

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

DANIELA KUBÍKOVÁ

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Spinální muskulární atrofie

Daniela Kubíková

Bakalářská práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Daniela Kubíková**
Osobní číslo: **C18249**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Spinální muskulární atrofie**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Charakterizovat spinální muskulární atrofii a uvést klasifikaci.
2. Vysvětlit podstatu onemocnění včetně genetického hlediska.
3. Popsat metody možné léčby a moderních přístupů.
4. Shrnout diagnostiku, kazuistiku a nastínit statistické hledisko onemocnění.
5. Probíhající klinické studie.
6. Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem „**Spinální muskulární atrofie**“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14.7.2021

Daniela Kubíková v.r.

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala mé vedoucí bakalářské práce paní Mgr. Lucii Stříbrné Ph.D. za odborné vedení, ochotu, cenné rady a připomínky při vypracování mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině a příteli za podporu během mého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá nervosvalovou chorobou, konkrétně spinální muskulární atrofií. Jedná se o autosomálně recesivní onemocnění, které postihuje alfa motoneurony předních rohů míšních, což se následně projeví svalovou atrofií. Práce popisuje základní charakteristiku a klasifikaci onemocnění, diagnostiku, možnosti léčby a probíhající klinické studie, které jsou především zaměřeny na léčbu spinální muskulární atrofie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Spinální svalová atrofie, genetika, terapie, diagnostika, klinické studie

TITLE

Spinal muscular atrophy

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with neuromuscular disease, spinal muscular atrophy. It is an autosomal recessive disease that affects the alpha motoneurons of the anterior horns of the spinal cord, which is subsequently manifested by muscle atrophy. The work describes the basic characteristics and classification of the disease, diagnosis, treatment options and ongoing clinical studies, which are mainly focused on the treatment of spinal muscular atrophy.

KEYWORDS

Spinal muscular atrophy, genetics, therapy, diagnostics, clinical study

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
TERMINOLOGIE.....	13
ÚVOD.....	15
1 SPINÁLNÍ MUSKULÁRNÍ ATROFIE	16
1.1 Historie.....	16
1.2 Charakteristika onemocnění.....	17
1.3 Genetické hledisko.....	18
1.3.1 Geny a chromozómy	18
1.3.2 Autosomálně recesivní onemocnění	20
1.3.3 Spinální muskulární atrofie a genetika	21
1.4 Klasifikace spinální muskulární atrofie	22
1.4.1 SMA I. typu – (Werdnig-Hoffmann syndrom I) akutní infantilní forma	22
1.4.2 SMA II. typu – (Dubowitzova choroba) chronická infantilní forma.....	23
1.4.3 SMA III. typu – (Kugelberg-Welanderové syndrom) juvenilní forma.....	24
1.4.4 SMA IV. typu – (Aran-Duchenne syndrom) adultní forma.....	24
1.4.5 SMA typu 0 – prenatální forma	24
2 ONEMOCNĚNÍ VÁZANÉ NA SMN GEN.....	25
2.1 Geny SMN1 a SMN2.....	25
2.2 Survival Motor Neuron Protein.....	25
3 MOŽNOSTI LÉČBY.....	28
3.1 Farmakoterapie.....	28
3.2 Genová terapie	30
3.2.1 Genová terapie obecně.....	30
3.2.2 Genová substituční terapie spinální muskulární atrofie.....	31

3.3	Rehabilitace.....	34
3.4	Respirační fyzioterapie	35
4	DIAGNOSTIKA, KAZUISTIKA, STATISTIKA	36
4.1	Diagnostika spinální muskulární atrofie	36
4.1.1	Novorozenecký screening (NBS) na spinální muskulární atrofii	36
4.1.2	Základní diagnostika.....	37
4.1.3	Genetické vyšetření.....	37
4.1.4	Prenatální diagnostika.....	39
4.2	Kazuistika.....	40
4.3	Statistické hledisko	44
5	KLINICKÉ STUDIE.....	45
5.1	Studie aktivní léčby SRK-015 (Apitegromab) u pacientů se SMA typu II nebo III (TOPAZ)	45
5.2	Otevřená studie LMI070 (Branaplam) u SMA typu I.....	46
5.3	Studie Risdiplam u kojenců s geneticky diagnostikovanou a presymptomatickou SMA (Rainbowfish).....	46
5.4	Studie Nusinersenu mezi účastníky se SMA, kteří dostávali onasemnogen Abeparvovec (RESPOND)	47
6	ZÁVĚR	48
7	CITOVANÁ LITERATURA.....	50
8	ZDROJE OBRÁZKŮ	58
9	ZDROJE TABULEK.....	59

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1 – Schéma SMN genu [1].....	17
Obrázek 2 – Geny, chromozómy a DNA [2].....	19
Obrázek 3 – Karyotyp zdravého muže – 46, XY: 46 chromozómů, 22 párů nepohlavních chromozómů a pohlavní chromozómy X a Y [3]	19
Obrázek 4 – Rodokmen-Autosomálně recesivní dědičnost [4].....	20
Obrázek 5 – Jak jsou recesivní geny předávány z rodičů na děti [5].	21
Obrázek 6 – SMN protein [6].....	26
Obrázek 7 – Komplex SMN. Schematické znázornění komplexu SMN. Gemin 2, 3, 5 a 7 se vážou přímo na SMN protein, zatímco Gemin 4 a 6 jsou spojeny přímou interakcí s Gemin 3 a 7. Pro zjednodušení je komplex SMN ilustrován jako dimer, i když ve skutečnosti se s největší pravděpodobností jedná o oligomerní strukturu [7].	27
Obrázek 8 – Rodokmen rodiny s onemocněním SMA, vyjádření pravděpodobnosti nosičství mutace genu v procentech [8]......	38
Tabulka 1 – Přehled léků pro léčbu SMA.	33
Tabulka 2 – Hodnocení vyšetření SMA metodou MLPA.	39

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ALS	Amyotrophic lateral sclerosis	Amyotrofická laterální skleróza
AR	autosomal recessive	autosomálně recesivní
ASO	antisense oligonucleotide	antisense oligonukleotidové léky
CB	Cajal bodies	Cajalova těla
CK	creatine kinase	kreatinkináza
CNS	central nervous system	centrální nervový systém
DMD	Duchenn muscular dystrophy	Duchennova muskulární dystrofie
DNA	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
EMG	electromyography	elektromyografie
IVF	<i>in vitro</i> fertilization	<i>in vitro</i> fertilizace
MIV		mechanický invalidní vozík
MLPA	multiplex ligation-dependence probe amplification	metoda MPLA
MSK	musculoskeletal	musculoskeletární
NAIP gen	neuronal apoptosis inhibitory protein gene	gen kódující neuronální protein inhibující apoptózu
NBS	newborn screening	novorozenecký screening
PBA	phenylbutyric acid	fenylbutyrát sodný
PCOS	polycystic ovarian syndrome	syndrom polycystických vaječníků
PCR	polymerase chain reaction	polymerázová řetězová reakce
pre-mRNA	pre-messenger RNA	prekurzorová mediátorová RNA

RL	reflex locomotion	reflexní lokomoce
RNA	ribonucleic acid	ribonukleová kyselina
SMA	Spinal muscular atrophy	Spinální muskulární atrofie
SMN gen	survival motor neuron gene	gen pro „přežití“ motoneuronu
SMN protein	survival motor neuron protein	protein pro „přežití“ motoneuronu
snRNA	small nuclear RNA	malá jaderná RNA
snoRNA	small nucleolar RNA	malá jadéřková RNA
snRNP	small nuclear ribonucleoprotein	malý jaderný ribonukleoprotein
TGF	transforming growth factor	transformující růstový faktor
VPA	valproic acid	valproát sodný

TERMINOLOGIE

Alela: jedna z konkrétních forem genu

Autozóm: nepohlavní chromozóm – u člověka vyskytující se v počtu 22 párů chromozómů

Delece: druh chromozomální mutace, při níž chybí část chromozómu včetně příslušných genů na ní uložených

Dynein: protein schopný pohybu podél mikrotubulů, zajišťuje transport některých látek a organel uvnitř buňky

Diplegie obličeje: oboustranná periferní obrna mimického svalstva

Exon: oblast eukaryotního genu přepisována do mRNA, která obsahuje sekvence skutečně kódující proteiny

Fascikulace: samovolné záškuby svalových vláken, které nejsou vůlí ovlivnitelné

Fenotyp: pozorovatelný vzhled či vlastnost jedince, který je výsledkem jeho dědičných vloh genotypu a působení prostředí

Genotyp: soubor všech dědičných vloh jedince uložených v genech.

Genom: veškerá genetická informace uložená v DNA

Gonozóm: pohlavní chromozóm – u člověka 1 pár chromozómů

Hypotonie: patologicky snížené svalové napětí

Insuficience: Neschopnost orgánu či orgánového systému plnit základní funkce.

Intratekální podání: injekce se provádí obvykle jako lumbální punkce v bederní oblasti páteře

Kontraktura kloubu: trvalé ztuhnutí kloubu a ztráta pohyblivosti

Kvadruparéza: částečné ochrnutí všech čtyř končetin

Kyfoskolióza: abnormální zakřivení páteře do strany a dozadu

Intron: je oblast eukaryotního genu přepisovaná do mRNA, která neobsahuje kódující proteiny

Marker: znak, který je typický pro určité buňky a jehož prokázáním lze tyto buňky v těle odhalit

Mutace: změna genetické informace na úrovni DNA týkající se buď genů, nebo celých chromozómů

Osteoporóza: chronické onemocnění, které se projevuje úbytkem kostní hmoty

Splicing: děj probíhající v buněčném jádře při transkripci DNA do mRNA

Svalová atrofie: úbytek svalové hmoty

Transkripce: přepis genetické informace z DNA do RNA

Tudor doména: centrální úsek SMN proteinu, který se účastní shromažďování spliceozomů, což jsou komplexy bílkovin a RNA v jádře eukaryotických buněk, které realizují sestřih RNA

Ubikvitin: malý protein, který se kovalentně váže na nadbytečné či poškozené proteiny neboli ubikvitinace. Určené k intracelulárnímu odbourání.

Ventilační insuficience: selhávání dechových funkcí, při němž dýchací ústrojí není schopno zabezpečit dostatečnou výměnu plynů [22, 63]

ÚVOD

Spinální muskulární atrofie (SMA) je kauzálně nevléčitelné neuromuskulární onemocnění, které si zaslouží pozornost veřejnosti. Ačkoliv se jedná o vzácné dědičné onemocnění, patří mezi nejčastější příčiny úmrtí v dětském věku. SMA se přenáší autosomálně recesivně, ale může i tzv. *de novo*. Pravděpodobnost, že se narodí nemocné dítě, je 25% a 50%, že se narodí přenašeč onemocnění. Bohužel pravděpodobnost, že se narodí zdravý potomek, je pouze 25%. SMA je charakteristická nástupem slabostí kosterních svalů, později i respiračního svalstva. Pokud není aplikovaná léčba, stav pacienta se postupně zhoršuje, až se stává závislým na péči druhých, většinou jimi jsou rodiče. Důležité je zmínit, že děti s tímto onemocněním nemají nijak postižený intelekt, ale naopak to bývají jedinci s velmi vysokou inteligencí.

SMA je klasifikovaná do pěti základních typů podle závažnosti klinických projevů, motorického vývoje a věku nástupu slabostí. První typ SMA je nejzávažnější a obvykle je diagnostikován již v prvních měsících života dítěte.

Důležitou roli hraje genetické vyšetření pacientů. Především je důvodem pro stanovení kvalitní diagnózy samotného onemocnění, ale také kvůli dalším případným výskytům SMA v rodině. Dnes každý, kdo má v blízké rodině člena s diagnostikovou SMA, tak má nárok na bezplatné genetické vyšetření genů SMN1 a SMN2. Právě tyto dva geny jsou hlavní příčinou onemocnění, které díky mutacím, nejsou schopné plnohodnotně syntetizovat potřebný SMN protein.

