθύμητες ενέργειες εμφανίστηκαν δεν συσχετίζονται με τη χορήγηση του onasemnogene aberparnonec-χιοί ([3. NOVARTIS](https://www.novartis.com)).

5.3 STRIVE

Πρόσθετα υποστηρικτικά δεδομένα για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του φαρμάκου onasemnogene aberparnonec-χιοί προκύπτουν από μία παρεμβατική κλινική μελέτη τη STRIVE η οποία φαίνεται να ενισχύει τα αποτελέσματα της μελέτης START. Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη κλινική δοκιμή φάσης III στις ΗΠΑ, με ημερομηνία έναρξης 11 Οκτωβρίου 2017 και λήξης 12 Νοεμβρίου 2019. Στην εν λόγω μελέτη, υποβλήθηκαν σε γονιδιακή θεραπεία με το φάρμακο Zolgensma 22 συμπτωματικοί ασθενείς με νωτιαία μυϊκή ατροφία τύπου I.

Η επιλογή των ασθενών που μετείχαν στη συγκεκριμένη μελέτη βασίστηκε σε ορισμένα κριτήρια όπως (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277>):

- Γενετικά χαρακτηρίζονται από ανίχνευση επιβεβαιωμένης παραλλαγής (έλλειμμα ή σημειακή παραλλαγή) και στα δύο αντίγραφα του *SMN1* γονιδίου με 1 ή 2 αντίγραφα *SMN2* γονιδίου.
- Η ηλικία των ασθενών ήταν κάτω των 6 μηνών (μέση ηλικία είναι 3,7 μηνών) κατά τη χορήγηση του φαρμάκου.
- Πριν την έναρξη του θεραπευτικού σχήματος πραγματοποιήθηκε η διαγνωστική αξιολόγηση της δυσφαγίας των ασθενών.

Στις 16 Ιουλίου 2020 στη σελίδα *ClinicalTrials.gov*, έγινε η τελευταία ενημέρωση των αποτελεσμάτων της κλινικής δοκιμής STRIVE (AVXS-101-CL-303; [NCT03306277](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277))(<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277>).

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι κατά την ολοκλήρωση της δοκιμής δεκατρείς ασθενείς (59,1%) σε ηλικία 18 μηνών μπορούσαν να καθίσουν χωρίς υποστήριξη για ≥ 30 δευτερόλεπτα αλλά και απέκτησαν έλεγχο της κεφαλής αποτελώντας τα πρωτεύοντα τελικά σημεία της αποτελεσματικότητας (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277>).

Από τους ασθενείς που εντάχθηκαν στη STRIVE προέκυψε ότι το 90,9% (20/22) των ασθενών σε ηλικία 14 μηνών κατάφεραν να επιβιώσουν χωρίς την ανάγκη μόνιμης μηχανικής αναπνευστικής υποστήριξης (πρωτεύον τελικό σημείο), ένας ασθενής κατέληξε και θεωρήθηκε ότι δε σχετιζόταν με το φάρμακο Zolgensma και ένας άλλος αποσύρθηκε λόγω εμφάνισης ανεπιθύμητων συμβάντων και ανάγκη για μόνιμο μηχανικό αερισμό (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277>).

Το 40,9% (9/22) των ασθενών πέτυχαν μη υποβοηθούμενη μάσηση και κατάποση σε ηλικία 18 μηνών (δευτερεύον τελικό σημείο της αποτελεσματικότητας). Όλοι οι ασθενείς που έλαβαν onasemnogene aberarnovenc είχαν τουλάχιστον ένα ανεπιθύμητο συμβάν, με πιο συχνό τον πυρετό. Οι πιο συχνά αναφερόμενες σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν η βρογχιολίτιδα, η πνευμονία και η αναπνευστική δυσχέρεια. Τρεις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες συσχετίστηκαν ή πιθανώς σχετίζονται με τη θεραπεία: δύο ασθενείς είχαν αυξημένες ηπατικές αμινοτρανσφεράσες και ένας εμφάνισε υδροκέφαλο (Day et al., 2021a).

Τέλος, στο 81,8% (18/22) δε χρειάστηκε παρέμβαση αναπνευστικής υποστήριξης για ενίσχυση της αναπνοής τους στους 18 μήνες. Αυτό συνεπάγεται ότι απαλλάχθηκαν καθολικά από μηχανική αναπνευστική υποστήριξη εκτός κάποιων περιπτώσεων οξέων περιστατικών που κρίθηκε απαραίτητο η χρήση της συσκευής BiPAP (δευτερεύον τελικό σημείο της αποτελεσματικότητας) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277>).

5.4 STRIVE- EU

Η μελέτη STRIVE-EU (AVXS-101-CL-302; [NCT03461289](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03461289)) είναι μια συγκριτική κλινική μελέτη φάσης III υπό την επίβλεψη της Ευρώπης και αποσκοπεί στον έλεγχο της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου onasemnogene aberarnovenc-χίοι. Πραγματοποιήθηκε εφάπαξ ενδοραχιαία έγχυση του φαρμάκου, δόσης $1,1 \times 10^{14}$ vg / kg σε 33 γενετικά επιβεβαιωμένα συμπτωματικά πάσχοντα βρέφη με SMA τύπου I. Όλοι οι ασθενείς επιλέχθηκαν με βάση κάποιων κριτηρίων τα οποία ήταν παρόμοια με αυτά της μελέτης STRIVE δηλαδή, ανίχνευση επιβεβαιωμένης παραλλαγής στα δύο αντίγραφα του *SMN1* γονιδίου με 1 ή 2 αντίγραφα *SMN2* γονιδίου και ηλικίας κάτω των 6 μηνών κατά τη χορήγηση του φαρμάκου, με τη διαφορά ότι τα άτομα στη μελέτη STRIVE-EU να παρουσιάζουν εντονότερα συμπτώματα (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03461289>; [4. NOVARTIS](https://www.novartis.com/clinical-trials)).

Ξεκίνησε τον Αύγουστο του 2018 με τελευταία καταγραφή αποτελεσμάτων στο *Clinicaltrials.gov*. τον Απρίλιο του 2021. Ωστόσο, ενθαρρυντικά δεδομένα είχαν ήδη προκύψει από τις 31 Δεκεμβρίου 2019 και είχαν συσχετιστεί με τη βελτίωση των αναπτυξιακών οροσήμων των ασθενών. Συγκεκριμένα, το 18,8% των ασθενών είχε κατορθώσει να κάθεται χωρίς υποστήριξη για ≥ 10 δευτερόλεπτα ενώ, το 91,7% δεν χρειάστηκαν μηχανική υποστήριξη αναπνοής (με εξαίρεση περιπτώσεις οξέων περιστατικών και η χρήση του μηχανήματος BiPAP για την αντιμετώπισή τους) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03461289>).

Σύμφωνα με τα πρόσφατα δεδομένα της βάσης δεδομένων *Clinicaltrials.gov*., προέκυψε ότι το 96,9% (32/33) κατόρθωσε να επιβιώσει και δεν απαιτήθηκε μηχανική υποστήριξη της αναπνοής. Ο ασθενής που κατέληξε εμφάνισε υποξική-ισχαιμική εγκεφαλική βλάβη καθώς και αναπνευστική ανεπάρκεια χωρίς ωστόσο, ο θάνατός του να αποδίδεται στη χορήγηση του φαρμάκου (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03461289>).

Σημειώθηκε επίσης, μία στατιστικά σημαντική βελτίωση (43,8%) της ικανότητα των ασθενών να κάθονται για ≥ 10 δευτερόλεπτα χωρίς βοήθεια αλλά και η απόκτηση του ελέγχου της κεφαλής τους, ορόσημα τα οποία δεν παρατηρούνται στη φυσική ιστορία της SMA I (πρωτεύοντα τελικά σημεία αποτελεσματικότητας) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03461289>).

Το 57,58% των ασθενών (19/33 ασθενείς) που έλαβαν onasemnogene aberparnonec βίωσαν τουλάχιστον ένα ανεπιθύμητο συμβάν, με πιο συχνά την πνευμονία και τον πυρετό.

5.5 SPRINT

Περαιτέρω, κλινικές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη με στόχο την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του onasemnogene aberparnonec-χιοί σε προσυμπτωματικούς ασθενείς με SMA. Η SPRINT (AVXS-101-CL-304; [NCT03505099](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03505099)), είναι μία παγκόσμια μελέτη, φάσης III η οποία ξεκίνησε τον Απρίλιο του 2019 και έχει ήδη παρουσιάσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Έως και στις 13 Νοεμβρίου του 2020 είχαν υποβληθεί σε θεραπεία 30 προσυμπτωματικοί ασθενείς (n=30), ηλικίας ≤ 6 εβδομάδων κατά τη χορήγηση της δόσης του φαρμάκου. Γενετικά ορίστηκαν ασθενείς με δι-αλληλική παραλλαγή *SMN1* γονιδίου με SMA τύπου I (n=14) ή τύπου II (n=15) και ανίχνευση 2 ή 3 αντιγράφων *SMN2* αντίστοιχα, επίσης, συμμετείχε και ένας ασθενής με 4 αντίγραφα *SMN2* (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03505099>).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης παρατηρήθηκε παρατεταμένη επιβίωση για όλους τους ασθενείς (100%) και από τις δύο κοορτές χωρίς συμβάντα (επιβίωσαν χωρίς μόνιμη αναπνευστική υποστήριξη) αλλά και όλοι τους κατάφεραν να αναπτύξουν δεξιότητες αυτόνομης σίτισης ([3. NOVARTIS](https://www.novartis.com)).

Στην 1^η κοορτή που παρακολούθηθηκε η μέση ηλικία των ασθενών με SMA I και 2 αντίγραφα *SMN2* κυμαινόταν στους 15,6 μήνες (εύρος 8,8 έως 18,8 μηνών). Οι 11 από τους 14

ασθενείς (79%), κατάφεραν να κάθονται χωρίς βοήθεια για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα, ενώ 4 στους 14 (28,5%) απέκτησαν την ικανότητα βάρδισης χωρίς βοήθεια. Επιπλέον, δεδομένα για την ανάπτυξη κινητικών δεξιοτήτων προέρχονται από τη μέτρηση της κλίμακας Αξιολόγησης των Βρεφών με Νευρομυϊκή Νόσο του Παιδιατρικού Νοσοκομείου της Φιλαδέλφεια (CHOP-INTEND) με το 100% (14/14) των ασθενών να πετυχαίνουν μέση βαθμολογία στην κλίμακα αξιολόγησης CHOP-INTEND ≥ 50 , ενώ το 93% (13/14) μέση βαθμολογία CHOP INTEND ≥ 58 ([3. NOVARTIS](#)).