Jak již bylo zmíněno, SMA je bohužel stále nevléčitelné onemocnění, a proto se práce zaměřuje především na možnosti léčby a probíhající klinické studie. V posledních letech došlo k velkému pokroku v molekulární genetice a farmakogenomice a jsou zde nové možnosti léčby. Jedna je založena na principu podání léků, buď perorálně nebo intratekálně, které mají za úkol upravit SMN gen, který následně tvoří větší množství SMN proteinu, který je významný pro motorické funkce. Druhou inovativní metodou je genová terapie, která dokáže nahradit poškozený SMN gen.

1 SPINÁLNÍ MUSKULÁRNÍ ATROFIE

Spinální svalová atrofie (SMA) se řadí mezi závažná geneticky podmíněná onemocnění, tedy vrozená, jejímž znakem je degenerace motorických buněk předních rohů míšních. Po Duchennově svalové dystrofii (DMD) se jedná o druhé nejčastěji diagnostikované neuromuskulární onemocnění u dětí. SMA je kauzálně neléčitelné onemocnění, které ve většině případů významným způsobem znevýhodňuje pacienta a je nejčastější příčinou úmrtí na autosomálně recesivní onemocnění v časném dětském věku [1, 2, 3, 4].

Spinální muskulární atrofie se zařazuje mezi vzácná onemocnění, protože incidence SMA se udává 1:6 (tzn. postihuje přibližně jedno z 10 000 živě narozených dětí). Frekvence přenašečů je až 1:40 [4].

1.1 Historie

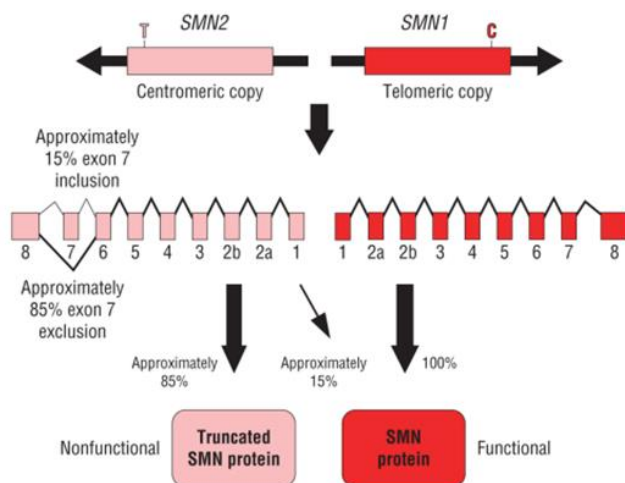
V roce 1891 Guido Werdnig z katedry patologické anatomie na Univerzitě v Grazu popsal dva bratry s nástupem slabosti ve věku 10 měsíců. První z bratrů měl komplikovaný *pertusis a hydrocefalus*, na následky komplikací zemřel ve třech letech. Druhý bratr se dožil šesti let. Při pitvě byla zjištěna degenerace neuronů předních rohů míšních. V letech 1893 až 1900 Johan Hoffmann z lékařské kliniky v Heidelbergu přezkoumal Werdnigovy dva případy a přidal sedm vlastních. Zasloužil se odbornými ilustracemi histologie svalstva a centrálního nervového systému, kde popsal degeneraci motoneuronů předních rohů míšních. Případy Werdniga a Hoffmanna se nakonec ukázaly jako středně závažné. První vážná forma SMA byla důkladně popsána v roce 1899 neurologem Sylvestrem a o čtrnáct let později ho doplnil Beavor.

S popisem mírné, ambulantní formy onemocnění přišli až v polovině 20. století Wohlfart, Fez a Eliasson, kdy pacienti měli zachovanou schopnost stát a chodit a také se jim značně prodloužila doba života. V roce 1956 mnohem více dopodrobna popsali mírný typ SMA Kugelberg a Welandrová, proto je často tato forma nazývána Kugelberg-Welanderové syndrom [5, 6].

V roce 1991 byla SMA klasifikována do tří hlavních tříd, které se rozlišovaly podle věku diagnostikování nemoci a podle úrovně motorických funkcí. Nakonec se přidaly ještě dvě kategorie. Jednou z nich je čtvrtý typ SMA (adultní forma), kdy se onemocnění projeví až v dospělosti. Jako poslední byla do klasifikace zahrnuta prenatální forma, která je označována jako typ 0, kdy se komplikace objeví už v prenatálním vývoji embrya a úmrtí nastává již několik týdnů

po narození dítěte. Ačkoliv existují stupně závažnosti, až 25 % pacientů se nedá přesně klasifikovat, a proto rozdělení typů SMA zůstává relevantní [5].

Objevem Melkiho laboratoře v roce 1995 bylo prokázáno, že většina případů SMA, bez ohledu na typ, je způsobena homozygotní delecí v genu SMN1 na chromozómu 5q13. Na každé alele existují 2 formy genu SMN: telomerická forma (SMN1) a centromerová forma (SMN2), (viz Obrázek 1) [6].



Obrázek 1– Schéma SMN genu. Zdroj: Převzato z: [1]

Během pěti let od objevení genu SMN, vědci vyvinuli zvířecí modely SMA, které se podobaly lidským, a tímto vznikl základ pro veškerý terapeutický vývoj, který v následujících letech probíhal [5].

1.2 Charakteristika onemocnění

Spinální muskulární atrofie (SMA) je heterogenní dědičné nervosvalové onemocnění postihující zejména kosterní a respirační svalstvo, což nakonec vede ke vzniku svalové atrofie a významně postihuje nemocného. Pro SMA je charakteristická apoptóza alfa-motoneuronů předních rohů míšních většinou spolu s degenerací motorických jader hlavových nervů, která se projevuje zvyšující se periferní kvadruparézou s následnou deformací skeletu a ventilační insuficiencí (respirační slabost), což ve většině případů znamená úmrtí pacienta. Onemocnění způsobuje homozygotní delece nebo heterozygotní delece spolu s bodovou mutací na jiné alele na genu Survival motor neuron 1 gene (SMN1), který se nachází na dlouhém raménku 5. chromozómu. Následkem je nedostatek proteinu SMN, který způsobí degeneraci motorických neuronů. Survival motor neuron 1 gene (SMN1) se tedy nachází na komplexní oblasti 5q13, kde

se také nachází homologní pseudogen SMN2. Gen SMN2 tvoří jen 10-15 % funkčního proteinu SMN, kdy je fyziologicky zbytek proteinu vytvářen genem SMN1. Geny SMN1 a SMN2 se od sebe liší pouze dvěma jednonukleotidovými záměnami, které se objevují na exonu 7 a 8. Obvyklé typy SMA jsou z 95 % způsobeny delecí v SMN1 genu na exonu 7, který se nejvíce podílí na tvorbě SMN proteinu. Toto je důvodem, proč jedinec, který má deletován pouze exon 8 v genu SMN1, nebývá z velké pravděpodobnosti přenašečem [3, 7, 8].

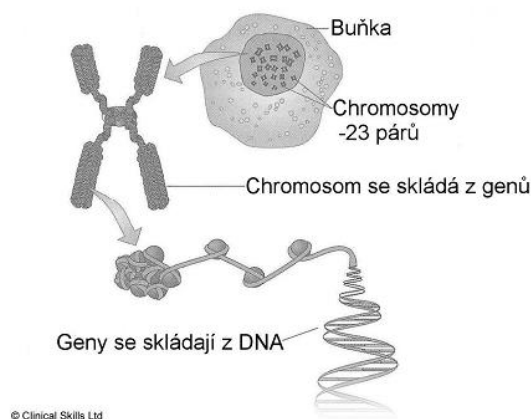
SMA má za následek velký rozsah klinických příznaků, a proto ve 20. století byla klasifikována do podtypů od nejzávažnějšího SMA I. typu po nejmírnější SMA IV. typu. Typickým klinickým příznakem je zvyšující se svalová slabost hlavně v oblasti dolních končetin, méně se už projevují na svalstvu horních končetin. Projeví se to na neschopnosti se samostatně postavit, posadit či chodit. V případech těžších forem SMA jsou často zasaženy i hlavové nervy, kdy jedním z příznaků může být tzv. fascikulace, což jsou spontánní pohyby jazyka. V pozdějším stadiu nemoci se slabost projevuje na polykacích a dýchacích svalech, kdy jednou z nejčastějších příčin úmrtí je právě slabost dýchacích svalů. Je důležité zmínit, že děti s diagnostikovanou SMA, někdy i přes značný pohybový handicap, jsou chytré a bystré děti [4, 7].

1.3 Genetické hledisko

Spinální svalová atrofie se ve většině případů řadí mezi autosomálně recesivní (AR) onemocnění. K pochopení principů tohoto typu dědičnosti je potřeba znát alespoň základ o genech a chromozómech [9].

1.3.1 Geny a chromozómy

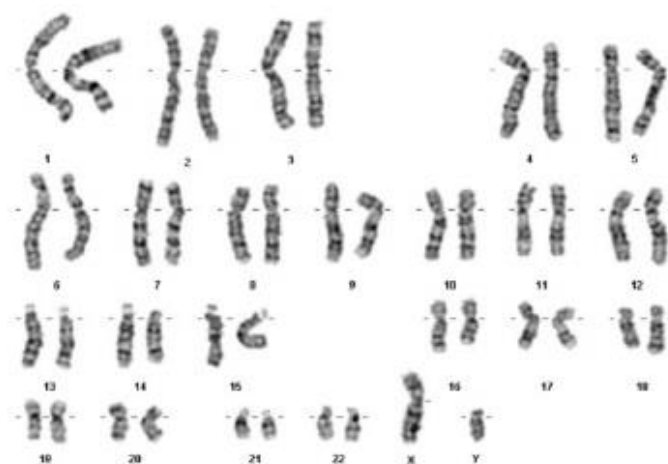
Lidské tělo obsahuje miliony buněk mající jádro, ve kterém jsou uloženy útvary nazývané chromozómy. Chromozómy se skládají z DNA (deoxyribonukleová kyselina), což je nositelka genetické informace (viz Obrázek 2) [9, 10].



Obrázek 2 – Geny, chromozómy a DNA. Zdroj: Převzato z: [2]

Chromozómů v jádře buněk existuje přesný počet (46 ch.) a každá menší změna, se poté projeví, ať už v genotypu nebo ve fenotypu. Potomek od rodičů vždy dědí jednu sadu tj. 23 chromozómů od matky a 23 chromozómů od otce. Lidský organismus si tedy nese v každém jádru buňky 23 párů chromozómů, kdy 22 párů jsou u muže i ženy stejné; poslední pár je tvořen tzv. pohlavními chromozómy (gonozómy). Rozdíl je v tom, že žena zdědí od matky a otce vždy po jednom X chromozómu, zatímco muž vždy obdrží od matky X chromozóm a od otce Y chromozóm. Soubor všech chromozómů se nazývá karyotyp. Ženský karyotyp označujeme 46, XX a mužský 46, XY (viz Obrázek 3).

Gen je základní jednotka, která kóduje určitou genetickou informací. Jedná se o úsek DNA, který nese daný specifický znak. Skládá z částí, které se dělí na introny a exony. Pro SMA jsou důležité hlavně geny SMN1, SMN2 a NAIP [10].

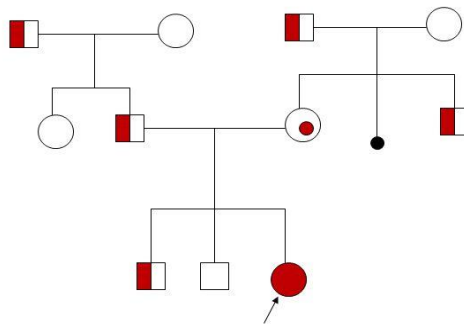


Obrázek 3 - Karyotyp zdravého muže – 46, XY: 46 chromozómů, 22 párů nepohlavních chromozómů a pohlavní chromozómy X a Y. Zdroj: Převzato z: [3]

1.3.2 Autosomálně recesivní onemocnění

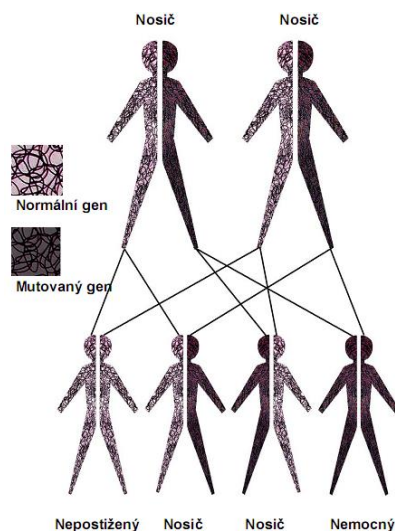
Autosomálně recesivní znamená, že se jedná o změny na nepohlavních chromozómech (autozómech) a recesivní alela se sama nedokáže projevit, tzn., musí se objevit u matky i otce. AR dědičnost probíhá tak, že jedinec musí zdědit dvě změněné (mutované) kopie určitého genu. To znamená, že od každého z rodičů musí dostat jednu pozmeněnou kopii genu, aby se u něj nemoc projevila. Pokud jedinec zdědí jednu zdravou kopii genu a druhá je pozmeněná, ve většině případů je jedinec zdravým přenašečem, protože funkční kopie genu plně kompenzuje “nezdravou” pozmeněnou kopii. (viz Obrázek 4).

Rodokmen Autosomálně recesivní dědičnost



Obrázek 4 - Rodokmen-Autosomálně recesivní dědičnost. Zdroj: Převzato z: [4]

Jsou-li oba rodiče nosiči mutovaného genu, svým potomkům mohou předat, buď svůj zdravý, nebo mutovaný gen. Děje se to zcela náhodně v poměru 1:1 a není to ovlivněno pohlavím potomků. Pokud se to tedy pojme z matematického hlediska, šance, že se u potomka neprojeví nemoc, je 75%, protože z 50 % bude zdravým přenašečem a z 25 % plně zdravý jedinec (viz Obrázek 5) [9].



Obrázek 5 - Jak jsou recesivní geny předávány z rodičů na děti. Zdroj: Převzato z: [5]

1.3.3 Spinální muskulární atrofie a genetika

Spinální muskulární atrofie je autosomálně recesivní genetické onemocnění, které je podmíněno genem SMN1 způsobující SMA. Tento gen se vyskytuje na autosomálním chromozómu a k tomu, aby se nemoc projevila, je zapotřebí, aby jedinec zdědil dvě kopie tohoto genu. Gen SMN je zodpovědný za tvorbu esenciálního proteinu zvaného Survival Motor Neuron protein. Tento protein se vyskytuje na všech buňkách lidského těla a je zejména důležitý pro buňky nervového systému, hlavně tedy pro motorické neurony. Tyto neurony pomáhají propojit mozek a míchu se svaly, které poté umožní organismu pohyb. Pokud je SMN proteinu nižší hladina, než je přípustná, motorické neurony začnou pomalu degenerovat, a to vede ke vzniku svalové slabosti a atrofie [11].

Gen SMN má 9 exonů a na dlouhém raménku pátého chromozómu, v oblasti 5q13, se vyskytuje ve dvou kopiích, jedna je telomerická a druhá centromerická (SMN1 a SMN2). V 94 % všech případů je SMA způsobena delecí na exonu 7. Delece je typ mutace, kdy chybí krátký úsek DNA. Díky tomu se netvoří plnohodnotné bílkoviny, ale kratší a méně funkční, v některých případech se netvoří vůbec. V 95 % případů pacienti se SMA mají deleční mutaci v obou kopiích genu. Pak se takový případ nazývá homozygotní delece. V ostatních případech se jedná o kombinaci deleční mutace na jedné kopii genu a na druhé se nachází tzv. bodová mutace. Tento typ mutace nastává, když se změní jedna báze (nukleotid) v DNA. Bodové mutace lze zdědit po rodičích nebo také mohou vzniknout nově - tzv. *de novo* [3, 13].

Mutace genu SMN1 vedou k projevům onemocnění, ovšem neposkytují validní informaci o fenotypu. Jedním z faktorů, který ovlivňuje fenotyp je počet kopií genu SMN2. Lidé mohou mít více kopií genu SMN2, většinou se jedná o číslo nula až osm. V případech, kdy je SMA způsobena mutací na chromozómu 5 platí, že čím více má pacient kopií genu SMN2, tím více má funkčního SMN proteinu, který je zodpovědný za následnou motorickou funkci těla. Pouze 10 – 15 % proteinů syntetizovaných podle genu SMN2 jsou funkční, to znamená, že čím více se vyskytuje kopií, tím více se vytvoří funkčních proteinů. V důsledku toho je více pravděpodobný mírnější průběh onemocnění. V praxi jsou 2-3 kopie genu spojeny s méně závažným projevem SMA. Proto je v praxi důležité, pro pacienty postižené spinální muskulární atrofií, stanovit kopie genu SMN2. Dalšími faktory ovlivňujícími závažnost fenotypu jsou exprese dalších genů jako jsou NAIP, Btf2-p44, C212/H4F [12, 13].

Jednou ze vzácných forem spinální muskulární atrofie je mutace genu na chromozómu X, který se označuje UBE1 způsobující SMA vázanou na gonozomální chromozóm X. Gen UBE1 nese informaci pro enzym aktivující ubikvitin 1, jehož funkcí je označit molekuly určené k destrukci. Další vzácnou formou je SMA-LED, kdy se vyskytuje mutace genu cytoplazmatického dyneinu na chromozómu 14 [13].

1.4 Klasifikace spinální muskulární atrofie

1.4.1 SMA I. typu – (Werdnig-Hoffmann syndrom I) akutní infantilní forma

SMA typu 1 je nejzávažnější a nejčastější formou SMA, která představuje skupinu přibližně 50 % pacientů se SMA. Jedná se o onemocnění s časným nástupem, přibližně v období po narození až do 6. měsíce života jedince. Děti jsou popisovány jako “sedící”, jelikož nejsou schopny si osvojit potřebu sedět bez podpory a velmi omezenou dobou života, většinou do dvou let věku nepřežijí, pokud jim není včas poskytnuta odborná pomoc. Typicky mívají tyto děti v genotypu obsaženy 2-3 kopie genu SMN2. Hlavními klinickými projevy SMA typu 1 jsou svalová slabost vyskytující se bilaterálně, nedostatečný motorický vývoj a nepřiměřený svalový tonus. Kojenci mívají problémy se sáním a polykáním v průběhu krmení, mají hlubokou hypotonii, symetrickou paralýzu těla, fascikulaci jazyka a často nemají motorickou kontrolu nad hlavou. Svalová slabost je ve většině případů spíše proximální než distální, tedy blíže ke středu těla. Obecně jsou dolní končetiny slabší než horní a potíže s oslabenými mezižeberními svaly vedou k tzv. paradoxnímu

dýchání. Aspirační pneumonie bývá jednou z častých příčin úmrtí dětí postižených tímto typem SMA [14, 15, 16].

Z pohledu klinických komplikací se SMA typu 1 dělí do 3 podtypů podle stupňů závažnosti:

- a) těžká slabost od narození / novorozeneckého období, nikdy není dosaženo kontroly hlavy;
- b) nástup slabosti po novorozeneckém období, ale obvykle do 2 měsíců není nikdy dosaženo kontroly hlavy;
- c) nástup slabosti po novorozeneckém období, ale je dosaženo kontroly hlavy, některé z těchto dětí mohou sedět s oporou [14].

Během posledních pár let se objevují důkazy, že u některých jedinců s onemocněním SMA 1. typu, většinou s jednou kopií genu SMN2, se mohou vyskytovat vrozené srdeční vady. Obvykle se jedná o defekty síňového a komorového septa, a možné zapojení autonomního nervového systému, které mohou způsobovat arytmii a následně způsobit i smrt [20].

Od zavedení Mezinárodních standardů péče o SMA v roce 2007, jsou známy důkazy, kdy se prodloužila i tak krátká doba života o něco déle [16].

1.4.2 SMA II. typu – (Dubowitzova choroba) chronická infantilní forma

Nástup slabosti u dětí, které mají diagnostikovanou SMA typu 2 obvykle nastává mezi 6. až 18. měsícem života. Touto formou je postiženo 20 % dětí ze všech případů SMA a obecně mají tři kopie genu SMN2. Děti jsou většinou popisovány jako sedící, ale nejsou schopné samostatně stát ani chodit. Někteří lépe rozvinutí pacienti se dokonce dokážou s podporou postavit, ale přesto se nenaučí chodit. Až 70 % pacientům chybí hluboké šlachové reflexy. Svalová slabost je většinou proximální a postiženy jsou více dolní než horní končetiny. Velmi patrný je jemný třes horních končetin, mnohdy se týká hlavně prstů na ruce. Tvář a oční svaly nejsou obvykle ovlivněny, často se během života vyvine kyfoskolióza a kontraktury kloubů. Slabší děti mívají respirační potíže, které vedou k častým infekcím dýchacích cest. Může se vyvinout slabé polykání, což není časté, zatímco slabost žvýkacích svalů často ovlivňuje schopnost žvýkání při jídle. Ačkoliv se jedná stále o vážný stav pacienta, průměrná délka života je přibližně 10 až 40 let [14, 16, 17, 18, 19, 20].

1.4.3 SMA III. typu – (Kugelberg-Welanderové syndrom) juvenilní forma

Jedná se o pozdní tzv. juvenilní nástup nemoci, kdy se většinou příznaky začínají objevovat od 18. měsíce života, ale ve skutečnosti se věk nástupu onemocnění velmi liší. SMA typu 3 tvoří 30 % celkových případů SMA. Děti, které mají juvenilní formu nemoci obvykle mívají 3-4 kopie genu SMN2 [18, 20].

U SMA III. je typické, že děti dosáhnou všech motorických schopností, ale až během dětství se objeví různé úrovně svalové slabosti. Proto vznikla Wirthova klasifikace SMA typu 3, pojmenovaná podle autora, která je rozdělená na dvě skupiny. Pokud se nástup slabostí objeví před dovršením 3 let a děti jsou schopni chodit do svých 20 let, jedná se o skupinu pacientů klasifikovanou jako SMA IIIa. Při nástupu nemoci později a zachované schopnosti chodit po celý život, je nemoc označována jako SMA IIIb. Avšak u většiny dochází k deformacím nohou, skolióze a v těžších případech ke slabosti dýchacích svalů a s tím i související respirační komplikace. Mohou se vyskytnout i další zdravotní potíže související se špatnou mobilitou jako jsou obezita a osteoporóza. Jelikož jsou známé různé úrovně a příznaky u pacientů se SMA 3. typu, tak se průměrná délka života neudává a nelze ji konkretizovat [14, 16, 17, 18, 19, 20].

1.4.4 SMA IV. typu – (Aran-Duchenne syndrom) adultní forma

SMA typu 4 má nástup v pozdějším věku, který není přesně definován. Někteří lékaři uvádí věk okolo 10 let a jiní zase přibližně nástup slabostí ve věku až 30 let. Věk, kdy se SMA projeví, je velice individuální a nedá se přesně určit. Pacienti nemívají respirační ani vyživovací komplikace a postižení motorických funkcí je mírné. Příznaky nemoci se začnou obvykle objevovat až v dospělosti a zahrnují mírnou slabost svalů horních a dolních končetin. Mají občasné potíže s chůzí, přesto jim zůstává schopnost chodit po celý svůj život a nemají omezenou délku života [14, 16, 17, 18, 19, 20].