Στη 2^η κοορτή από τη συλλογή δεδομένων ασθενών με SMA τύπου II και με 3 αντίγραφα *SMN2* η μέση ηλικία κυμαινόταν στους 15,2 μήνες (εύρος 3,3 έως 21,1 μηνών). Οι 8 από τους 15 (53%) πάσχοντες κατόρθωσαν να σταθούν μόνοι τους χωρίς υποστήριξη για ≥ 3 δευτερόλεπτα καθώς και 6 ασθενείς (40%) μπόρεσαν να περπατήσουν χωρίς βοήθεια. Κατά κύριο λόγο, οι ασθενείς και στις δύο κοορτές που πέτυχαν κινητικά ορόσημα βρίσκονταν εντός των φυσιολογικών ηλικιακών ορίων εμφάνισης των κινητικών οροσήμων. Στους υπόλοιπους ασθενείς αναμένονται τα αποτελέσματα καθώς δε βρίσκονται στη κατάλληλη ηλικία για εμφάνιση κινητικών δεξιοτήτων ([3. NOVARTIS](#)).

Αναφέρθηκε ότι όλοι οι ασθενείς εμφάνισαν τουλάχιστον ένα ανεπιθύμητο συμβάν κατά τη χορήγηση του Zolgensma, ενώ επτά από αυτούς παρουσίασαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες μετά τη χορήγηση του. Παρόλα αυτά, όλα τα σοβαρά ανεπιθύμητα αποτελέσματα επιλύθηκαν και θεωρήθηκαν από τους ερευνητές άσχετα με τη θεραπεία ([3. NOVARTIS](#)).

5.6 STRONG

Το Δεκέμβριο του 2017 ξεκίνησε η κλινική μελέτη STRONG (*AVXS-101-CL-102*; [NCT03381729](#)). Πρόκειται για κλινική μελέτης φάσης I. Τα αποτελέσματα αναμένονται τον Ιούνιο του 2021 έπειτα από αναστολή της από τον FDA. Η αναστολή της οφείλεται σε αποτελέσματα προκλινικών μελετών σύμφωνα με τις οποίες, παρατηρήθηκε αύξηση στους δείκτες φλεγμονής (Stevens et al., 2020).

Ο σκοπός της μελέτης είναι ο υπολογισμός της βέλτιστης δόσης του φαρμάκου με στόχο την εξασφάλιση της ασφάλειας των ασθενών. Μέχρι στιγμής έχουν συμμετάσχει 51 συμπτωματικοί ασθενείς με ηλικία έναρξης της θεραπείας από 6 μηνών έως 5 ετών. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τρεις κοορτές και υποβλήθηκαν σε άπαξ ενδorroαχίαία έγχυση του Zolgensma αλλά, με διαφορετική δοσολογία. Στην πρώτη κοορτή οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με χαμηλότερη δόση (6×10^{13} φορείς γονιδιώματος vg/kg), στη δεύτερη κοορτή έλαβαν μεσαία δόση ($1,2 \times 10^{14}$ vg/kg), ενώ στη τρίτη οι ασθενείς έλαβαν υψηλότερη δόση ($2,4 \times 10^{14}$ vg/kg) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03381729?term=ZOLGENSMA&cond=SMA&draw=2&rank=9>).

5.7 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΎΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ AVXS-101 ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ SMA

Η χορήγηση του Zolgensma έχει συσχετιστεί ισχυρά με τον κίνδυνο εμφάνισης ηπατοτοξικότητας. Στη μελέτη των Chand et al (2021) αναλύθηκαν δεδομένα από ασθενείς με SMA που είχαν λάβει το Zolgensma έως τις 31 Δεκεμβρίου 2019. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν από τις 5 κλινικές μελέτες, από το πρόγραμμα MAP (Managed Access Program) (μέσω του οποίου οι γιατροί μπορούν να συνταγογραφούν, με δική τους επαγγελματική ευθύνη, μία μη εγκεκριμένη θεραπεία για τους ασθενείς) και από τη μακροχρόνια βάση δεδομένων (RESTORE) (Finkel et al., 2020). Εξετάστηκαν και αναλύθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες σχετικές με το ήπαρ, εργαστηριακά δεδομένα, φαρμακευτική αγωγή και χρήση πρεδνιζολόνης (Chand et al., 2021).

Με βάση τις ανεπιθύμητες ενέργειες και τα εργαστηριακά δεδομένα από τη βάση δεδομένων *ClinicalTrials.gov*, από τους 100 ασθενείς που είχαν συμμετάσχει στις κλινικές μελέτες, οι 90 (90%) είχαν αυξημένες μετρήσεις σε ελέγχους της ηπατικής λειτουργίας (αμινοτρανσφεράση αλανίνης, ασπαρτική αμινοτρανσφεράση και συγκεντρώσεις χολερυθρίνης). Από αυτούς τους ασθενείς, παρουσία ηπατοτοξικότητας αναφέρθηκε σε 34 από τους 100 (34%) ασθενείς των κλινικών μελετών. Στο πρόγραμμα MAP/RESTORE είχαν συμμετάσχει 43 ασθενείς, εκ των οποίων 10 (23%) ασθενείς εμφάνισαν ηπατοτοξικότητα. Ενώ, σε δύο ασθενείς στο πρόγραμμα MAP που εμφάνισαν οξεία ηπατική βλάβη υποχώρησε πλήρως. Ωστόσο, ενώ όλες οι ανεπιθύμητες ενέργειες στο συνολικό πληθυσμό υποχώρησαν, η διάρκεια της θεραπείας με πρεδνιζολόνη κυμαινόταν από 33 έως 229 ημέρες, με την πλειοψηφία των ασθενών να λαμβάνει πρεδνιζολόνη για 60–120 ημέρες (Chand et al., 2021).

Πριν από τη χορήγηση, πάνω από το 60% των ασθενών εμφάνιζαν αύξηση των συγκεντρώσεων αμινοτρανσφεράσης αλανίνης ή/και ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης και χολερυθρίνης. Μάλιστα, σε περισσότερο από το 40% των ασθενών χορηγήθηκαν ταυτόχρονα δυνητικά ηπατοτοξικά φάρμακα (Chand et al., 2021).

5.8 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΧΟΡΗΓΗΣΗΣ SPINRAZA ΜΕ ZOLGENSMA

Στη μελέτη Harada et al (2020), αναλύθηκαν τα αποτελέσματα από τη συνδυαστική θεραπεία Spinraza με Zolgensma σε 5 ασθενείς με SMA τύπου I και ανίχνευση 2 αντιγράφων *SMN2* γονιδίου. Συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικές με το ιστορικό των ασθενών, όπως είναι η ηλικία διάγνωσης και ο τύπος SMA, οι αναπνευστικές και διατροφικές επιπλοκές, οι ανεπιθύμητες ενέργειες, η εκτίμηση του βαθμού κινητικής βελτίωσης μέσω CHOP-INTEND και η νευρολογική εκτίμηση νεογνών με την κλίμακα Hammersmith (HINE2-Hammersmith Infant Neurological Examination 2) (Harada et al., 2020). Η κλίμακα αξιολόγησης HINE2 είναι μια απλή μέθοδος νευρολογικής εξέτασης νεογνών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε νεογνά από 2 έως 24 μηνών. Περιλαμβάνει διαφορετικά σημεία αξιολόγησης τα οποία χωρίζονται σε

διαφορετικούς τομείς και σε έναν από αυτούς καταγράφονται 8 σημεία που εκτιμούν την κινητική λειτουργία. Το εύρος του σκορ στην κλίμακα αξιολόγησης Hammersmith κυμαίνεται από 0 έως 26, με το 26 να αποτελεί το μέγιστο βαθμό κινητικής λειτουργίας (De Sanctis et al., 2016).

Στους 4 από τους 5 ασθενείς (1,2,4 και 5), χορηγήθηκε πρώτα θεραπεία με Spinraza και στη συνέχεια θεραπεία με Zolgensma, ενώ σε έναν ασθενή (3) χορηγήθηκε πρώτα θεραπεία με Zolgensma και κατόπιν με Spinraza. Αναλυτικότερα:

Στον 1^ο ασθενή (7μηνών) χορηγήθηκε αρχικά θεραπεία με Spinraza και μετά από ένα μήνα παρουσίασε αναπνευστικές και διατροφικές επιπλοκές. Για την αντιμετώπιση αυτών των επιπλοκών έγινε η χρήση της συσκευής BiPAP και λαπαροσκοπικής θολοπλαστικής κατά Nissen αντίστοιχα. Σε θεραπεία με Zolgensma υποβλήθηκε κατά την ηλικία 21^{ος} μηνών και ακολούθησε θεραπεία με Spinraza, επιτυγχάνοντας αυξημένα σκορ στην κλίμακα CHOP-INTEND=47. Στον 2^ο ασθενή, σε ηλικία 1,5 μηνών, χορηγήθηκε αρχικά θεραπεία με Spinraza. Παρατηρήθηκε βαθμολογία στην κλίμακα αξιολόγησης CHOP-INTEND=53 και σκορ στην κλίμακα αξιολόγησης Hammersmith=12. Στην ηλικία 8 μηνών κρίθηκε απαραίτητο η χρήση της συσκευής BiPAP για την αντιμετώπιση αναπνευστικών επιπλοκών. Το Zolgensma χορηγήθηκε σε ηλικία 18 μηνών και στη συνέχεια έγινε επαναχορήγηση του Spinraza. Αν και τα σκορ της κλίμακας CHOP-INTEND και HINE2 παρέμειναν σταθερά, ο ασθενής κατόρθωσε να κάθεται χωρίς υποστήριξη και να κινεί μόνος του το αναπηρικό του αμαξίδιο. Ο 3^{ος} ασθενής αρχικά έλαβε θεραπεία με Zolgensma σε ηλικία 6,5 μηνών και σε ηλικία 7 μηνών έγινε χρήση μηχανικού αερισμού (Mechanical Ventilation-MV) μέσω τραχειοστομίας για αναπνευστική υποστήριξη. Στην ηλικία των 9 μηνών χορηγήθηκε το Spinraza, επιτυγχάνοντας τελικά σκορ της κλίμακας CHOP-INTEND 23 μονάδες και HINE2 1 μονάδα. Ο 4^{ος} ασθενής υποβλήθηκε αρχικά σε θεραπεία με Spinraza (6,5 μηνών) και στους 7 μήνες έγινε χρήση της συσκευής BiPAP για την αντιμετώπιση αναπνευστικών επιπλοκών. Σε ηλικία 22 μηνών παρουσίασε βαθμολογία στην κλίμακα αξιολόγησης CHOP-INTEND=48. Η θεραπεία με Zolgensma πραγματοποιήθηκε σε ηλικία 23 μηνών με τελική βαθμολογία στην κλίμακα CHOP-INTEND=55 και στην κλίμακα HINE2=8. Στον 5^ο ασθενή πριν την χορήγηση του φαρμάκου Spinraza (4 μηνών) έγινε χρήση μηχανικού αερισμού (MV) μέσω τραχειοστομίας για αναπνευστική υποστήριξη. Σε ηλικία 23 μηνών χορηγήθηκε το Zolgensma, ενώ διακόπηκε η επαναχορήγηση του Spinraza λόγω κόστους. Παρουσίασε τελικό σκορ στην κλίμακα CHOP-INTEND 46 μονάδες κατά την τελευταία επίσκεψη (Harada et al., 2020).

Ανεπιθύμητες ενέργειες σχετικές με το ήπαρ αναφέρθηκαν σε 4 από τους 5 ασθενείς (1,2,4,5) και είχαν αυξημένες μετρήσεις σε ελέγχους της ηπατικής λειτουργίας (αμινοτρανσεράση αλανίνης, ασπαρτική αμινοτρανσεράση). Από αυτούς, 2 ασθενείς (1,2)

παρουσίασαν ηπατική βλάβη η οποία υποχώρησε πλήρως μετά από θεραπεία με πρεδνιζολόνη (Harada et al., 2020).

Σύμφωνα με τους ερευνητές, από τη συγχρόνηση Spinraza με Zolgensma φαίνεται ότι η ποιότητα ζωής των ασθενών βελτιώθηκε, ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες σχετικές με το ήπαρ που εμφανίστηκαν, συσχετίστηκαν με τη χορήγηση του Zolgensma. Ωστόσο, είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθούν περαιτέρω μελέτες για να ερευνηθεί εάν ο συνδυασμός τους έχει καλύτερα αποτελέσματα απ'ότι μεμονωμένα (Harada et al., 2020). Για το λόγο αυτό, τον Ιανουάριο 2021 ξεκίνησε η κλινική μελέτη RESPOND ([NCT04488133](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04488133)) τα αποτελέσματα της οποίας αναμένονται το 2024. Η κλινική μελέτη RESPOND είναι μια μελέτη φάσης 4 και αποσκοπεί στον έλεγχο της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της χορήγησης του Spinraza σε ασθενείς με SMA που έχουν ήδη υποβληθεί σε θεραπεία με Zolgensma. Έχουν συμμετάσχει 60 ασθενείς με ηλικία έναρξης από 3 έως 36 μηνών. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04488133>)

Πίνακας 5-1: Κλινικές μελέτες για το φάρμακο onasemnogene aberavonoc-xioi στη θεραπεία της Νωτιαίας Μυϊκής Ατροφίας.

Μελέτη	Κλινική φάση	Κατάσταση μελέτης	Ασθενείς
START (AVXS-101-CL-101; NCT02122952)	Κλινική μελέτη φάσης I	Ολοκληρώθηκε	SMA I
LTFU (AVXS-101-LT-001; NCT03421977)	-	Σε εξέλιξη	SMA I
STRIVE (AVXS-101-CL-303; NCT03306277)	Κλινική μελέτη φάσης III	Ολοκληρώθηκε	SMA I
STRIVE-EU (AVXS-101-CL-302; NCT03461289)	Κλινική μελέτη φάσης III	Ολοκληρώθηκε	SMA I
SPRINT (AVXS-101-CL-304; NCT03505099)	Κλινική μελέτη φάσης III	Σε εξέλιξη	Προ-συμπτωματικούς ασθενείς.
STRONG (AVXS-101-CL-102; NCT03381729)	Κλινική μελέτη φάσης I	Σε αναστολή	SMA II

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

6.1 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία (Spinal Muscular Atrophy) σε συντομία SMA, είναι ένα σπάνιο νευρομυϊκό νόσημα του οποίου ο χειρισμός είναι ιδιαίτερα πολύπλοκος. Στην Ελλάδα είναι το τρίτο πιο συχνό γενετικό νόσημα. Οι πάσχοντες έχουν ανάγκη από υποστηρικτικές υπηρεσίες υγείας έως και γενετικές θεραπείες. Άρα λοιπόν, για την «αντιμετώπισή» της, επιτακτική ανάγκη είναι η παρέμβαση μιας διεπιστημονικής ομάδας η οποία *απαρτίζεται* από έμπειρο ιατρικό προσωπικό, φυσικοθεραπευτές και ψυχολόγους. Η προληπτική ιατρική είναι απαραίτητη και αποσκοπεί στην αύξηση του προσδόκιμου ζωής των ασθενών προσφέροντας όσο το δυνατό καλύτερη ποιότητα ζωής και σε ορισμένες περιπτώσεις στην αποφυγή του θανάτου.

6.2 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ

Οι πηγές για μία δευτερογενή έρευνα είναι πολλές δίνοντας τη δυνατότητα στους ερευνητές να επιλέξουν πληροφορίες οι οποίες αρμόζουν στα δικά τους ερευνητικά ερωτήματα. Παράλληλα, παρέχεται η δυνατότητα να διερευνηθούν ερευνητικά ζητήματα χωρίς να απαιτείται διεξαγωγή εργαστηριακών πειραμάτων, δίνοντας την ευκαιρία στους ερευνητές να διεξάγουν έρευνα με περιορισμένους πόρους. Επιπλέον, μέσω του μοιράσματος και ανταλλαγής δεδομένων, προάγεται η συγκριτική μελέτη των δεδομένων που έχουν παραχθεί σε διαφορετικούς χρόνους και κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Τέλος, η αξιολόγηση των ερευνητικών δεδομένων συνεισφέρει στην εκπαίδευση των νέων ερευνητών, αφού τα δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υλικό πάνω στο οποίο θα εφαρμοστούν για ερευνητικό (επανα)σχεδιασμό.

Εντούτοις, οι ερευνητές καλούνται να αντιμετωπίσουν ορισμένους περιορισμούς κατά τη διεξαγωγή μίας βιβλιογραφικής ανασκόπησης. Αρχικά η πρόσβαση σε βάσεις δεδομένων πρωτογενών ερευνητικών δεδομένων δεν είναι απόλυτα ελεύθερη ή παρέχεται μέσω ασφαλούς πρόσβασης σε δεδομένα που εμπεριέχουν εμπιστευτικές πληροφορίες μόνο για την ανάλυσή τους και χωρίς να μπορεί ο χρήστης να αποθηκεύσει τοπικά τα δεδομένα για περαιτέρω επεξεργασία. Άλλοι περιορισμοί που απορρέουν από τέτοιου είδους αναλύσεις είναι ότι οι ερευνητές οφείλουν να συλλέξουν όσο το δυνατό περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές που σχετίζονται με πρωτογενείς έρευνες μέσω δημοσιευμένων άρθρων, βιβλίων και ιστοσελίδων. Αναμφισβήτητα με τη συλλογή πολλαπλών δεδομένων προκύπτει ο βασικός περιορισμός μίας δευτερογενούς έρευνας ο οποίος σχετίζεται με τα κριτήρια επιλογής των δεδομένων και τον τρόπο προσέγγισης τους. Έτσι, οι ερευνητές οφείλουν να εξοικειωθούν με το αντικείμενο που διερευνάται (Τσιώλης, 2011).

6.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- 1) Συμπερασματικά, από τα δεδομένα της μελέτης START στην ενότητα 5.1, μια άπαξ ενδοφλέβια έγχυση υψηλής δόσης onasemnogene aberparnovec-χιοί σε ασθενείς με SMA τύπου I είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη επιβίωση, βελτιωμένη κινητική λειτουργία και αυξημένα σκορ στην κλίμακα CHOP-INTEND σε επίπεδα που δεν είχαν παρατηρηθεί ξανά στο παρελθόν. Ως αποτέλεσμα αυτών των βελτιώσεων, ένα χαμηλότερο ποσοστό ασθενών χρειάζονταν υποστηρικτική φροντίδα σε σύγκριση με ασθενείς παλαιότερων μελετών.
- 2) Στην υποενότητα 5.1.1 παρατηρήθηκε ότι συνολικά, τα δεδομένα της εν λόγω μελέτης υποδεικνύουν την πιθανή επίδραση της έγκαιρης θεραπείας και ταχείας έναρξης χορήγησης του onasemnogene aberparnovec-χιοί δίνοντας έμφαση στη σημασία και την κρισιμότητα του νεογνικού ελέγχου για SMA I (newborn screening), για την επίτευξη των βέλτιστων αποτελεσμάτων.
- 3) Στην υποενότητα 5.1.2 πραγματοποιήθηκε μία έμμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων χορήγησης onasemnogene aberparnovec-χιοί και Nusinersen. Συγκρίνοντας τις δύο κλινικές μελέτες START και ENDEAR παρατηρήθηκαν ότι συνολικά, και οι δύο θεραπείες έδειξαν σημαντικές βελτιώσεις στην επιβίωση και την κινητική λειτουργία σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία στην εκάστοτε κλινική δοκιμή. Σύμφωνα με την μελέτη των Finkel et al (2017), η έμμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο κλινικών δοκιμών υποδηλώνει πιθανώς ότι το onasemnogene aberparnovec-χιοί μπορεί να σχετίζεται με περισσότερα κλινικά οφέλη από αυτά που παρατηρήθηκαν μετά τη χορήγηση Nusinersen. Επιπλέον, σε σύγκριση με το Nusinersen, το onasemnogene aberparnovec-χιοί φαίνεται να έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα αναφορικά με την επιβίωση και την κινητική λειτουργία. Τέλος, μια ακόμη σημαντική διαφορά του onasemnogene aberparnovec-χιοί συγκριτικά με το Nusinersen, είναι ότι απαιτεί μία μόνο ενδοφλέβια έγχυση, χωρίς απαιτήσεις για ιδιαίτερα εξειδικευμένους πόρους και ιατρική εμπειρογνομosύνη (Talbot & Tizzano, 2017).
- 4) Τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης LTFU στην ενότητα 5.2, αναμένονται να ολοκληρωθούν το 2033, ο σχεδιασμός της οποίας έγινε για να προσδιοριστούν οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις του φαρμάκου στους ασθενείς. Πάρα ταύτα, τα πρώτα δεδομένα (2020) από την παρακολούθηση των ασθενών έχουν δείξει μία θετική εξέλιξη ως προς την επιβίωση τους χωρίς μόνιμη αναπνευστική υποστήριξη αλλά και ως προς την κινητική τους λειτουργία. Από την άλλη, οι ειδικοί τόνισαν ότι όποιες παρενέργειες εμφανίστηκαν δεν σχετίζονται με το φάρμακο.
- 5) Στην ενότητα 5.3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης STRIVE. Η χορήγηση του onasemnogene aberparnovec-χιοί σε συμπτωματικούς ασθενείς με SMA I

ηλικίας <6 μηνών οι οποίοι είχαν 1 ή 2 αντίγραφα *SMN2*, έδειξε αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης των ασθενών χωρίς συμβάντα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε και η επίτευξη κινητικών οροσήμων όπως, η ικανότητα να κάθονται χωρίς υποστήριξη για ≥ 30 δευτερόλεπτα και ο έλεγχος της κεφαλής. Όλα τα προηγούμενα επιτεύγματα ενισχύουν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι ορισμένοι ασθενείς κατάφεραν μη υποβοηθούμενη μάσηση και κατάποση σε ηλικία 18 μηνών, επίτευγμα το οποίο στη φυσική εξέλιξη της νόσου ο ασθενής δεν πετυχαίνει.