1.4.5 SMA typu 0 – prenatální forma

SMA typu 0 je závažná forma onemocnění, kdy během prenatálního vývoje dochází ke snížení pohybu plodu a může se stát, že matka porodí dříve. Charakteristické je poporodní hypotonie a silná svalová slabost. Novorozenci nedosahují žádných motorických schopností, nereagují na podněty, mají diplegii obličeje (ochrnutí) a často se narodí s vrozenou srdeční vadou. Děti s diagnostikovanou SMA 0 typu umírají na respirační selhání do půl roku života a někdy už i první měsíc po narození. Bez okamžité umělé plicní ventilace nastává smrt ihned po porodu [17, 18, 19].

2 ONEMOCNĚNÍ VÁZANÉ NA SMN GEN

2.1 Geny SMN1 a SMN2

Gen SMN má 9 exonů a vyskytuje se na chromozómu 5, konkrétně na úseku 5q11-q13, kde se nachází ve dvou formách, telomerické (SMN1) a centromerické (SMN2), avšak pro tělo plnohodnotný protein vytváří především gen SMN1. Oba geny kódují protein SMN a gen SMN1 je téměř identický s genem SMN2 s výjimkou substituce na pozici 840, kde dochází k přechodu cytosinu na thymin. Tato záměna vede k vyloučení exonu 7 během transkripce, a následně vzniklý protein kódovaný SMN2 genem se stává z 85-90 % nefunkční a rychle se rozkládá. Může se vyskytnout i jednonukleotidová záměna na exonu 8, ale z 95 % má hlavní podíl na funkčnosti SMN proteinu především delece na exonu 7, a proto lze s vysokou pravděpodobností předpokládat, že jedinec z delecí na exonu 8 není přenašečem [21, 22, 25].

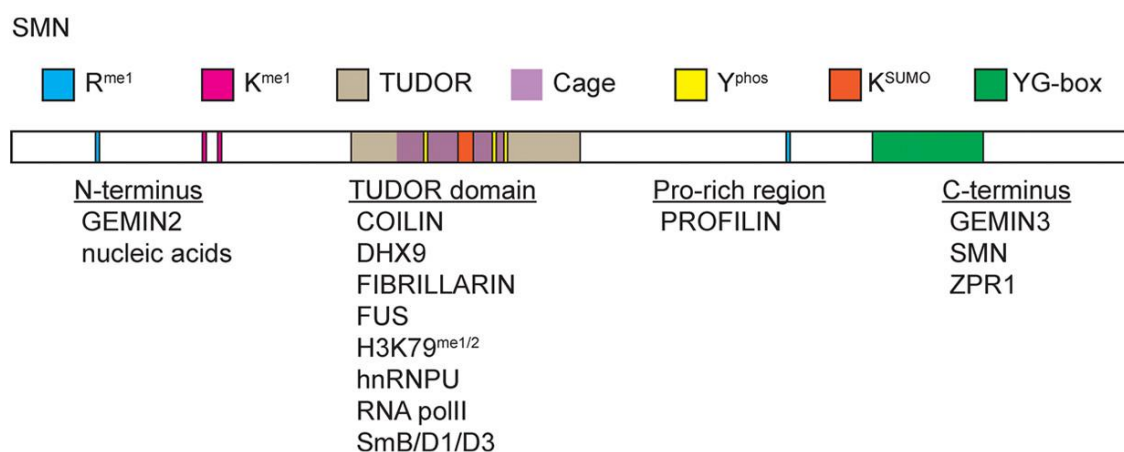
Každý pacient s onemocněním SMA postrádá funkční gen SMN1 a je závislý na svém druhém genu SMN2, i přesto, že není z velké části funkční, aby produkoval protein, který je k přežití nezbytný. Někteří jedinci mohou mít více kopií genu SMN2, většinou se jedná o 0-8 kopií. U SMA je známo, že čím více kopií jedinec ve svém genomu má, tím má vyšší úroveň funkčního proteinu SMN a tím je i mírnější průběh onemocnění [13, 25].

2.2 Survival Motor Neuron Protein

Survival motor neuron protein (SMN) byl poprvé popsán při mutacích v jeho kódovacím genu, kdy gen SMN1 byl spojován s neuromuskulárním onemocněním – Spinální muskulární atrofie. Vědeckým výzkumem zejména na myších bylo zjištěno, že SMN protein má důležitý význam pro motorický systém a jeho vyřazení vede ke smrti, proto je označován jako “Survival motor neuron”. Dalšími výzkumy se prokázalo že SMN protein je všudypřítomně exprimován a je vyžadován všemi buňkami a tkáněmi, nejen neurony [23].

SMN protein se skládá z 294 aminokyselin o molekulové hmotnosti 38 kDa a obsahuje funkční motivy, jako jsou přechod z N-konce na C-konec, domény bohaté na lysiny a prolin, domény Tudor a také YG box (viz Obrázek 6). Mutace v Tudor doméně se často vyskytují u pacientů se SMA, kdy dochází k blokaci vazby SMN a Smithových jadrových (Sm) proteinů. Dále Tudorova doména je důležitá pro interakci s coilinem, což je marker (ukazatel) Cajalových těl (CB). Cajalova těla jsou membránové jaderné organely, které poprvé pozoroval před více než 100

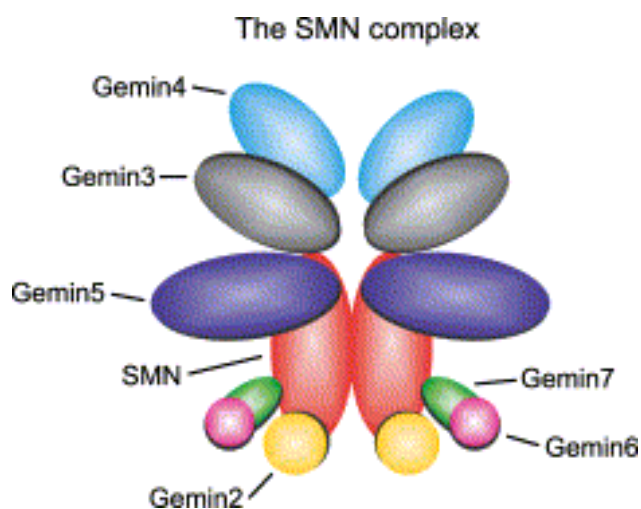
lety Santiago Ramón y Cajal v nervových tkáních. CB jsou tedy jaderná těla, do kterých se lokalizuje SMN a jeho přítomnost se zvyšuje při diferenciaci neuronů. Těla jsou obohacena malými nukleárními RNA (snRNA) a malými nukleolárními RNA (snoRNA), které jsou potřebné pro biogenezi komplexu malých nukleárních ribonukleoproteinů (snRNP). YG box (oblast bohatá na tyrosin a glycin na C-konci), hraje zásadní roli pro stabilitu proteinu [22, 24].



Obrázek 6 - SMN protein. Zdroj: Převzato z: [6]

SMN protein se nachází v cytoplazmě a jádře buňky, kdy nejvyšší koncentrace se vyskytuje v míše. V buňkách je součástí multiproteinového komplexu, tedy SMN komplexu (viz Obrázek 7). Tento komplex je zásadní pro udržení motorických neuronů, snRNP biogenezi a při splicingu (sestřihu) pre-mRNA. Nejvíce studovanou úlohou SMN je jeho význam při vzniku snRNP. Jeho biogeneze startuje v jádře transkripcí snRNA a dále je pak transportován do cytoplazmy. Každá snRNA se naváže na sadu sedmi doprovodných Sm proteinů. Úkolem SMN spojeného s dalšími osmi proteiny v multiproteinovém komplexu je napomáhat v dosažení funkční konformace při biogenezi snRNP ze snRNA a Sm proteinů v cytoplazmě a následně transportovat snRNP do jádra buňky. Ze studií, které se zaměřily na sestavování snRNP, kde základní roli hrál SMN protein,

byla dokázaná souvislost snížené biogeneze snRNP se stupněm klinické závažnosti onemocnění SMA [23, 24].



Obrázek 7 - Komplex SMN. Schematické znázornění komplexu SMN. Gemin 2, 3, 5 a 7 se vážou přímo na SMN protein, zatímco Gemin 4 a 6 jsou spojeny přímou interakcí s Gemin 3 a 7. Pro zjednodušení je komplex SMN ilustrován jako dimer, i když ve skutečnosti se s největší pravděpodobností jedná o oligomerní strukturu. Zdroj: Převzato z: [7]

3 MOŽNOSTI LÉČBY

Jak již bylo zmíněno v úvodu, spinální muskulární atrofie je nervosvalové onemocnění, které se v současné době nedá kauzálně léčit. Avšak stále je do budoucna naděje v aplikaci nové léčby, neboť desítky zahraničních studií, které se nacházejí už ve třetí fázi testování, vykazují příznivé výsledky. V praxi by mohly být dostupné během 3-5 let. Nicméně se zavedla léčba tzv. symptomatická, jejímž cílem je prodloužit věk pacientů a také zlepšit kvalitu jejich života. Symptomatická terapie se hlavně snaží předejít kloubním defektům, deformacím páteře a respiračním problémům. Dále také existují i jiné metody jako jsou genová terapie a farmakoterapie, kdy za použití testovaných léků se snaží zpomalit progresi onemocnění. Léčba SMA je velmi složitá, prolíná se mezi mnoha obory a je závislá na klinických zkušenostech a technickém vybavení, a proto je důležité, aby pacienti s onemocněním SMA byli sledováni v tzv. nervosvalových centrech. O pacienta s SMA mohou pečovat odborníci z neurologie, rehabilitace, fyzikální a pracovní terapie, pulmonologie, ortopedie, endokrinologie, anesteziologie, výživy a dalších oborů, protože každý pacient má zcela individuální potřeby na péči. Specifickou léčbu určují lékaři pečující o pacienta podle věku, anamnézy, typu spinální svalové atrofie, toleranci vůči lékům a postupům terapie, očekávání progresi onemocnění a taky podle možností a preferencí pacienta, případně rodiny [26, 27, 28, 29].

3.1 Farmakoterapie

V současné době je již vyvinuta celá řada léčiv, ale nejdostupnějším se nakonec stal valproát sodný (VPA). Byl použit v několika klinických studiích, kdy pacienti, kteří ho užívali pocítili mírné zlepšení zdravotního stavu a je tedy předpokládáno, že při dlouhodobém užívání VPA, by měl přispět ke zpomalení progresi SMA. Bohužel žádná ze studií už ale nezkoumala dlouhodobý efekt VPA. Do skupiny, která užívala VPA, patřili pacienti se všemi formami SMA. Před rozhodnutím užívat VPA je důležité zvážit rizika, která hrozí. Mezi nežádoucí účinky léčiva hlavně patří zvýšená krvácivost, anémie, selhávání jater, přibírání na hmotnosti, vypadávání vlasů a zhoršení jejich kvality, u žen v reprodukčním věku poruchy menstruačního cyklu a reprodukčních funkcí, např. syndrom polycystických ovárií (PCOS). Proto by se u pacientů, hlavně u žen, měla zvážit léčba valproátem sodným, aby nedošlo k větším škodám než přínosu léčby. Dalším testovaným lékem je fenylbutyrát sodný (PBA, Ammonaps), který se zařazuje do skupiny inhibitorů histonových deacetyláz, což jsou molekuly schopné zvýšit expresi genu SMN2. Protože

se od genu SMN1 odlišuje pouze jedním nukleotidem a může tedy stimulovat syntézu proteinu SMN, tak u pacientů, kteří užívají PBA, by mělo dojít ke zlepšení svalové síly a aktivity a při dlouhodobém užívání i ke zmírnění progresu onemocnění. Bohužel klinické studie, která se zabývala efektem PBA, se účastnil nedostatečný počet probandů, takže výsledky studie nelze považovat za validní. Nežádoucí účinky během používání léčiva nebyly zaznamenány, největší překážkou zůstává velmi vysoká cena léku. Jako další lék na onemocnění SMA je Salbutamol, který je již pro své anabolické účinky využíván na léčbu astmatu. Jeho testování probíhá ve fázi humánních studií. Salbutamol má dva hlavní účinky. Jedním je stimulace přenosu signálu přes β_2 -receptory, což má za následek zlepšení dýchání a druhým účinkem je schopnost ovlivnit splicing SMN genu a tím navýšit množství funkčního proteinu SMN. Jelikož je Salbutamol pacienty dobře přijímán, tak ho už některá centra nabízejí jako lék. V současné době probíhají i experimentální studie, které nabízejí pacientům naději na zmírnění projevů onemocnění. Jedná se o nové terapie, jejichž cílem je zpomalení průběhu a stabilizace onemocnění.