- 6) Μια ακόμη μελέτη για την ενίσχυση της ασφάλειας του φαρμάκου η οποία πραγματοποιήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση και αποτελεί μία συγκριτική μελέτη, είναι η STRIVE-EU. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι όλοι οι ασθενείς κατάφεραν να επιβιώσουν εκτός από έναν ο θάνατος του οποίου δεν οφείλεται στο φάρμακο. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι περίπου οι μισοί ασθενείς είχαν βελτιωμένα κινητικά ορόσημα το οποίο υποδηλώνει την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου.
- 7) Συμπερασματικά, από τα μέχρι στιγμής δεδομένα που έχουν συλλεχθεί από τη μελέτη SPRINT (ενότητα 5.5), διαπιστώθηκε η συμβολή της έγκαιρης θεραπείας. Αυτό, προκύπτει συγκρίνοντας τα ποσοστά ασθενών που είχαν βελτιωμένη κινητική λειτουργία ανάμεσα στην STRIVE μελέτη (συμπτωματικοί, SMA I) με την SPRINT (προσυμπτωματικοί, SMA I). Στη μελέτη STRIVE 59,1% σε ηλικία 18 μηνών μπορούσαν να καθίσουν χωρίς υποστήριξη για ≥ 30 δευτερόλεπτα, ενώ στην SPRINT 79% από την 1η κοορτή. Εντύπωση έκανε η μέση βαθμολογία στην κλίμακα αξιολόγησης CHOP-INTEND με το 93% των ασθενών να πετυχαίνουν μέση βαθμολογία ≥ 58 , καθώς δεν έχουν παρατηρηθεί ξανά ανάλογα CHOP-INTEND σκορ στις υπόλοιπες μελέτες.
- 8) Ο σκοπός της μελέτης STRONG (ενότητα 5.6) είναι ο υπολογισμός της βέλτιστης δόσης του φαρμάκου με στόχο την εξασφάλιση της ασφάλειας των ασθενών. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αναμένονται και η μελέτη βρίσκεται σε αναστολή από τον FDA διότι παρατηρήθηκε σε ορισμένους ασθενείς αύξηση στους δείκτες φλεγμονής.
- 9) Στην ενότητα 5.7 διαπιστώθηκε ότι ο κίνδυνος ηπατοτοξικότητας μπορεί να είναι σοβαρός εάν δεν αναγνωριστεί έγκαιρα. Οι επαγγελματίες υγείας θα πρέπει να προσδιορίσουν τους παράγοντες που συμβάλλουν στην ηπατοτοξικότητα και μέσω κατάλληλης παρακολούθησης και παρέμβασης, να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισής της.
- 10) Τέλος, στην ενότητα 5.8 παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα της μελέτης των Harada et al (2020) και παρατηρήθηκαν βελτιώσεις στην κινητική λειτουργία και των 5 ασθενών που υποβλήθηκαν σε συνδυαστική θεραπεία Spinraza με Zolgensma, ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες σχετικές με το ήπαρ συσχετίστηκαν με τη χορήγηση του Zolgensma. Παρόλα αυτά, αναμένονται τα αποτελέσματα της RESPOND μελέτης για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της συγχορήγησης Spinraza με Zolgensma.

6.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρά τις ραγδαίες εξελίξεις της τεχνολογίας στη σύγχρονη ιατρική επιστήμη, η θεραπευτική αντιμετώπιση της Νωτιαίας Μυϊκής Ατροφίας παραμένει μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις που έχουν βρεθεί αντιμετώπι οι ερευνητές.

Έχοντας κατανοήσει τη μοριακή γενετική βάση της ασθένειας αναπτύχθηκαν στοχευμένες θεραπείες και φαίνεται να επιβραδύνουν την πρόοδο της ασθένειας. Από τις εγκεκριμένες γενετικές θεραπείες, ξεχώρισε η γονιδιακή θεραπεία με άπαξ ενδοφλέβια έγχυση ενός λειτουργικού αντιγράφου του γονιδίου *SMN1* σε παιδιά κάτω των 2 ετών και στην Ευρώπη σε ασθενείς με SMA I ή σε ασθενείς στους οποίους ανιχνεύονται μέχρι και 3 αντίγραφα του *SMN2* γονιδίου. Σύμφωνα με τις κλινικές ενδείξεις, η χορήγηση του φαρμάκου σε προσυμπτωματικούς ασθενείς φαίνεται να επιτυγχάνει το μέγιστο όφελος. Συνδέεται με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα με αυξημένα ποσοστά επιβίωσης και κινητικών οροσήμων.

Παρόλο που υπάρχει πιθανότητα οι ασθενείς με SMA II, III και σπάνια IV κάποια στιγμή στη ζωή τους να καθηλωθούν σε αναπηρικό αμαξίδιο δε χορηγείται το Zolgensma. Ο καθολικός περιορισμός του φαρμάκου από τη μία οφείλεται στο ότι εξετάστηκαν οι συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες και από την άλλη στο υψηλό κόστος της θεραπείας το οποίο ανέρχεται στα 2,1 εκατομμύρια δολάρια. Η Novartis υποστήριξε ότι απεφάνθη να κοστολογήσει το φάρμακο βάσει του εκτιμώμενου συνολικού ποσού που καλύπτει η υγειονομική περίθαλψη ανά παιδί με SMA και ανέρχεται στα 4 εκατομμύρια δολάρια τα πρώτα 10 χρόνια χωρίς γονιδιακή θεραπεία καθώς και ότι πρόκειται για μία άπαξ θεραπεία.

Επίσης, ένα ζήτημα που φαίνεται να απασχολεί τους ερευνητές είναι ο κίνδυνος εμφάνισης ηπατοτοξικότητας μετά τη χορήγηση του zolgensma όπου με κατάλληλους χειρισμούς μειώνουν την εμφάνισή του. Ένα άλλο ζήτημα που τίθεται και απασχολεί τους ερευνητές είναι ο προσδιορισμός των μακροπρόθεσμων οφελών και κινδύνων τα αποτελέσματα των οποίων αναμένονται σε βάθος χρόνου.

Δεν υπάρχει ίαση της ασθένειας ενισχύοντας την άποψη ότι η καλύτερη θεραπευτική αντιμετώπιση της Νωτιαίας Μυϊκής Ατροφίας είναι η πρόληψη. Πρόληψη μπορεί να επιτευχθεί μέσω ταυτοποίησης των φορέων σε οικογένειες ασθενών ή στο γενικό πληθυσμό (screening), μέσω προγεννητικού ελέγχου εφόσον υπάρχει οικογενειακό ιστορικό για απόκτηση παιδιού με SMA ή μέσω προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης. Η έγκαιρη αναγνώριση των ασθενών μέσω νεογνικού ελέγχου (newborn screening) μπορεί να ταυτοποιήσει τους ασθενείς σε προσυμπτωματικό στάδιο έτσι ώστε να επωφεληθούν τα μέγιστα από τη γονιδιακή θεραπεία. Συνδυαστικά όλα τα προηγούμενα μαζί με τη γενετική συμβουλευτική βοηθούν ώστε να λαμβάνονται ενημερωμένες αποφάσεις από τους ενδιαφερόμενους. Αναπόφευκτα τα αποτελέσματα ενός γενετικού ελέγχου ή διάγνωσης οδηγεί σε αύξηση του ψυχολογικού στρες είτε στις οικογένειες είτε σε υποψήφιους γονείς. Ως εκ τούτου, πριν και μετά από κάθε γενετική

εξέταση παρέχεται γενετική συμβουλευτική και ταυτόχρονα ψυχολογική υποστήριξη. Άρα, επείγουσα σημασία έχει η έγκαιρη διάγνωση της SMA τόσο για τον ασθενή όσο και για τις οικογένειές τους. Ωστόσο, παρά τη διαθεσιμότητα αποτελεσματικών διαγνωστικών πρωτόκολλων και του χαμηλού κόστους ελέγχου, υπάρχουν σημαντικές αποκλίσεις κυρίως στην Ευρώπη ως προς τη διαθεσιμότητα του ανιχνευτικού ελέγχου νεογνών για SMA ώστε να συμπεριληφθεί στις εξετάσεις ρουτίνας. Επιπλέον, και σε κοινωνικοοικονομικό επίπεδο ο έλεγχος νεογνών συμβάλει καθώς, αποφεύγονται περιττά κόστη που συνδέονται με τις επιπλοκές της ασθένειας έτσι, διαμορφώνονται πιο ανθεκτικά συστήματα υγείας. Επομένως, η διαθεσιμότητα ελέγχου νεογνών παγκοσμίως ωφελεί τόσο τον ασθενή και την οικογένειά του όσο και την πολιτεία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αγγλόγλωσση βιβλιογραφία

1. Arnold, E. S., & Fischbeck, K. H. (2018). Spinal muscular atrophy. *Handbook of clinical neurology*, 148, pp. 591–601,
2. Arnold, W. D., Kassar, D., & Kissel, J. T. (2015). Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle & nerve*, 51(2), 157–167. <https://doi.org/10.1002/mus.24497>
3. Barth P. G. (1993). Pontocerebellar hypoplasias. An overview of a group of inherited neurodegenerative disorders with fetal onset. *Brain & development*, 15(6), 411–422. [https://doi.org/10.1016/0387-7604\(93\)900](https://doi.org/10.1016/0387-7604(93)900)
4. Baumbach-Reardon, L., Sacharow, S. J., & Ahearn, M. E. (2008). Spinal Muscular Atrophy, X-Linked Infantile. In M. P. Adam (Eds.) et. al., *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle.
5. Bäumer, D., Ansorge, O., Almeida, M., & Talbot, K. (2010). The role of RNA processing in the pathogenesis of motor neuron degeneration. *Expert reviews in molecular medicine*, 12, e21. <https://doi.org/10.1017/S1462399410001523>
6. Bebee, T. W., Gladman, J. T., & Chandler, D. S. (2010). Splicing of the Survival Motor Neuron genes and implications for treatment of SMA. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 15, 1191–1204. <https://doi.org/10.2741/3670>
7. Bebee Thomas. W & Dawn S. Chandler. (2011). Modeling Spinal Muscular Atrophy in Mouse: A Disease of Splicing, Stability, and Timing. *In Advanced Understanding of Neurodegenerative Diseases*. (pp. 330-347).
8. Bennett, C. F., Krainer, A. R., & Cleveland, D. W. (2019). Antisense Oligonucleotide Therapies for Neurodegenerative Diseases. *Annual review of neuroscience*, 42, 385–406. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050501>
9. Bergen, J. M., Park, I. K., Horner, P. J., & Pun, S. H. (2008). Nonviral approaches for neuronal delivery of nucleic acids. *Pharmaceutical research*, 25(5), 983–998. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9439-5>

10. Bora, G., Ayşe, Y. K., Can Ebru, B. K., Vildan Gökür, H., Haluk Aydın, T., Hayat, E. Y., & Sevim, E. Ö. (2018). Recent therapeutic developments in spinal muscular atrophy. *Turkish journal of medical sciences*, 48(2), 203–211. <https://doi.org/10.3906/sag-1712-1>
11. Borel, F., Kay, M. A., & Mueller, C. (2014). Recombinant AAV as a platform for translating the therapeutic potential of RNA interference. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 22(4), 692–701. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.285>
12. Boudreau, R. L., Martins, I., & Davidson, B. L. (2009). Artificial microRNAs as siRNA shuttles: improved safety as compared to shRNAs in vitro and in vivo. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 17(1), 169–175. <https://doi.org/10.1038/mt.2008.231>
13. Britton Rink., Stephanie Romero., Joseph R. Biggio Jr., Devereux N. Saller Jr and Rose Giardine. (2017) *Committee Opinion No. 691: Carrier Screening for Genetic Conditions. Obstetrics and gynecology*, 129(3), e41–e55
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001952>
14. Brzustowicz L.M, Lehner T, Castilla L.H, Penchaszadeh G.K, Wilhelmsen K.C, Daniels R, Davies K.E, Leppert M, Ziter F, Wood D, Dubowitz V, Zerres K, Hausmanowa-Petrusewicz I, Ott J, Munsat T.L, Gilliam T.C. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3. 1990. *Nature* 344:540–5417
15. Butterfield, R. J., Stevenson, T. J., Xing, L., Newcomb, T. M., Nelson, B., Zeng, W., Li, X., Lu, H. M., Lu, H., Farwell Gonzalez, K. D., Wei, J. P., Chao, E. C., Prior, T. W., Snyder, P. J., Bonkowsky, J. L., & Swoboda, K. J. (2014). Congenital lethal motor neuron disease with a novel defect in ribosome biogenesis. *Neurology*, 82(15), 1322–1330. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000305>
16. Burghes, A. H., & Beattie, C. E. (2009). Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick?. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(8), 597–609. <https://doi.org/10.1038/nrn2670>
17. Cavazzana-Calvo, M., Hacein-Bey, S., de Saint Basile, G., Gross, F., Yvon, E., Nusbaum, P., Selz, F., Hue, C., Certain, S., Casanova, J. L., Bousso, P., Deist, F. L., & Fischer,

A. (2000). Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5466), 669–672.

<https://doi.org/10.1126/science.288.5466.669>

18. Carissimi, C., Baccon, J., Straccia, M., Chiarella, P., Maiolica, A., Sawyer, A., Rappsilber, J., & Pellizzoni, L. (2005). Unrip is a component of SMN complexes active in snRNP assembly. *FEBS letters*, 579(11), 2348–2354.

<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.03.034>

19. Carré, A., & Empey, C. (2016). Review of Spinal Muscular Atrophy (SMA) for Prenatal and Pediatric Genetic Counselors. *Journal of genetic counseling*, 25(1), 32–43.

<https://doi.org/10.1007/s10897-015-9859-z>

20. Chakraborty, C., Sharma, A. R., Sharma, G., Doss, C., & Lee, S. S. (2017). Therapeutic miRNA and siRNA: Moving from Bench to Clinic as Next Generation Medicine. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 8, 132–143. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.06.005>

21. Chand, D., Mohr, F., McMillan, H., Tukov, F. F., Montgomery, K., Kleyn, A., Sun, R., Tauscher-Wisniewski, S., Kaufmann, P., & Kullak-Ublick, G. (2021). Hepatotoxicity following administration of onasemnogene abeparvovec (AVXS-101) for the treatment of spinal muscular atrophy. *Journal of hepatology*, 74(3), 560–566.

<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.11.001>

22. Chaytow, H., Huang, Y. T., Gillingwater, T. H., & Faller, K. (2018). The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 75(21), 3877–3894. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2849-1>

<https://doi.org/10.1007/s00018-018-2849-1>

23. Chiriboga, C. A., Swoboda, K. J., Darras, B. T., Iannaccone, S. T., Montes, J., De Vivo, D. C., Norris, D. A., Bennett, C. F., & Bishop, K. M. (2016). Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology*, 86(10), 890–897. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002445>

24. Chow, V.A., Shadman, M., Gopal, A.K., 2018. Translating anti-CD19 CAR T-cell therapy into clinical practice for relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 132 (8), 777–781. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-04-839217>

25. Collins, M., & Thrasher, A. (2015). Gene therapy: progress and predictions. *Proceedings. Biological sciences*, 282(1821), 20143003. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3003>
26. Coura, R., & Nardi, N. B. (2007). The state of the art of adeno-associated virus-based vectors in gene therapy. *Virology journal*, 4, 99. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-99>
27. Dabbous, O., Maru, B., Jansen, J. P., Lorenzi, M., Cloutier, M., Guérin, A., Pivneva, I., Wu, E. Q., Arjunji, R., Feltner, D., & Sproule, D. M. (2019). Survival, Motor Function, and Motor Milestones: Comparison of AVXS-101 Relative to Nusinersen for the Treatment of Infants with Spinal Muscular Atrophy Type 1. *Advances in therapy*, 36(5), 1164–1176. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-00923-8>
28. Dangouloff, T., Boemer, F., Caberg, J. H., & Servais, L. (2020). Correspondence on: "Discrepancy in Spinal Muscular Atrophy Incidence findings in newborn screening programs: the influence of carrier screening?" by Kay et al. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 22(11), 1913–1914. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0887-1>
29. Day, J. W., Finkel, R. S., Chiriboga, C. A., Connolly, A. M., Crawford, T. O., Darras, B. T., Iannaccone, S. T., Kuntz, N. L., Peña, L., Shieh, P. B., Smith, E. C., Kwon, J. M., Zaidman, C. M., Schultz, M., Feltner, D. E., Tauscher-Wisniewski, S., Ouyang, H., Chand, D. H., Sproule, D. M., Macek, T. A., ... Mendell, J. R. (2021a). Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STRIVE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet. Neurology*, 20(4), 284–293. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00001-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00001-6)
30. Day, J. W., Finkel, R. S., Mercuri, E., Swoboda, K. J., Menier, M., van Olden, R., Tauscher-Wisniewski, S., & Mendell, J. R. (2021b). Adeno-associated virus serotype 9 antibodies in patients screened for treatment with onasemnogene abeparvovec. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, 21, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2021.02.014>
31. De Sanctis, R., Coratti, G., Pasternak, A., Montes, J., Pane, M., Mazzone, E. S., Young, S. D., Salazar, R., Quigley, J., Pera, M. C., Antonaci, L., Lapenta, L., Glanzman, A. M., Tiziano, D., Muntoni, F., Darras, B. T., De Vivo, D. C., Finkel, R., & Mercuri, E. (2016). Developmental

milestones in type I spinal muscular atrophy. *Neuromuscular disorders : NMD*, 26(11), 754–759. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2016.10.002>

32. Dias, M.F., Joo, K., Kemp, J.A., Fialho, S.L., da Silva Cunha Jr., A., Woo, S.J., Kwon, Y.J., 2018. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: basic research and clinical perspectives. *Prog. Retin. Eye Res.* 63, 107–131. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.10.004>

33. DiGiusto, D. L., Krishnan, A., Li, L., Li, H., Li, S., et al. (2010). RNA-based gene therapy for HIV with lentiviral vector-modified CD34(+) cells in patients undergoing transplantation for AIDS-related lymphoma. *Science translational medicine*, 2(36), 36ra43. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000931>

34. Dressman, D., Ahearn, M. E., Yariz, K. O., Basterrecha, H., Martínez, F., Palau, F., Barmada, M. M., Clark, R. D., Meindl, A., Wirth, B., Hoffman, E. P., & Baumbach-Reardon, L. (2007). X-linked infantile spinal muscular atrophy: clinical definition and molecular mapping. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 9(1), 52–60. <https://doi.org/10.1097/gim.0b013e31802d8353>

35. Dubowitz V. (1991). Chaos in classification of the spinal muscular atrophies of childhood. *Neuromuscular disorders : NMD*, 1(2), 77–80. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(91\)90051-s](https://doi.org/10.1016/0960-8966(91)90051-s)

36. Dubowitz V. (1999). Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, 3(2), 49–51. <https://doi.org/10.1053/ejpn.1999.0181>

37. Durkin, E. T., Schroth, M. K., Helin, M., & Shaaban, A. F. (2008). Early laparoscopic fundoplication and gastrostomy in infants with spinal muscular atrophy type I. *Journal of pediatric surgery*, 43(11), 2031–2037. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2008.05.035>

38. Finkel, R. S., Mercuri, E., Darras, B. T., Connolly, A. M., Kuntz, N. L., Kirschner, J., Chiriboga, C. A., Saito, K., Servais, L., Tizzano, E., Topaloglu, H., Tulinius, M., Montes, J., Glanzman, A. M., Bishop, K., Zhong, Z. J., Gheuens, S., Bennett, C. F., Schneider, E., Farwell, W., ... ENDEAR Study Group (2017). Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *The New England journal of medicine*, 377(18), 1723–1732. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1702752>

39. Finkel, R. S., Day, J. W., De Vivo, D. C., Kirschner, J., Mercuri, E., Muntoni, F., Shieh, P. B., Tizzano, E., Desguerre, I., Quijano-Roy, S., Saito, K., Droege, M., Dabbous, O., Khan, F., Renault, L., Anderson, F. A., & Servais, L. (2020). RESTORE: A Prospective Multinational Registry of Patients with Genetically Confirmed Spinal Muscular Atrophy - Rationale and Study Design. *Journal of neuromuscular diseases*, 7(2), 145–152. <https://doi.org/10.3233/JND-190451>
40. Haaker, G., & Fujak, A. (2013). Proximal spinal muscular atrophy: current orthopedic perspective. *The application of clinical genetics*, 6(11), 113–120. <https://doi.org/10.2147/TACG.S53615>
41. Hacein-Bey-Abina, S., Von Kalle, C., Schmidt, M., McCormack, M. P., Wulffraat, N., Leboulch, P., Lim, A., Osborne, C. S., Pawliuk, R., Morillon, E., Sorensen, R., Forster, A., Fraser, P., Cohen, J. I., de Saint Basile, G., Alexander, I., Wintergerst, U., Frebourg, T., Aurias, A., Stoppa-Lyonnet, D., ... Cavazzana-Calvo, M. (2003). LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5644), 415–419. <https://doi.org/10.1126/science.1088547>
42. Harada, Y., Rao, V. K., Arya, K., Kuntz, N. L., DiDonato, C. J., Napchan-Pomerantz, G., Agarwal, A., Stefans, V., Katsuno, M., & Veerapandiyam, A. (2020). Combination molecular therapies for type 1 spinal muscular atrophy. *Muscle & nerve*, 62(4), 550–554. <https://doi.org/10.1002/mus.27034>
43. Hoy S. M. (2017). Nusinersen: First Global Approval. *Drugs*, 77(4), 473–479. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0711-7>
44. Hua, Y., Sahashi, K., Hung, G., Rigo, F., Passini, M. A., Bennett, C. F., & Krainer, A. R. (2010). Antisense correction of SMN2 splicing in the CNS rescues necrosis in a type III SMA mouse model. *Genes & development*, 24(15), 1634–1644. <https://doi.org/10.1101/gad.1941310>
45. Farrar, M. A., & Kiernan, M. C. (2015). The Genetics of Spinal Muscular Atrophy: Progress and Challenges. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 12(2), 290–302. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0314-x>