Jedním z preparátů byl Olesoxim testovaný francouzskou firmou Trophos, jehož struktura je příbuzná cholesterolu. Klinická studie Olesoximu potvrdila pozitivní účinky na zlepšení svalové funkce, ale jelikož konkurence představila účinnější Nusinersen, tak se vývoj Olesoximu v červnu 2018 úplně zastavil. Dalším z preparátů je již zmíněný Nusinersen, léčivo firem Biogen a Ionis. Studie byla zahájena v roce 2010. V následujících třech letech byla splněna první a druhá fáze testování a již v roce 2014 startovala poslední fáze klinického testování, kdy se některým pacientům podávalo placebo, aby se porovnal účinek Nusinersenu vůči neúčinné látce. Studie se nejdříve účastnili pouze děti se SMA I. a II. typu, poté i děti, které ještě nevykazovaly žádné symptomy onemocnění. Výsledky klinické studie byly natolik úspěšné, že na podzim 2016 se firmy Biogen a Ionis rozhodly podat přihlášku nového Nusinersenu k americkému Úřadu pro kontrolu potravin a léků. Léčivo úspěšně splnilo všechny požadavky a v prosinci téhož roku dostal komerční název Spinraza a stala se první schválenou léčbou onemocnění SMA v Evropě a doporučuje se kojencům a to zejména dětem ve věku od 2 do 12 let. V první fázi studie byly u dětí zaznamenány případy, kdy koncentrace SMN proteinu v mozkomíšním moku byly více než 2x vyšší 9–14 měsíců po podání Nusinersenu. I když je Spinraza schválená, velkou překážkou je cena, která se za jednorocní léčbu pohybuje okolo 15 mil. korun. Tato částka zahrnuje 6 injekcí aplikovaných do páteřního kanálu. Následovat by u takových pacientů mělo dalších 6 injekcí během dvou let, kdy cena zůstává opět v řádů milionů, přesněji 7,5 mil. korun. Spinraza je antisense oligonukleotid, který má za úkol modifikaci genu SMN, kdy výsledkem je vznik funkčnějšího proteinu SMN. Antisense oligonukleotidové léky (ASO) jsou malé fragmenty

genetického materiálu, které se vážou na RNA. ASO mají velký úspěch při léčbě SMA, protože jsou schopné přesně cílit na SMN2 gen a ten upravit tak, že se poté velmi podobá genu SMN1. Principem je, že se antisense oligonukleotidové fragmenty navážou na templát RNA, který je vytvořený podle genu SMN2 a zvýší inkluzi exonu 7 do SMN proteinu. Dalším lékem schváleným pro léčbu SMA v Evropě je Evrysdi (Risdiplam). Risdiplam je perorálně podávaný lék, indikovaný k léčbě pacientů od 2 měsíců a starších s onemocněním SMA. Z chemické stránky se jedná o derivát pyridazinu, který se používá ke zvýšení množství SMN proteinu syntetizovaného podle genu SMN2 [18, 28, 29, 30, 31, 32].

3.2 Genová terapie

3.2.1 Genová terapie obecně

Geneticky podmíněné onemocnění jsou v dnešní době stále velkým otazníkem moderní medicíny. U mnoha z nich není medicína schopna zavést kauzální terapii, tedy léčit samotnou příčinu onemocnění, i když je klinická příčina známá. A proto tedy současné medicínské vědy nabízejí symptomatickou léčbu, která se snaží různými způsoby zlepšit průběh nemoci. Do symptomatické léčby patří např. dodání chybějících látek (enzymů, substrátů, proteinů apod.), farmakologické ovlivnění, chirurgický zákrok a v neposlední řadě také transplantace nemocí postiženého orgánu. Nevýhodou však zůstává, že symptomatická léčba se nezaměřuje na léčbu příčiny onemocnění, a tak jsou pacienti po celý život na této léčbě závislí. Avšak během posledních let dochází k velkému pokroku v molekulární genetice, proteomice a farmakogenomice, což dává do budoucna velkou naději, že se budou moci přímo léčit příčiny geneticky podmíněných chorob a většinu onkologických onemocnění [35].

Genová terapie je zavedena pro léčbu dědičných chorob za použití genetického materiálu, který se vpraví do cílové buňky. Může zahrnovat přidání nebo nahrazení kopie přirozeného genu nebo změnu mutovaného genu na gen přirozený. Léčba může probíhat, jak *in vivo* (cílové buňky jsou během terapie součástí organismu po celou dobu), tak *ex vivo* (cílové buňky jsou nejdříve odebrány a následně po provedené genové terapii vráceny zpět do organismu). Genová terapie byla již použita u léčby těžkých imunodeficitů, avšak stále se jedná spíše o experimentální terapii, u které nejsou zodpovězeny všechny otázky. Lze konstatovat, že přináší s sebou i některé vedlejší účinky. V současné době je experimentální genová terapie používána u onemocnění, pro které zatím neexistuje žádná jiná metoda léčby a takové, které mají velmi těžký, anebo fatální průběh.

Pro zavedení léčby genovou terapií je nutno znát několik poznatků. Jedním ze základních požadavků je, znát přesný gen, jeho umístění, povahu produktu, a hlavně mechanismus patologického účinku. A to z toho důvodu, že patologii může způsobovat, jak deficit normálního genu, tak i mutovaného. Potom je samozřejmě také nutno znát sekvenci zdravého genu. Dále je potřeba znát genovou strategii, kterou lze aplikovat. Pro defekt přirozeného genu se zvolí zařazení nemutovaného genu do genomu cílových buněk. Pokud se jedná o patologii na mutovaném genu, tak je zapotřebí gen opravit, kde se jedná o kauzální léčbu, tedy odstranění příčiny, nebo zablokování funkce. V takovém případě je nutno zajistit fyziologickou aktivitu genu tzn. jeho posílení nebo utlumení transkripce. V poslední řadě je třeba znát vedle strategie i vhodný nosič a mít vytipované cílové buňky, na které se bude genová terapie zaměřovat. Důležité je zmínit, že genovou terapii lze provádět, až pokud je úspěšně otestovaná a schválena příslušnou institucí.

V případě experimentální genové terapie je zapotřebí souhlas pacienta či jeho zákonného zástupce s léčbou. Do budoucna pro použití genové terapie budou pravděpodobně přijímané nové zákony. Samotný průběh genové terapie začíná vytvořením genetické informace, která bude transportována do cílových buněk, které se musí nejdříve vytipovat. Následně se zvolí vhodný nosič, kterým bude genetická informace aplikována. Může to být mikro Jehla (mechanická metoda), chemická či fyzikální metoda (zvolený způsob, jakým se umožní průnik genetické informace přes cytoplazmatickou membránu) nebo DNA či její komplex s dalšími molekulami. Dnes je nejvíce používáno virových vektorů, nejčastěji jimi jsou adenoviry a retroviry, což jsou viry schopné vnést svou genetickou informaci do genomu hostitelské buňky. Principem je, že do virových kapsid, které jsou již zbarveny virové genetické informace, se vnese lidská genetická informace a takto připravené virové vektory se následně aplikují do cílových buněk pacienta. Poslední důležitou fází je pečlivé sledování pacienta, pozorování jeho zdravotního stavu, tak i vznik případných komplikací [35, 36].

3.2.2 Genová substituční terapie spinální muskulární atrofie

Genová terapie je inovativní metoda, která dokáže nahradit nefunkční gen, tím že zdravý gen SMN1 vnese pomocí vhodného vektoru do místa potřeby. Do nedávna používaná léčba pomocí aplikace léku do páteřního kanálu, je sice účinná, ale bylo ji nutné opakovat vícekrát za sebou, což mnohdy mladým pacientům nebylo příjemné. Zatímco léčba pomocí genové terapie je jednorázová a dokáže tedy odstranit příčinu genetické vady ihned. Ačkoliv se genetická porucha odstraní, nemůžeme očekávat úplné vyléčení. Tělesné změny, které postupně vznikaly následkem

onemocnění již nelze odstranit. Důležité je zmínit, že přípravek určený ke genové terapii SMA je přelomový nejen v mechanismu účinku, ale i v ceně, která přesahuje hodnotu 50 mil. korun za jedinou dávku. Až astronomická cena koreluje s náročností výzkumu a výrobou léku na míru pro každého pacienta. Tak jako to bývá u jiných metod terapie, kdy se jejich cena snižuje s postupným přibýváním dalších podobných léčiv, tak i u genové terapie SMA se předpokládá postupné snižování ceny v řádech desítek procent [28, 38, 42, 43].

První studie genové terapie začínaly na myších modelech, kdy se projevil první nadějný potenciál pro léčbu SMA pomocí genové terapie. Týmu pod vedením doktora Kevina Fousty se za využití virů jako vektorů, podařilo vnést funkční gen do lidského genomu a zvrátit tak projevy onemocnění u myši a poté i u primátů. Společně s licencovanou firmou pro léčbu genové terapie AveXis, se vědecký kolektiv snažil o přínos této terapie na zvířatech do lidské medicíny. Jedná se o genovou substituční terapii s přípravkem Onasemnogen abeparovec (dříve AVXS-101, později Zolgensma), který je aplikován intravenózně v jedné dávce po dobu 60 minut. Onasemnogen abeparovec prochází hematoencefalickou bariérou k cílovým motorickým neuronům a následně způsobí okamžitou a trvalou expresi genu SMN1. Do klinické studie bylo zapojeno 22 dětí mladších 9 měsíců, kdy v podmínkách bylo nastaveno, aby u všech dětí bylo SMA způsobeno mutací SMN1 genu na obou chromozómech, symptomy se projevily do půl roku života dítěte, dále slabý svalový tonus a opožděný vývoj motorických funkcí. V první fázi klinické studie byl Onasemnogene abeparovec podáván v nízké (n=3) a terapeutické dávce (n=12) u pacientů se SMA I. typu. Pacienti byli poté sledováni po dobu 2 let z důvodu jejich snášenlivosti terapie, zlepšení motorických funkcí a schopnost přežití s umělou plicní ventilací či bez ní. Závěr studie prokázal jasnou účinnost u symptomatických dětí se SMA typu, v porovnání s neléčenou přirozenou formou onemocnění, což mělo za následek sníženou potřebu plicní ventilace a zlepšení motorických funkcí. Další studie prokázaly, že čím dříve děti dostanou Onasemnogene abeparovec, tím lepší jsou výsledky terapie. Nejčastěji jsou uváděny zvýšené hladiny jaterních enzymů a zvracení jako vedlejší účinek, proto by před terapií měla být posouzena funkce jater a alespoň po dobu 3 měsíců od podání Onasemnogene abeparovec kontrolovat jejich stav. Jelikož nebyly studie hodnocené na dětech s pokročilým SMA, tak je lék od května 2019 schválen v USA jen pro děti do věku 2 let. Studie z roku 2020 ukazuje, že u dětí do 6 měsíců je přípravek dobře tolerován a u starších dětí došlo ke zvýšení aspartátaminotransferázy, alaninaminotransferázy a y-glutamyl transpeptidázy, což vyžadovalo vyšší dávku prednisolonu. Prednisolon je lék pro léčbu poruchy funkce jater. Celkově se ale uvádí, že genová substituční terapie s Onasemnogene abeparovec je velice slibná [28, 33, 37, 38].

V následujícím přehledu v Tabulce 1 jsou zobrazeny základní informace o lécích používaných pro léčbu SMA. Je zde uveden chemický původ léčiva, uvedení na trh, cesta vstupu do těla a přibližná cena léku.