46. Farrar, M. A., Park, S. B., Vucic, S., Carey, K. A., Turner, B. J., Gillingwater, T. H., Swoboda, K. J., & Kiernan, M. C. (2017). Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Annals of neurology*, *81*(3), 355–368. <https://doi.org/10.1002/ana.24864>
47. Finkel, R., Bertini, E., Muntoni, F., Mercuri, E., & ENMC SMA Workshop Study Group (2015). 209th ENMC International Workshop: Outcome Measures and Clinical Trial Readiness in Spinal Muscular Atrophy 7-9 November 2014, Heemskerk, The Netherlands. *Neuromuscular disorders : NMD*, *25*(7), 593–602. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2015.04.009>
48. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E., & Mello, C. C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, *391*(6669), 806–811. <https://doi.org/10.1038/35888>
49. Friedmann, T., & Roblin, R. (1972). Gene therapy for human genetic disease?. *Science (New York, N.Y.)*, *175*(4025), 949–955. <https://doi.org/10.1126/science.175.4025.949>
50. Fujak, A., Raab, W., Schuh, A., Kreß, A., Forst, R., & Forst, J. (2012). Operative treatment of scoliosis in proximal spinal muscular atrophy: results of 41 patients. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*, *132*(12), 1697–1706. <https://doi.org/10.1007/s00402-012-1610-8>
51. Gaj, T., Gersbach, C. A., & Barbas, C. F., 3rd (2013). ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in biotechnology*, *31*(7), 397–405. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>
52. Geurts, A. M., & Moreno, C. (2010). Zinc-finger nucleases: new strategies to target the rat genome. *Clinical science (London, England : 1979)*, *119*(8), 303–311. <https://doi.org/10.1042/CS20100201>
53. Giacca, M., & Zacchigna, S. (2012). Virus-mediated gene delivery for human gene therapy. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, *161*(2), 377–388. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.04.008>
54. Giesemann, T., Rathke-Hartlieb, S., Rothkegel, M., Bartsch, J. W., Buchmeier, S., Jockusch, B. M., & Jockusch, H. (1999). A role for polyproline motifs in the spinal muscular

atrophy protein SMN. Profilins bind to and colocalize with smn in nuclear gems. *The Journal of biological chemistry*, 274(53), 37908–37914. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.53.37908>

55. Ginn, S. L., Amaya, A. K., Alexander, I. E., Edelstein, M., & Abedi, M. R. (2018). Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *The journal of gene medicine*, 20(5), e3015. <https://doi.org/10.1002/jgm.3015>

56. Glascock, J., Lenz, M., Hobby, K., Jarecki, J., 2017. Cure SMA and our patient community celebrate the first approved drug for SMA. *Gene Ther.* 24 (9), 498–500. <https://doi.org/10.1038/gt.2017.39>.

57. Griesenbach, U., Pytel, K. M., & Alton, E. W. (2015). Cystic Fibrosis Gene Therapy in the UK and Elsewhere. *Human gene therapy*, 26(5), 266–275. <https://doi.org/10.1089/hum.2015.027>

58. Gulani A, Weiler T. Genetics, Autosomal Recessive. [Updated 2020 Jun 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546620/>

59. Grohmann, K., Schuelke, M., Diers, A., Hoffmann, K., et al. (2001). Mutations in the gene encoding immunoglobulin mu-binding protein 2 cause spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. *Nature genetics*, 29(1), 75–77. <https://doi.org/10.1038/ng703>

60. Hanna, E., Remuzat, C., Auquier, P., Toumi, M., 2017. Gene therapies development: Slow progress and promising prospect. *J. Mark. Access Health Policy* 5 (1), 1265293. <https://doi.org/10.1080/20016689.2017.1265293>

61. Hildt E. (2016). Human Germline Interventions-Think First. *Frontiers in genetics*, 7, 81. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00081>

62. Hoy, S.M., 2019. Onasemnogene Apeparvovec: first global approval. *Drugs* 79 (11), 1255–1262. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01162-5>

63. Iannaccone S. T. (2007). Modern management of spinal muscular atrophy. *Journal of child neurology*, 22(8), 974–978. <https://doi.org/10.1177/0883073807305670>

64. Ibraheem, D., Elaissari, A., & Fessi, H. (2014). Gene therapy and DNA delivery systems. *International journal of pharmaceuticals*, 459(1-2), 70–83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.041>
65. Jędrzejowska M. (2020). Advances in Newborn Screening and Presymptomatic Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy. *Degenerative neurological and neuromuscular disease*, 10, 39–47. <https://doi.org/10.2147/DNND.S246907>
66. Joung, J. K., & Sander, J. D. (2013). TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 14(1), 49–55. <https://doi.org/10.1038/nrm3486>
67. Kafri, T., Morgan, D., Krahl, T., Sarvetnick, N., Sherman, L., & Verma, I. (1998). Cellular immune response to adenoviral vector infected cells does not require de novo viral gene expression: implications for gene therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(19), 11377–11382. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.19.11377>
68. Kaufmann, K.B., Buning, H., Galy, A., Schambach, A., Grez, M., 2013. Gene therapy on the move. *EMBO Mol. Med.* 5 (11), 1642–1661. <https://doi.org/10.1002/emmm.201202287>
69. Keinath, M. C., Prior, D. E., & Prior, T. W. (2021). Spinal Muscular Atrophy: Mutations, Testing, and Clinical Relevance. *The application of clinical genetics*, 14, 11–25. <https://doi.org/10.2147/TACG.S239603>
70. Kekou, K., Svingou, M., Sofocleous, C., Mourtzi, N., Nitsa, E., Konstantinidis, G., Youroukos, S., Skiadas, K., Katsalouli, M., Pons, R., Papavasiliou, A., Kotsalis, C., Pavlou, E., Evangelidou, A., Katsarou, E., Voudris, K., Dinopoulos, A., Vorgia, P., Niotakis, G., Diamantopoulos, N., ... Traeger-Synodinos, J. (2020). Evaluation of Genotypes and Epidemiology of Spinal Muscular Atrophy in Greece: A Nationwide Study Spanning 24 Years. *Journal of neuromuscular diseases*, 7(3), 247–256. <https://doi.org/10.3233/JND-190466>
71. Kinali, M., Banks, L. M., Mercuri, E., Manzur, A. Y., & Muntoni, F. (2004). Bone mineral density in a paediatric spinal muscular atrophy population. *Neuropediatrics*, 35(6), 325–328. <https://doi.org/10.1055/s-2004-830366>

72. Kolb, S. J., & Kissel, J. T. (2015). Spinal Muscular Atrophy. *Neurologic clinics*, 33(4), 831–846. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2015.07.004>
73. Kolb, S. J., Coffey, C. S., Yankey, J. W., Krosschell, K., et al ... NeuroNEXT Clinical Trial Network on behalf of the NN101 SMA Biomarker Investigators (2017). Natural history of infantile-onset spinal muscular atrophy. *Annals of neurology*, 82(6), 883–891. <https://doi.org/10.1002/ana.25101>
74. Korinthenberg R. (2019). A new era in the management of Duchenne muscular dystrophy. *Developmental medicine and child neurology*, 61(3), 292–297. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14129>
75. KUGELBERG, E., & WELANDER, L. (1956). Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy. *A.M.A. archives of neurology and psychiatry*, 75(5),500–509. <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1956.02330230050005>
76. La Spada, A. R., Wilson, E. M., Lubahn, D. B., Harding, A. E., & Fischbeck, K. H. (1991). Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, 352(6330), 77–79. <https://doi.org/10.1038/352077a0>
77. Lefebvre, S., Bürglen, L., Reboullet, S., Clermont, O., Burlet, P., Viollet, L., Benichou, B., Cruaud, C., Millasseau, P., & Zeviani, M. (1995). Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*, 80(1), 155–165. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90460-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90460-3)
78. Lefebvre, S., Burlet, P., Liu, Q., Bertrand, S., Clermont, O., Munnich, A., Dreyfuss, G., & Melki, J. (1997). Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nature genetics*, 16(3), 265–269. <https://doi.org/10.1038/ng0797-265>
79. Lefebvre, S., Bürglen, L., Frézal, J., Munnich, A., Melki, J. The Role of the *SMN* Gene in Proximal Spinal Muscular Atrophy, *Human Molecular Genetics*, Volume 7, Issue 10, September 1998, Pages 1531–1536, <https://doi.org/10.1093/hmg/7.10.1531>
80. Liu, Q., & Dreyfuss, G. (1996). A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *The EMBO journal*, 15(14), 3555–3565.

81. Li, B., Gao, N., Zhang, Z., Chen, Q. M., Li, L. J., & Li, Y. (2017). Historical and Clinical Experiences of Gene Therapy for Solid Cancers in China. *Genes*, 8(3), 85. <https://doi.org/10.3390/genes8030085>
82. Li, D. K., Tisdale, S., Lotti, F., & Pellizzoni, L. (2014). SMN control of RNP assembly: from post-transcriptional gene regulation to motor neuron disease. *Seminars in cell & developmental biology*, 32, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.04.026>
83. Li Q. (2020). Nusinersen as a Therapeutic Agent for Spinal Muscular Atrophy. *Yonsei medical journal*, 61(4), 273–283. <https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.4.273>
84. Lowes, L. P., Alfano, L. N., Arnold, W. D., Shell, R., Prior, T. W., McColly, M., Lehman, K. J., Church, K., Sproule, D. M., Nagendran, S., Menier, M., Feltner, D. E., Wells, C., Kissel, J. T., Al-Zaidy, S., & Mendell, J. (2019). Impact of Age and Motor Function in a Phase 1/2A Study of Infants With SMA Type 1 Receiving Single-Dose Gene Replacement Therapy. *Pediatric neurology*, 98, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2019.05.005>
85. Lunn, M. R., & Wang, C. H. (2008). Spinal muscular atrophy. *Lancet (London, England)*, 371(9630), 2120–2133. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60921-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60921-6)
86. Mahajan R. (2019). Onasemnogene Apeparovvec for Spinal Muscular Atrophy: The Costlier Drug Ever. *International journal of applied & basic medical research*, 9(3), 127–128. https://doi.org/10.4103/ijabmr.IJABMR_190_19
87. Manoli, I., & Fryssira, H. (2015). Medical genetics and genomic medicine in Greece: achievements and challenges. *Molecular genetics & genomic medicine*, 3(5), 383–390. <https://doi.org/10.1002/mgg3.179>
88. Markström, A., Cohen, G., & Katz-Salamon, M. (2010). The effect of long term ventilatory support on hemodynamics in children with spinal muscle atrophy (SMA) type II. *Sleep medicine*, 11(2), 201–204. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2009.08.014>
89. Martinez-Salas, E., Embarc-Buh, A., & Francisco-Velilla, R. (2020). Emerging Roles of Gemin5: From snRNPs Assembly to Translation Control. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 3868. <https://doi.org/10.3390/ijms21113868>