Tabulka 1 – Přehled léků pro léčbu SMA. Převzato z: [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]

Léky	Typ léčiva	Uvedení na trh	Forma podání	Cena
VPA	valproát sodný	ukončené klinické studie s pozitivním účinkem	perorálně	vysoká
PBA (Ammonaps)	fenylbutyrát sodný	ukončené klinické studie s pozitivním účinkem	perorálně	vysoká
Olesoxim	derivát cholesterolu	experimentální lék	perorálně	–
Evrysdi (Risdiplam)	derivát pyridazinu	2019 (USA) 3/2021 (ČR)	perorálně	≈7,5 mil. Kč/rok
Nusinersen (Spinraza)	antisense oligonukleotid (ASO)	2016 (USA) 2017 (ČR)	intratekálně	≈15 mil. Kč/rok
Onasemnogen abeparvovec (Zolgensma)	genová terapie	2019 (USA) 2020 (ČR)	intravenózně	<50 mil. Kč
LMI070 (Branaplam)	ze skupiny malých molekul	fáze klinického testování	perorálně	–
SRK-015 (Apitegromab)	anti-promyostatinová monoklonální protilátka	fáze klinického testování	intravenózně	–

3.3 Rehabilitace

Jelikož spinální svalová atrofie patří mezi kauzálně nevléčitelné neurodegenerativní onemocnění a zasažené alfa-motoneurony jsou poškozeny nevratně, je zapotřebí udržovat celkové fyzické a psychické zdraví. Obecně se zavádí především symptomatická komplexní terapie, kam bezvýhradně patří rehabilitace, avšak měla by být pravidelná, systematická a zahájena co nejdříve od stanovení diagnózy. Do léčebné rehabilitace se zařazuje řada postupů a metod, které jsou zaměřeny hlavně na ovlivnění funkcí a docílit tak maximální funkční zdatnosti pacientů. Základní složkou je fyzioterapie, která se dělí na další, které využívají různých manuálních postupů a fyzioterapeutických metod léčby. Konkrétně v případě onemocnění SMA je hlavním cílem zpomalení a zmírnění projevů onemocnění a udržení funkčních schopností [40, 44].

Jednou z nejvíce zaváděných metod fyzioterapie je tzv. Vojtova metoda neboli reflexní lokomoce. Český neurolog Václav Vojta, který v 50. letech 20. století se zasloužil ve vývoji prvotních základů reflexní lokomoce (RL). Vojtova metoda se osvědčila v terapii dětí a dospělých v různých stadiích onemocnění. Jedná se o diagnostický a léčebný princip, který je založen na předpokladu, že základní pohybové funkce jsou geneticky dány v centrálním nervovém systému. Takže tedy při poruchách motoriky a CNS je zapojení pohybových funkcí omezeno nebo úplně vyřazeno. Podle Vojty technikou lze vstoupit do tohoto geneticky daného systému a řídit ho. A to tak, že v určitých polohách pomocí přesné aplikace manuálních tlaků na spouštěcí zóny, lze vyvolat komplexní motorickou reakci. Často jsou Vojtovou metodou obnoveny zbytky hybnosti, které již byly zapomenuty a to výrazně zlepší motoriku pacienta. Mezi základní cíle Vojtovy metody patří:

- zavedení fyziologických pohybů dříve než se stanou patologickými
- obnovit fyziologické funkce svalů, které již pracovaly patologicky
- obecně změna v držení těla
- ovlivnění vegetativních funkcí a dýchání.

V celkovém měřítku pro Vojtovu metodu neexistuje kontraindikace. Pouze v případech, kdy to nedovoluje tělesný stav pacienta. Mezi hlavní výhody této techniky patří zlepšení respiračních funkcí a vegetativních funkcí vnitřních orgánů, vhodnost i pro imobilní pacienty a malé děti, prokrvení periférií a možnost aktivace ještě zachovalých svalů. Hlavní nevýhodou je nutnost terapie pod vedením odborného terapeuta a především časová a psychická zátěž jak na pacienta, tak na jeho rodinu [44].

3.4 Respirační fyzioterapie

Jedním z častých projevů spinální svalové atrofie jsou respirační poruchy způsobené atrofií kosterního svalstva potřebného pro dýchání. Zpočátku jsou především poškozeny funkce mezižeberních svalů, bránice bývá postižena až v pozdějších stádiích onemocnění. V omezení respiračních funkcí nehrají roli pouze dýchací svaly, ale také různé deformace hrudního koše a páteře. Komplikace s dýcháním se vyskytují v různé míře a u každého pacienta je to individuální. Jelikož se jedná zejména o komplikace ohrožující život pacientů, je důležité této problematice věnovat velkou péči, jakmile je SMA diagnostikováno. Proto se například využívá metod respirační fyzioterapie, neinvazivní a invazivní ventilační podpory.

U pacientů s onemocněním SMA je klíčové zahájit jak neurorehabilitaci, tak i dechovou rehabilitaci, která je především zaměřena na podporu dechových funkcí a udržení čistoty respiračních cest. Respirační fyzioterapie má své výhody v tom, že není omezená věkem pacientů ani stadiem onemocnění, a může se tak aplikovat kdykoliv. Je možné využít pasivních a aktivních technik, tak technik s dopomocí, kdy jejich volba závisí na zdravotním stavu a schopnostech pacienta. Dále je možné pro terapii použít různé pomůcky a přístroje, které léčbu usnadní. Je důležité zmínit, že je stejně důležité naučit techniky respirační fyzioterapie jak samotné pacienty, tak i jejich příslušníky rodiny, kteří to s nimi budou procvičovat a pečovat o ně.

Samotné techniky respirační fyzioterapie jsou používány v různých polohách, které zajišťujeme nastavením těla s pomocí samotných pacientů nebo v pozdějších stádiích onemocnění se využívají různé pomůcky pro udržení správné polohy. Správná poloha nastavení těla je důležitá pro případné odstranění zatěžující polohy pro dýchání. První z technik je neurofyziologická facilitace dýchání, kdy se nejčastěji jedná o manuálně vedený dechový pohyb. Jedním z příkladů je kontaktní dýchání, při kterém můžeme stimulovat jak nádech, tak i výdech. Další technikou je respirační handling, který se nejvíce využívá u novorozenců a dětí do batolecího věku, kdy se používá kombinace manuálně vedené dechové podpory a vhodného nastavení celého těla. Tato metoda se zapojuje do běžného života, to znamená při běžných aktivitách dítěte po celé dny. Poslední ze zmiňovaných technik je tzv. vibrace. Metoda prováděna rukama jiné proškolené osoby, kdy cílem je podpora relaxace, výdechu a podpora pro usnadnění pohybu sekretu v respiračních cestách. Výše zmíněné techniky lze použít u všech pacientů bez omezení, jelikož není potřeba jejich spolupráce [44].

4 DIAGNOSTIKA, KAZUISTIKA, STATISTIKA

4.1 Diagnostika spinální muskulární atrofie

4.1.1 Novorozenecký screening (NBS) na spinální muskulární atrofii

Obecně novorozenecký screening (BBS) znamená testování všech čerstvě narozených dětí v prvních dnech života na některá onemocnění, která již jsou léčitelná, ale je obtížné je diagnostikovat. NBS však poskytne možnost, zachytit poruchu dříve, než se objeví první příznaky nemoci.

Evropská aliance pro novorozenecký screening spinální muskulární atrofie zahájila program, který má zajistit novorozenecký screening SMA u nově narozených dětí ve všech státech Evropy a to nejpozději do roku 2025. V současné době screening probíhá ve většině států USA a v Evropě již probíhají některé studie. Hlavním cílem novorozeneckého screeningu je urychlit proces diagnostiky onemocnění SMA, protože právě čas hraje zásadní roli v rozsahu poškození motoneuronů a každý den navíc znamená, že je pacient blíže k významnému postižení nebo dokonce smrti. Je nutné diagnostikovat SMA včas a následně i zahájit léčbu a podpůrnou péči, aby se co nejvíce zamezilo poškození neuronů a progresi onemocnění. Včasná diagnóza je důležitá hlavně u SMA I. stupně, protože u těchto pacientů dochází k poškození již před narozením a rychle se rozvíjí. Nejtěžší stupeň SMA má často za následek smrt do dvou let, pokud není zahájena včasná léčba. Nová léčba genovou terapií, je aplikovatelná pro děti do dvou let života a právě proto je potřeba diagnostikovat onemocnění již před nástupem prvních příznaků. Protože nediodagnostikovaná nemoc znamená promarněný čas jak, pro samotné pacienty, tak pro rodinu, která prožívá psychicky náročné období [45].

Spinální svalová atrofie je ve většině případů způsobena bialelickou delecí genu SMN1 na obou chromozómech 5. Proto je také důležité zmínit, že 3-5 % novorozenců mají jiné mutace než bialelické a screening pro ně může být falešně negativní. Stanovuje se jak delece SMN1 ze vzorku krve, tak jiným testem počet kopií genu SMN2, který pomůže určit vhodnou volbu terapie. Technickým řešením je přidání testu na SMA na testovací kartu Guthrie. Jedná se neonatální krevní screeningový test krve na různé známé genetické choroby. Odběr se provádí z paty

novorozence. Přidání testu k aktuálnímu testu Guthrie by nepředstavoval velké finanční náklady a byl by vhodnou volbou [45, 46].

4.1.2 Základní diagnostika

Základem diagnostiky spinální svalové atrofie bývá rodinná anamnéza, fyzické vyšetření a dále krevní odběry. Prvními příznaky nasvědčující neurosvalovému onemocnění jsou svalová slabost a hypotonie. Dalšími příznaky k potvrzení diagnózy onemocnění mohou být potíže s motorikou či úplná ztráta pohybu, absence reflexů, jazykové fascikulace a slabost proximálního svalstva. Mezi krevní testy se často zahrnuje i test na kreatinkinázu (CK), což je enzym, který je vylučován svaly při jejich poškození. Kreatinkináza není specifickým testem pro SMA, ale ve zvýšených hladinách (maximálně pětinásobek referenčního rozmezí) se vyskytuje u mnoha neurosvalových onemocnění, a tak je často velmi užitečným parametrem. Konkrétně u pacientů se SMA I. typu je hladina CK obvykle normální, ale mírně zvýšená se může vyskytovat u typů SMA II. a III. Je ale důležité, na základě těchto testů, nezaměnit s diagnózou SMA jiná neurosvalová onemocnění jako jsou například Duchennova svalová dystrofie či myopatie [27, 39, 40].

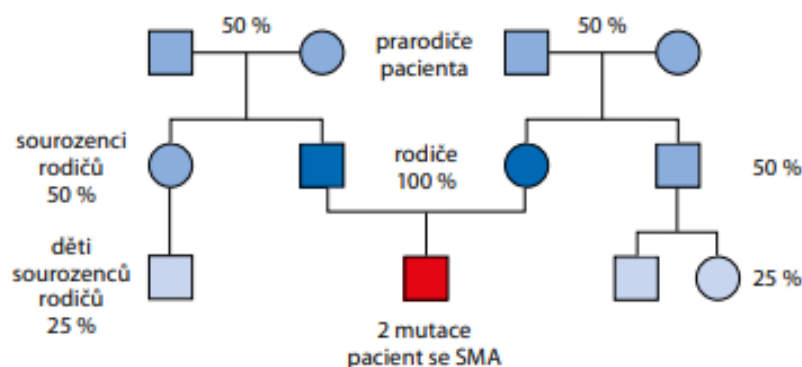
Mezi další diagnostické testy SMA se zařazuje Elektromyogram (EMG), Muskuloskeletální (MSK) ultrazvuk či biopsie svalové tkáně (obvykle ze stehna) a následně její mikroskopie. Elektromyogram je tedy test, který měří elektrickou aktivitu svalu a rychlost nervového vedení neboli rychlost, s jakou se signály šíří nervy. Při diagnostice neurosvalového onemocnění je třeba použít jehlového EMG, kdy se zavedou krátké jehly do svalu, kdy následně pacient pocítuje pouze mírné elektrošoky. Pro diagnózu SMA jsou typické nálezy fibrilací a fascikulací, prodloužená doba trvání a vysoké amplitudy akčních potenciálů, častá polyfázie a snížená interference. Dalším často využívaným vyšetřením je svalový neboli muskuloskeletální ultrazvuk, který především slouží k zobrazení svalů, šlach, kloubu, periferních nervů a cév. Ultrazvukové vyšetření je cenově dostupné, umožňuje kvalitní zobrazení struktur a také možnost vyšetření požadované oblasti v pohybu. Společně s elektromyografickým vyšetřením tvoří komplexní vyšetření, kdy k výsledkům z EMG dostaneme i informace o strukturálních patologiích [33, 39, 40, 41].