90. Ma, C. C., Wang, Z. L., Xu, T., He, Z. Y., & Wei, Y. Q. (2020). The approved gene therapy drugs worldwide: from 1998 to 2019. *Biotechnology advances*, *40*, 107502. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107502>
91. Mendell, J. R., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W. D., Rodino-Klapac, L. R., Prior, T. W., Lowes, L., Alfano, L., Berry, K., Church, K., Kissel, J. T., Nagendran, S., L'Italien, J., Sproule, D. M., Wells, C., Cardenas, J. A., Heitzer, M. D., Kaspar, A., Corcoran, S., Braun, L., ... Kaspar, B. K. (2017). Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *The New England journal of medicine*, *377*(18), 1713–1722. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
92. Menon, T., Firth, A. L., Scripture-Adams, D. D., Galic, Z., Qualls, S. J., Gilmore, W. B., Ke, E., Singer, O., Anderson, L. S., Bornzin, A. R., Alexander, I. E., Zack, J. A., & Verma, I. M. (2015). Lymphoid regeneration from gene-corrected SCID-X1 subject-derived iPSCs. *Cell stem cell*, *16*(4), 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.02.005>
93. Messina, S., & Sframeli, M. (2020). New Treatments in Spinal Muscular Atrophy: Positive Results and New Challenges. *Journal of clinical medicine*, *9*(7), 2222. <https://doi.org/10.3390/jcm9072222>
94. Monani, U. R., Lorson, C. L., Parsons, D. W., Prior, T. W., Androphy, E. J., Burghes, A. H., & McPherson, J. D. (1999). A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. *Human molecular genetics*, *8*(7), 1177–1183. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.7.1177>
95. Monani U. R. (2005). Spinal muscular atrophy: a deficiency in a ubiquitous protein; a motor neuron-specific disease. *Neuron*, *48*(6), 885–896. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.12.001>
96. Mulcahy, P. J., Iremonger, K., Karyka, E., Herranz-Martín, S., Shum, K. T., Tam, J. K., & Azzouz, M. (2014). Gene therapy: a promising approach to treating spinal muscular atrophy. *Human gene therapy*, *25*(7), 575–586. <https://doi.org/10.1089/hum.2013.186>
97. Munsat, T. L., & Davies, K. E. (1992). International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscular disorders : NMD*, *2*(5-6), 423–428. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(06\)80015-5](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(06)80015-5)

98. Namavar, Y., Barth, P. G., Kasher, P. R., van Ruissen, F., et al. (2011). Clinical, neuroradiological and genetic findings in pontocerebellar hypoplasia. *Brain: a journal of neurology*, 134 (Pt 1), 143–156. <https://doi.org/10.1093/brain/awq287>
99. Nash, L. A., Burns, J. K., Chardon, J. W., Kothary, R., & Parks, R. J. (2016). Spinal Muscular Atrophy: More than a Disease of Motor Neurons?. *Current molecular medicine*, 16(9), 779–792. <https://doi.org/10.2174/1566524016666161128113338>
100. Nathwani, A. C., Reiss, U. M., Tuddenham, E. G., Rosales, C., Chowdary, P., McIntosh, J., et al. (2014). Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *The New England journal of medicine*, 371(21), 1994–2004. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1407309>
101. Niba, E., Nishio, H., Wijaya, Y., Lai, P. S., Tozawa, T., Chiyonobu, T., Yamadera, M., Okamoto, K., Awano, H., Takeshima, Y., Saito, T., & Shinohara, M. (2021). Clinical phenotypes of spinal muscular atrophy patients with hybrid SMN gene. *Brain & development*, 43(2), 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2020.09.005>
102. Nlend Nlend, R., Meyer, K., & Schümperli, D. (2010). Repair of pre-mRNA splicing: prospects for a therapy for spinal muscular atrophy. *RNA biology*, 7(4), 430–440. <https://doi.org/10.4161/rna.7.4.12206>
103. Nóbrega C., Mendonça L., Matos C.A. (2020) Gene and Cell Therapy. In: A Handbook of Gene and Cell Therapy. (pp 1-22) Springer, Cham.
104. O'Neal, W. K., Zhou, H., Morral, N., Langston, C., Parks, R. J., Graham, F. L., Kochanek, S., & Beaudet, A. L. (2000). Toxicity associated with repeated administration of first-generation adenovirus vectors does not occur with a helper-dependent vector. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 6(3), 179–195.
105. Ottesen, E., Howell, M., Singh, N. *et al.* Severe impairment of male reproductive organ development in a low SMN expressing mouse model of spinal muscular atrophy. *Sci Rep* 6, 20193 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep20193>
106. Ottesen E. W. (2017). ISS-N1 makes the First FDA-approved Drug for Spinal Muscular Atrophy. *Translational neuroscience*, 8, 1–6. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2017-0001>

107. Ott, P.A., Hodi, F.S., 2016. Talimogene Laherparepvec for the treatment of advanced melanoma. *Clin. Cancer Res.* 22 (13), 3127–3131. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2709>
108. Pandey, P., Balekar, N., (2018). Chapter 4 - Target-specific delivery: An insight. In A.M. Grumezescu (Ed.) *Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems* (pp 117-154) William A.
109. Patil, S. D., Rhodes, D. G., & Burgess, D. J. (2005). DNA-based therapeutics and DNA delivery systems: a comprehensive review. *The AAPS journal*, 7(1), E61–E77. <https://doi.org/10.1208/aapsj070109>
110. Pearson, S., Jia, H., & Kandachi, K. (2004). China approves first gene therapy. *Nature biotechnology*, 22(1), 3–4. <https://doi.org/10.1038/nbt0104-3>
111. Prior TW, Leach ME, Finanger E. Spinal Muscular Atrophy. 2000 Feb 24 [Updated 2020 Dec 3]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1352/>
112. Prior, T. W., & Nagan, N. (2016). Spinal Muscular Atrophy: Overview of Molecular Diagnostic Approaches. *Current protocols in human genetics*, 88, 9.27.1–9.27.13. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0927s88>
113. Ran, F. A., Hsu, P. D., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D. A., & Zhang, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature protocols*, 8(11), 2281–2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>
114. Ratko, T. A., Cummings, J. P., Blebea, J., & Matuszewski, K. A. (2003). Clinical gene therapy for nonmalignant disease. *The American journal of medicine*, 115(7), 560–569. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(03\)00447-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(03)00447-9)
115. Ribeil, J. A., Hacein-Bey-Abina, S., Payen, E., Magnani, A., Semeraro, M., Magrin, E., et al. (2017). Gene Therapy in a Patient with Sickle Cell Disease. *The New England journal of medicine*, 376(9), 848–855. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609677>

116. Rodillo, E., Marini, M. L., Heckmatt, J. Z., & Dubowitz, V. (1989). Scoliosis in spinal muscular atrophy: review of 63 cases. *Journal of child neurology*, *4*(2), 118–123. <https://doi.org/10.1177/088307388900400208>
117. Rodríguez-García, M. E., Cotrina-Vinagre, F. J., Bellusci, M., Merino-López, A., Chumilla-Calzada, S., García-Silva, M. T., & Martínez-Azorín, F. (2021). New subtype of PCH1C caused by novel EXOSC8 variants in a 16-year-old Spanish patient. *Neuromuscular disorders* : NMD, S0960-8966(21)00133-4. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2021.05.008>
118. Rogers, S., & Pfuderer, P. (1968). Use of viruses as carriers of added genetic information. *Nature*, *219*(5155), 749–751. <https://doi.org/10.1038/219749a0>
119. Roper, H., Quinlivan, R., & Workshop Participants (2010). Implementation of "the consensus statement for the standard of care in spinal muscular atrophy" when applied to infants with severe type 1 SMA in the UK. *Archives of disease in childhood*, *95*(10), 845–849. <https://doi.org/10.1136/adc.2009.166512>
120. Rosenberg, Leon E., Rosenberg, Diane D. , (2012) Detection and Treatment of Genetic Disorders. In Leon.E. Rosenberg. , Diane. D Rosenberg (Eds) *Human Genes and Genomes* (pp. 289-314). Academic Press.
121. Schroth M. K. (2009). Special considerations in the respiratory management of spinal muscular atrophy. *Pediatrics*, *123 Suppl 4*, S245–S249. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-2952K>
122. Selenko, P., Sprangers, R., Stier, G., Bühler, D., Fischer, U., & Sattler, M. (2001). SMN tudor domain structure and its interaction with the Sm proteins. *Nature structural biology*, *8*(1), 27–31. <https://doi.org/10.1038/83014>
123. Sheng-Yuan, Z., Xiong, F., Chen, Y. J., Yan, T. Z., Zeng, J., Li, L., Zhang, Y. N., Chen, W. Q., Bao, X. H., Zhang, C., & Xu, X. M. (2010). Molecular characterization of SMN copy number derived from carrier screening and from core families with SMA in a Chinese population. *European journal of human genetics* : *EJHG*, *18*(9), 978–984. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2010.54>

124. Singh, R. N., & Singh, N. N. (2018). Mechanism of Splicing Regulation of Spinal Muscular Atrophy Genes. *Advances in neurobiology*, 20, 31–61. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89689-2_2
125. Singh, R. N., Ottesen, E. W., & Singh, N. N. (2020). The First Orally Deliverable Small Molecule for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *Neuroscience insights*, 15, 2633105520973985. <https://doi.org/10.1177/2633105520973985>
126. Somia, N., & Verma, I. M. (2000). Gene therapy: trials and tribulations. *Nature reviews. Genetics*, 1(2), 91–99. <https://doi.org/10.1038/35038533>
127. Sproule, D. M., Montes, J., Montgomery, M., Battista, V., Koenigsberger, D., Shen, W., Punyanitya, M., De Vivo, D. C., & Kaufmann, P. (2009). Increased fat mass and high incidence of overweight despite low body mass index in patients with spinal muscular atrophy. *Neuromuscular disorders: NMD*, 19(6), 391–396. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2009.03.009>
128. Stevens, D., Claborn, M. K., Gildon, B. L., Kessler, T. L., & Walker, C. (2020). Onasemnogene Apeparvovec-xioi: Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *The Annals of pharmacotherapy*, 54(10), 1001–1009. <https://doi.org/10.1177/1060028020914274>
129. Stolberg S. G. (1999). The biotech death of Jesse Gelsinger. *The New York times magazine*, 136–150.
130. Talbot, K., & Tizzano, E. F. (2017). The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era. *Gene therapy*, 24(9), 529–533. <https://doi.org/10.1038/gt.2017.52>
131. Tatum E. L. (1966). Molecular biology, nucleic acids, and the future of medicine. *Perspectives in biology and medicine*, 10(1), 19–32. <https://doi.org/10.1353/pbm.1966.0027>
132. Thirunavukkarasu, B., Gupta, K., Bansal, A., Dhanasekaran, N., & Baranwal, A. (2020). Spinal Muscular Atrophy: Autopsy Based Neuropathological Demonstration. *Neurology India*, 68(4), 882–885. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.293477>