4.1.3 Genetické vyšetření

Spinální svalová atrofie je autosomálně recesivní dědičné onemocnění a z 95 % je způsobeno homozygotní delecí samotného exonu 7 nebo delecí exonu 7 společně s exonem 8 v genu SMN1 na pátém chromozómu v oblasti 5q13. Gen SMN1 a jemu téměř podobný gen SMN2 kódují SMN

protein, potřebný zejména pro motorický systém organismu. Lidský genom může mít až 8 kopií genu SMN2, který přispívá k tvorbě SMN proteinu přibližně z 10 %. Diagnostika SMA je založena na základní diagnostice jako je rodinná anamnéza a klinické vyšetření, ale především na genetickém testování, které s jistotou sdělí definitivní verdikt. Dědičnost delecí genu je tedy autosomálně recesivní, ale vzácně se vyskytují i pacienti s onemocněním vzniklým na základě mutace *de novo*. Jedná se přibližně o 2 % ze všech případů, kdy se nepotvrdí přenašečství ani u jednoho z rodičů.

Pokud se v rodině vyskytuje onemocnění SMA, doporučuje se příbuzným členům navštívit oddělení lékařské genetiky, kde podstoupí genetické vyšetření. V České republice je pro pacienty a jeho příbuzné vyšetření propláceno zdravotní pojišťovnou. Součástí vyšetření je konzultace a molekulárně genetická analýza DNA. Zdravým sourozencům pacienta, sourozencům rodičů pacienta a jejich prarodičům se doporučuje podstoupit genetické vyšetření, protože jsou z 50 % pravděpodobně přenašeči mutace onemocnění SMA. Vzdálení příbuzní už mají riziko přenašečství nižší (viz Obrázek 9).



Obrázek 8 - Rodokmen rodiny s onemocněním SMA, vyjádření pravděpodobnosti nosičství mutace genu v procentech. Zdroj: Převzato z: [8]

Samotná DNA k analýze se obvykle získává z leukocytů pacienta, tedy odběrem krve do zkumavky s protisrážlivým činidlem. Následně je DNA izolována a pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) namnoženy požadované úseky DNA, pro dostatek genetického materiálu k samotné analýze. Zkoumány jsou geny SMN1 a SMN2, kdy se stanovuje počet jejich kopií pomocí metody MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Konkrétně se vyšetřují kopie exonů 7 a 8 na obou genech, kdy patologicky důležitým je hlavně exon 7 genu SMN1 (viz Tabulka

2). Exon 8 genu SMN1 se obvykle vyskytuje ve stejném množství jako kopie exonu 7, ale asi v 5 % případů se počet kopií může lišit [47].

Tabulka 2 - Hodnocení vyšetření SMA metodou MLPA. Zdroj: Převzato z: [8]

	Gen SMN1		Hodnocení
	Exon 7	Exon 8	
počet kopií	0	0	pozitivní, diagnóza SMA
	0	1-2	pozitivní, diagnóza SMA
	1	0-2	přenašeč SMA
	2	0-2	pravděpodobně není přenašečem SMA

4.1.4 Prenatální diagnostika

Obecně prenatální diagnostika zahrnuje vyšetření ještě nenarozeného plodu tedy, aby ideálně v raném těhotenství bylo umožněno odhalit případné onemocnění či patologie. V případně prenatální diagnostiky SMA je třeba získat DNA plodu a to lze z plodové vody či choriových klků, což je součást tkáně vyvíjející se placenty. Obě varianty patří do invazivních metod a mají své klady i zápory. Jelikož se jedná o invazivní metody, tak existuje riziko komplikací v těhotenství, tou nejzávažnější je samovolný potrat. Riziko je velmi nízké (cca 0,51 %), ale existuje. Odběr choriových klků se provádí od 10. týdne těhotenství. Samotný odběr se provádí pod dohledem ultrazvuku, při lokální anestezii vpichem přes břišní stěnu, kdy se nasaje malé množství tkáně, která tedy obsahuje DNA plodu, která se následně izoluje a analyzuje v genetické laboratoři. Velkou výhodou odběru choriových klků je možnost brzkého odběru již před 12. týdnem těhotenství. Mezi nevýhody metody patří například možná kontaminace odebrané tkáně s mateřskou, kdy následně výsledek analýzy může být nejasný a musí se po konzultaci s rodiči volit další odběr, většinou už plodové vody. Druhou variantou je odběr plodové vody (aminocentéza), která se může provést již po 15. týdnu těhotenství. Provedení odběru je stejné jako u odběru choriových klků, jehlou před břišní stěnu. V plodové vodě jsou přítomny buňky ze sliznice a kůže plodu. Buněk je ale velmi malé množství, a proto se část odebraného materiálu vyšetřuje ihned po odběru a část se nechá kultivovat, aby se buňky rozmnožily a bylo jich dostatek pro analýzu. Jelikož po kultivaci odebrané plodové vody je vysoká pravděpodobnost vyloučení kontaminace tkáně matky, je vyšetření velmi spolehlivé. Výsledky se rodičům sdělují za 2-3 týdny od odběru.

Jak již bylo zmíněno, invazivní metody prenatalní diagnostiky si sebou nesou určitá rizika, ale mají i své velké výhody. Pokud se analýzou DNA potvrdí, že se u dítěte po porodu projeví SMA, rodiče mají právo se rozhodnout o osudu plodu. Těhotenství může nadále pokračovat s vědomím, že dítě onemocní nebo se můžou rozhodnout pro jeho ukončení. Jelikož SMA je kauzálně neléčitelné onemocnění, tak bohužel zatím neexistuje možnost dítě po narození vyléčit [47].

4.2 Kazuistika

Pacient č.1 - I.-II. typ SMA

Pacient č. 1 se narodil jako naprosto zdravé miminko roku 2018 v Sokolovské nemocnici. Vážil 3590 g a měřil 50 cm. Těhotenství matky a samotný porod proběhl bez jakýchkoliv komplikací. Byl zpočátku velmi šikovný a dělal jako každé zdravé miminko velké pokroky, zvedal hlavičku a s přehledem se přetáčel na břicho. Kolem pátého až šestého měsíce si ale rodiče všimli, že je něco špatně a jeho fyzický vývoj se zastavil. Nemocný přestal zvedat nožičky a nekopal s nimi. Rodiče nechtěli situaci podcenit a spoléhat, že se jedná jen o “lenost“ miminka, a tak se rozhodli jít k fyzioterapeutce. Začali cvičit Vojtovu metodu v domnění, že se jeho stav zlepší a všechno to dožene. Bohužel ani po 3 měsících intenzivního cvičení se nic nelepšilo, ale naopak chlapec přestal zvedat i hlavičku. Rodiče tedy neotáleli a vzali ho na všemožná vyšetření a navštívili specialistu, aby zjistili co mu skutečně je. Ten ho společně s matkou hospitalizoval ve FN Motol, kde podstoupil neurologické vyšetření a následně genetické testy, kde se poté rodiče malého chlapečka dozvěděli, že je podezření na velmi vzácné genetické onemocnění zvané Spinální muskulární atrofie, které se bohužel po dalších testech potvrdilo. Chlapci diagnostikovali SMA na rozmezí I.-II. typu se 3 kopiemi genu. Doktoři seznámili rodiče s onemocněním a možností léčby lékem Spinráza. Rodiče na nic nečekali a s léčbou souhlasili.

Lék Spinráza sice neumí genové onemocnění vyléčit, ale dokáže zastat práci chybějícího genu, a tak zlepšit a prodloužit nemocnému život. Hospitalizace trvala nakonec celý týden a poté ho propustili domů, aby se připravil na první aplikaci léku Spinráza, která následovala hned další týden 7.5.2019. Aplikace léku je velmi náročná a zatím se provádí pouze intratekálně tzn. podání lumbální punkcí mozkomíšního moku. Lék Spinráza je vcelku nový a také velmi drahý, cena jedné dávky se pohybuje okolo dvou milionů korun. Naštěstí FN Motol spolupracuje s Všeobecnou zdravotní pojišťovnou a není tak veškerá finanční náročnost péče o chlapce na rodičích. Následně

mu aplikaci léku podstoupil každé 4 měsíce a docházel na další kontrolní vyšetření a testy. Během aplikací začal opět válet sudy, naučil se plazit a zvedat zadeček, opět začal sám kontrolovat hlavičku. Bohužel vždy před každou další dávkou se jeho zdravotní stav zhoršil a zeslábnul. Bez aplikace léku by se jeho stav opět vysokou rychlostí zhoršil.

Za necelý rok se naskytla možnost se přihlásit do loterie o získání nejdražšího léku na světě, který navíc ještě nebyl v České republice schválen. Jedná se o genovou terapii pomocí preparátu Zolgensma. Léčba stojí v přepočtu 65 milionu korun. Jelikož rodiče věděli, že chlapec je vhodným adeptem pro tuto variantu léčby a sami nemají možnost léčbu zaplatit, neváhali a založili s pomocí MUDr. Jany Haberlové z FN Motol sbírku. Během měsíce dubna a května se podařilo vybrat dostatek financí na genovou terapii pro chlapce a dne 28.5.2020 byla genová terapie úspěšně aplikována ve FN Motol pod vedením týmu MUDr. Haberlové. Jakmile odezněly očekávané nežádoucí účinky, bylo zřejmé, že genová terapie zabrala. Chlapec začal být silnější, pásl koníky a dokonce se začal sám posazovat. Ačkoliv léčba Zolgensmou zabrala a jeho stav se výrazně zlepšil, s rodiči dochází dále na speciální rehabilitace, cvičební metody, navštěvují lázně a dochází na hipoterapii [48].

Pacientka č. 2 - I. typ SMA

Holčička se narodila jako druhá dcera před Vánocemi roku 2017. Byla naprosto vzorné miminko a neustále se na všechny usmívala. Rodiče si představovali ty nejkrásnější chvílky, co se svými dětmi v životě ještě prožijí. Nikoho v té době nenapadlo, že by mohlo být něco špatně a vše bude jednou jinak. Když miminku byl jeden měsíc, rodiče si všimli, že nenabírá na váze a má problém při kojení sát mléko. Rodiče tedy začali dávat umělé kojenecké mléko, kdy se ale osypala a následně jí byla zjištěna alergie na bílkovinu kravského mléka. Nastal tedy opět další problém, holčička musela být na speciální dietě. Asi měsíc poté, když malé holčičce bylo 8 týdnů, měli rodiče stále obavy, že něco není v pořádku. Nedokázala pást koníky, nebyla schopná si lehnout na břicho a nezvedala nožičky z podložky, postupem času jen nehnutě ležela a koukala. Ačkoliv rodičům okolí tvrdilo, že je v pořádku jen lehce opožděna, rodiče neváhali a začali problém řešit s různými lékaři až došli k nejhoršímu, kdy 13.4.2018 neurolog holčičce diagnostikoval závažné genetické onemocnění SMA I. stupně. Rodiče o nemoci skoro nic nevěděli, a už vůbec si nepředstavili, že s touto diagnózou se jejich holčička nemusí dožít prvních narozenin. Následně nastartovali rehabilitace a doma cvičili 5x denně. Bylo vidět, že to přináší úspěch a její stav se mírně zlepšil. V době, kdy holčičce diagnostikovali SMA ještě v ČR nebyla schválena genová terapie Zolgensmou. V USA probíhala 3. fáze studie genové terapie, která dle výsledků první fáze,

byla velmi úspěšná. Ačkoliv neurolog rodičům tvrdil, že dostat se do studie, kam má být zařazeno pouze 22 dětí a ještě k tomu v zahraničí, což bylo nereálné. Rodiče to přesto nevzdali a dělali s dcerou všechno pro to, aby se do studie dostala. Stal se nejspíše zázrak a velkou pílí a splněním nekonečných požadavků se tam nakonec dostali a během týdne se celá rodina přestěhovala do amerického Bostonu, kde 16.5.2018 holčičce byla aplikovaná genová terapie. Byla vůbec prvním dítětem z České republiky, které podstoupilo tuto léčbu. Následně probíhal neustálý kolotoč rehabilitací, každodenního cvičení, kdy se začala neskutečně zlepšovat. Už pro ni nebyl žádný problém sama dýchat a mluvit, polykat, dokáže s oporou sedět a s pomocí vozíčku se dokáže pohybovat.