133. Tisdale, S., & Pellizzoni, L. (2015). Disease mechanisms and therapeutic approaches in spinal muscular atrophy. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(23), 8691–8700. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0417-15.2015>
134. Töpf, A., Pyle, A., Griffin, H., Matalonga, L., Schon, K., Solve-RD SNV-indel working group, Solve-RD DITF-euroNMD, Sickmann, A., Schara-Schmidt, U., Hentschel, A., Chinnery, P. F., Kölbel, H., Roos, A., & Horvath, R. (2021). Exome reanalysis and proteomic profiling identified TRIP4 as a novel cause of cerebellar hypoplasia and spinal muscular atrophy (PCH1). *European journal of human genetics : EJHG*, 10.1038/s41431-021-00851-8. Advance online publication. <https://doi.org/10.1038/s41431-021-00851-8>
135. Valori, C. F., Ning, K., Wyles, M., Mead, R. J., Grierson, A. J., Shaw, P. J., & Azzouz, M. (2010). Systemic delivery of scAAV9 expressing SMN prolongs survival in a model of spinal muscular atrophy. *Science translational medicine*, 2(35), 35ra42. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000830>
136. Van Meerbeke, J. P., & Sumner, C. J. (2011). Progress and promise: the current status of spinal muscular atrophy therapeutics. *Discovery medicine*, 12(65), 291–305.
137. Vijzelaar, R., Snetselaar, R., Clausen, M., Mason, A. G., Rinsma, M., Zegers, M., Molleman, N., Boschloo, R., Yilmaz, R., Kuilboer, R., Lens, S., Sulchan, S., & Schouten, J. (2019). The frequency of SMN gene variants lacking exon 7 and 8 is highly population dependent. *PloS one*, 14(7), e0220211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220211>
138. Wadman, R. I., Stam, M., Gijzen, M., Lemmink, H. H., Snoeck, I. N., Wijngaarde, C. A., Braun, K. P., Schoenmakers, M. A., van den Berg, L. H., Dooijes, D., & van der Pol, W. L. (2017). Association of motor milestones, SMN2 copy and outcome in spinal muscular atrophy types 0-4. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 88(4), 365–367. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-314292>
139. Wang, C. H., Finkel, R. S., Bertini, E. S., Schroth, M., Simonds, A., Wong, B., Aloysius, A., Morrison, L., Main, M., Crawford, T. O., Trela, A., & Participants of the International Conference on SMA Standard of Care (2007). Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *Journal of child neurology*, 22(8), 1027–1049. <https://doi.org/10.1177/0883073807305788>

140. Wang, D., & Gao, G. (2014). State-of-the-art human gene therapy: part II. Gene therapy strategies and clinical applications. *Discovery medicine*, 18(98), 151–161.
141. Wirth, B., Schmidt, T., Hahnen, E., Rudnik-Schöneborn, S., Krawczak, M., Müller-Myhsok, B., Schönling, J., & Zerres, K. (1997). De novo rearrangements found in 2% of index patients with spinal muscular atrophy: mutational mechanisms, parental origin, mutation rate, and implications for genetic counseling. *American journal of human genetics*, 61(5), 1102–1111. <https://doi.org/10.1086/301608>
142. Wirth, B., Karakaya, M., Kye, M. J., & Mendoza-Ferreira, N. (2020). Twenty-Five Years of Spinal Muscular Atrophy Research: From Phenotype to Genotype to Therapy, and What Comes Next. *Annual review of genomics and human genetics*, 21, 231–261. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-102319-103602>
143. Wirth, T., Parker, N., & Ylä-Herttuala, S. (2013). History of gene therapy. *Gene*, 525(2), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>
144. Yip, A., Webster, R.M., 2018. The market for chimeric antigen receptor T cell therapies. *Nat. Rev. Drug Discov.* 17 (3), 161–162. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.266> .
145. Ylä-Herttuala S. (2012). Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European union. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 20(10), 1831–1832. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.194>
146. Ziccardi, L., Cordeddu, V., Gaddini, L., Matteucci, A., Parravano, M., Malchiodi-Albedi, F., & Varano, M. (2019). Gene Therapy in Retinal Dystrophies. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5722. <https://doi.org/10.3390/ijms20225722>

Ελληνόγλωσση Βιβλιογραφία

1. Breza, Marianthi & Koutsis, Georgios & Kladi, Athina & Karadima, Georgia & Panas, Marios. (2017). Μελέτη της προμηκονωτιαίας μυϊκής ατροφίας (νόσος του Kennedy) στον ελληνικό πληθυσμό / Spinobulbar muscular atrophy (Kennedy's disease) in the Greek population. *Archives of Hellenic Medicine*. 34. 383-389.
2. Read Andrew., Donnai Dian. (2010). Τι κάνουν οι μεταλλάξεις. Στο Ε. Καναβάκης., Σοφία Κίτσου – Τζέλη (Επιμ.), *Σύγχρονη Κλινική Γενετική*, Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδης. (σ.σ 150).

3. Τσιώλης Γ: Δευτερογενής ανάλυση ποιοτικών δεδομένων: μια ερευνητική στρατηγική συμβατή με την ποιοτική προσέγγιση; Στο Γ. Τσιώλης, Ν. Σερντεδάκης, Γ. Κάλλας (επιμ): Ερευνητικές Υποδομές και Δεδομένα στην Εμπειρική Κοινωνική Έρευνα. Ζητήματα καταγραφής, τεκμηρίωσης και ανάλυσης κοινωνικών δεδομένων. Αθήνα: Εκδόσεις Νήσος. 2011. Σελ. 129-159.

Σύνδεσμοι:

1. EMA: “*Spinraza (nusinersen)*”. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spinraza> . (Accessed on 28th January 2021, πρόσβαση 28/01/2021).
2. EMA: “*Nusinersen prescribing information*”. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_en.pdf, (Accessed on 25th January 2021, πρόσβαση 25/01/2021).
- 3.EMA: “*Onasemnogene Apeparvove prescribing information*”. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolgensma-epar-product-information_en.pdf (Accessed on 25th January 2021, πρόσβαση 25/01/2021).
1. FDA: “*FDA approves first drug for spinal muscular atrophy. FDA new release, 2016*”: Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-drug-spinal-muscular-atrophy>. (Accessed on 25th January 2021, πρόσβαση 25/01/2021).
2. FDA: “*US Food and Drug Administration. FDA News Release – FDA Approves Innovative Gene Therapy to Treat Pediatric Patients with Spinal Muscular Atrophy, a Rare Disease and Leading Genetic Cause of Infant Mortality. US Food and Drug Administration*”. 2019. May 24, Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-innovative-gene-therapy-treat-pediatric-patients-spinal-muscular-atrophy-rare-disease> (Accessed on 10th February 2021, πρόσβαση 10/02/2021).
3. FDA: “*Onasemnogene Apeparvove prescribing information*”. (Available from: https://www.fda.gov/media/126109/downloaduary_2021). (Accessed on 29th January 2021, πρόσβαση 29/01/2021).
4. FDA: “*FDA Approves Oral Treatment for Spinal Muscular Atrophy. FDA new release*”, August 07, 2020. (Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-oral-treatment-spinal-muscular-atrophy> (Accessed on 29th January 2021, πρόσβαση 29/01/2021).

5. FDA: FDA, 2020. “What is Gene Therapy?” Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy> (Accessed on 25th October 2020, πρόσβαση 25/10/2020).

Genentech: “FD25A Approves Genentech’s Evrysdi (risdiplam) for Treatment of Spinal Muscular Atrophy (sma) in Adults and Children 2 Months and Older”, August 07, 2020A: <https://www.gene.com/media/press-releases/14866/2020-08-07/fda-approves-genentechs-evrysdi-risdipla> .(Accessed on 2nd February 2021, πρόσβαση 2/02/2021).

1. NOVARTIS: “AveXis receives FDA approval for Zolgensma®, the first and only gene therapy for pediatric patients with spinal muscular atrophy (SMA)”. Available from:

<https://www.novartis.com/news/media-releases/avexis-receives-fda-approval-zolgensma-first-and-only-gene-therapy-pediatric-patients-spinal-muscular-atrophy-sma> (Accessed on 10th February 2021, πρόσβαση 10/02/2021).

2. NOVARTIS: “AveXis receives EC approval and activates “Day One” access program for Zolgensma®, the only gene therapy for spinal muscular atrophy (SMA)”. Available from: <https://www.novartis.com/news/media-releases/avexis-receives-ec-approval-and-activates-%22day-one%22-access-program-zolgensma-only-gene-therapy-spinal-muscular-atrophy-sma> (Accessed on 10th February 2021, πρόσβαση 10/02/2021).

3. NOVARTIS: “New Zolgensma data demonstrate age-appropriate development when used early, real-world benefit in older children and durability 5+ years post-treatment”. Available from:

<https://www.novartis.com/news/media-releases/new-zolgensma-data-demonstrate-age-appropriate-development-when-used-early-real-world-benefit-older-children-and-durability-5-years-post-treatment> (Accessed on 28th March 2021, πρόσβαση 28/03/2021).

4. NOVARTIS: “Zolgensma® data including patients with more severe SMA at baseline further demonstrate therapeutic benefit, including prolonged event-free survival, increased motor function and milestone achievement”. <https://www.novartis.com/news/media-releases/zolgensma-data-including-patients-more-severe-sma-baseline-further-demonstrate-therapeutic-benefit-including-prolonged-event-free-survival-increased-motor> (Accessed on 26th March 2021, πρόσβαση 26/03/2021).

Nusinersen prescribing information: <https://www.spinraza.com/PI>. (Accessed on 25th January 2021, πρόσβαση 25/01/2021).

Roche Press Release 07/04/2020: Roche Provides Regulatory Update on Risdiplam for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA). Available online: <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2020-04-07.htm> (Accessed on 29th January 2021, πρόσβαση 29/01/2021).

<https://genome.ucsc.edu/> (Accessed on 23rd December 2020, πρόσβαση 23/12/20).

<https://www.curesma.org/carriers-of-sma/> (Accessed on 10th January 2021, πρόσβαση 10/01/2021).

<https://smanewstoday.com/news-posts/2019/09/19/higher-doses-of-spinraza-to-be-tested-in-new-phase-2-3-trial/> (Accessed on 25th January 2021, πρόσβαση 25/01/2021).

<https://smanewstoday.com/faqs/2020/08/07/faqs-about-evrysdi-risdiplam/> (Accessed on 2nd February 2021, πρόσβαση 2/02/2021).

<https://www.fiercepharma.com/pharma/novartis-cites-transformative-data-zolgensma-as-it-rolls-out-sma-gene-therapy-europe> (Accessed on 10th February 2021, πρόσβαση 10/02/2021).

<https://www.sma-screening-alliance.org/map/>. (Accessed on 3rd May 2021, πρόσβαση 3/05/2021).

<https://www.sma-europe.eu/opening-a-new-horizon-for-children-born-with-sma/> (Accessed on 4th May 2021, πρόσβαση 4/05/2021).

<https://www.curesma.org/newborn-screening-for-sma/>. (Accessed on 5th May 2021, πρόσβαση 05/05/2021).

<https://www.curesma.org/newborn-screening-for-sma/> (Accessed on 5th May 2021, πρόσβαση 05/05/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02122952> (Accessed on 10th April 2021, πρόσβαση 10/04/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03421977> (Accessed on 22nd April 2021, πρόσβαση 22/05/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03306277> (Accessed on 25th April 2021, πρόσβαση 25/04/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03461289> (Accessed on 2nd March 2021, πρόσβαση 2/03/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03505099> (Accessed on 10th March 2021, πρόσβαση 10/05/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03381729?term=ZOLGENSMA&cond=SMA&draw=2> (Accessed on 15th April 2021, πρόσβαση 15/05/2021, πρόσβαση 15/4/2021).

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04488133> (Accessed on 29th July 2021, πρόσβαση 29/7/2021).