Nyní jsou holčičce 3 roky, stále se dokáže s oporou posadit, držet hlavičku, hýbat ručičkami, mluvit a hlavně bez podpory dýchat. Stále se neplazí, neleze, nestojí a nechodí. Přesto rodiče doufají, že pravidelným cvičením jednou bude schopná se o sebe postarat a žít samostatně [49].

Pacient č. 3 - SMA III. typu v předškolním a školním věku

Pacient č. 3 se narodil v roce 2004. Bratr i rodiče jsou fenotypově zdraví, avšak přenašeči SMA. Chlapec samostatně chodil, ale kvalita chůze byla velmi nízká. Jeho stav je sledován od 3 let věku, kdy byl zařazen do mateřské školy pro rehabilitaci osob se zdravotním postižením Arpida v Českých Budějovicích. Důvodem byla především nabídka denní fyzioterapie, logopedie, ergoterapie na jednom místě, zároveň v okolí bydliště nebyla bezbariérová MŠ.

Pacient se narodil ze 3. těhotenství, matka prodělala dvakrát spontánní potrat, těhotenství proběhlo v pořádku až po IVF. Chlapec je dvojvaječné dvojče, bratr je zdravým přenašečem. Bratr byl v prvních měsících kojeneckého věku sledován kvůli asymetrii mozkových komor, proto cvičil Vojtovu metodu. Od 6. měsíce věku cvičil Vojtovu metodu i jeho bratr kvůli mírnému vývojovému zpoždění. Plazení, lezení, sed bez opory zvládal bez problémů, ale vstávání vždy až s oporou a samostatně chodil až v 15 měsících. V chůzi si byl velmi nejistý, neudržel stabilitu, kolébal se a často padal. Bylo nutné neustálé asistence, které se vyžadoval a po pádu se už sám nedokázal postavit. Lékaři měli podezření na myopatii, která však nebyla potvrzena, a tak dále cvičen Vojtovou metodou. Stav se ale nelepšil, naopak mírně zhoršoval. Ve věku 2,5 roku byla chlapci ve FN Praha-Krč diagnostikována SMA III. typu. Ve FN je také i nadále sledován, na kontrolu jezdí jednou ročně, jinak pravidelně navštěvuje specializovaného neurologa v Českých Budějovicích (kontroly jednou za 3 měsíce).

Úroveň rozumových schopností chlapce se postupně ustálila v rámci normy. Myšlenkové operace a orientace odpovídaly věku dítěte. Snažil se spolupracovat, byl však zvýšeně unavitelný

a výrazně se u něj projevovalo pomalé osobní tempo. V sebeobsluze nebyl schopen plné samostatnosti, pomoc byla nutná u osobní hygieny, oblékání apod. Po konzultaci lékaře, psychologa a speciálního pedagoga s rodiči byl chlapci navržen roční odklad školní docházky. Po dalším zvažování přesto chlapec nastoupil v 6 letech do 1. třídy základní školy spolu se svým bratrem. Po úspěšném absolvování prvního roku v této škole se rodiče rozhodli pro integraci do běžné ZŠ. Ve školním roce 2011/12 oba chlapci přestoupili do 1. třídy běžné ZŠ. Protože již chlapec ztratil schopnost samostatné chůze i stoje a je upoután na MIV, má ve škole k dispozici asistentku pedagoga. Chlapec je ve škole spokojený, má mnoho kamarádů, je komunikativní, nedělá mu problém se zapojit do kolektivu. Ve třídě je oblíben pro svou milou, otevřenou povahu [50].

4.3 Statistické hledisko

Spinální svalová atrofie je autosomální recesivně dědičné onemocnění způsobené degenerací alfa-motoneuronů předních rohu míšních, což následně způsobí svalovou atrofií. Se SMA se narodí 1 z 6 000 – 8 000 dětí na celém světě. Ve Spojených státech amerických je postiženo tímto vrozeným onemocněním 10 000 – 25 000 dětí. Přibližně 1 z 50 Američanů je nositelem genu SMA, což je okolo 6 milionů lidí ze všech obyvatel USA. Ačkoliv nositele genu nevykazují příznaky onemocnění, tak si ale ve svém genetickém kódu nosí mutaci genu SMN1, a tím jsou potenciálními přenašeči pro své potomky. Společně s ALS, cystickou fibrózou a Duchennovou svalovou dystrofií se zařazuje mezi nejčastější vzácné choroby. SMA se podle motorického vývoje dělí na pět typů, kdy SMA I. typu je nejčastější a tvoří zhruba polovinu (55 %) případů onemocnění, SMA II. typu (30 %), SMA III. typu (15 %), zatímco poslední dva typy IV. a 0. jsou spíše vzácné a představují méně než 1 % ze všech případů. Délka života pacientů se liší podle formy onemocnění. Děti s typem I často umírají před dosažením druhého roku života. Ve skutečnosti délka života často závisí na možnostech léčby a konkrétní diagnóze, a proto se mohou i pacienti s prvním typem SMA dožít dospělosti. SMA postihuje všechny rasové a etnické skupiny. V New Yorku byla vytvořena screeningová databáze frekvence přenosu u typů SMA, pomocí které bylo zjištěno, že frekvence přenosu bělošskou populací byla 1,5 %. Rychlejší frekvence byla u asijské a k pomalejšímu přenosu dochází u černošské a hispánské populace. Dále bylo zjištěno, že se vyskytují zdraví jedinci se dvěma kopiemi SMN1 genu na 5 chromozómu, kdy jedna kopie onemocnění způsobuje a druhá nikoliv [51, 52, 53, 54].

5 KLINICKÉ STUDIE

5.1 Studie aktivní léčby SRK-015 (Apitegromab) u pacientů se SMA typu II nebo III (TOPAZ)

Studie pojmenovaná TOPAZ se zabývá bezpečností a účinností preparátu SRK-015 neboli pod jiným názvem Apitegromab u pacientů se SMA II. nebo III. typu, ale také u pacientů s jinými neurosvalovými chorobami. Pacienti se SMA těchto typů se zařazují do kategorie s pozdějším nástupem onemocnění. Studie TOPAZ je nyní v druhé fázi testování a probíhá v USA i v Evropě. Studie byla zahájena v dubnu 2019 a odhadované datum dokončení se plánuje na duben roku 2023. Nakonec se studie účastní 58 pacientů ve věku od 2 do 21 let, kteří museli pro zařazení do studie splňovat určitá kritéria. Základními požadavky byly diagnóza 5q SMA a diagnostikovaná SMA pozdějšího nástupu. Dalšími jsou schopnost samostatně sedět a pohybovat se bez pomůcek, stabilní nutriční stav a v posledních 6 měsících nesměl postoupit jinou terapii než Nusinersen. Preparát SRK-015 je plně lidská anti-promyostatinová monoklonální protilátka izotopu imunoglobulinu 64/lambda, která se váže na lidský pro / latentní myostatin s vysokou afinitou. Cílem podávání léku je zlepšit motorické funkce pomocí vysoce selektivní inhibice myostatinu. Myostatin je růstovým faktorem TGF, který se vyskytuje především v buňkách kosterní svaloviny, kde inhibuje růst svalů a společně s dalšími růstovými faktory a hormony udržuje množství optimální svalové hmoty. SRK-015 se podává intravenózní infuzí každé 4 týdny po dobu 12 měsíců. Po šesti měsících od nasazení léčby se provedla první průběžná analýza a následně po 12 měsících léčby byly oznámeny nejvýznamnější výsledky a to v dubnu 2021. Účastníci byli rozděleni do tří skupin podle věku, typu SMA a předchozí terapie. První skupina zahrnovala 23 pacientů ve věku 5-21 let se SMA typu III, kteří dostávali Apitegromabu každé 4 týdny jako monoterapii nebo společně s Nusinersenem. U této skupiny byla pozorovaná průměrná změna v motorických funkcích RHS oproti původním hodnotám o 0,3 bodu. Do druhé skupiny spadalo 14 pacientů ve věku opět 5-21 let s typem SMA II nebo III, kteří zahájili léčbu Nusinersenem již v pěti letech a Apitegromab dostávali každé 4 týdny. U druhé skupiny bylo pozorované zlepšení funkcí u 64 % pacientů o 1 bod a u 29 % pacientů o 3 body. A poslední skupina byla tvořena 17 dětmi ve věku od 2 let a starší se SMA typu II, které zahájily léčbu Nusinersenem již před dosažením pěti let a dostávaly společně s Nusinersenem dvě dávky Apitegromabu. U 59 % pacientů bylo pozorováno zlepšení a u 35 % pacientů o 10 bodů. Po roce léčby pacientů se vyskytlo pět nejčastěji hlášených nežádoucích účinků: bolest hlavy, horečka, infekce horních cest

dýchacích, kašel a nasofaryngitida. Na základě pozitivních výsledků se očekává zahájení třetí fáze studie do konce roku 2021 [55, 56, 57].

5.2 Otevřená studie LMI070 (Branaplam) u SMA typu I

Jedná se o otevřenou vícedílnou studii ve fázích 1 a 2, která se zabývá novou léčbou kojenců se SMA typu I, kteří mají přesně dvě kopie genu SMN2. Studie se účastní 40 pacientů v USA i v Evropě, byla zahájena v roce 2015 a její datum dokončení se předpokládá v únoru 2023. Účelem je vyhodnotit bezpečnost, snášenlivost, účinnost, farmakokinetiku a farmakodynamiku, a také odhadnout maximální tolerovanou dávku léku a dávku, která je vhodná pro dlouhodobé užívání. Lékem je LMI070 neboli Branaplam, který se pacientům podává perorálně po dobu 13 nebo 52 týdnů a jeho účinkem má být vylepšení genu SMN2, aby se zvýšilo množství SMN proteinu vytvářeného pomocí SMN2. Do studie se bylo možno přihlásit za předpokladu, že dítě není starší více jak 182 dní a má diagnostikovanou SMA typu I s mutacemi v obou alelách genu SMN1 a má 2 kopie genu SMN2. Váha při narození více než 2 kg a starší více jak 32 týdnů. Dítě muselo být schopno prokázat sílu v obou bicepsech a bydlet od studijního centra do 2 hodin jízdy. Jelikož účastníci byli rozděleni do dvou skupin, tak každá z nich má další svá kritéria. Pro první skupinu byl podmínkou věk mezi 1-7 měsíci. Dále musel zákonný zástupce udělit souhlas se zavedením trubice či sondy pro podávání Branaplamu. Druhá skupina měla být ve věku 30-180 dnů. Také musela mít souhlas zákonného zástupce se zavedením sondy a na začátku léčby mít minimální skóre CHOP INTEND 15 (škála neuromuskulárních poruch) [58, 59, 60].

5.3 Studie Risdiplam u kojenců s geneticky diagnostikovanou a presymptomatickou SMA (Rainbowfish)

Studie pod názvem Rainbowfish je ve druhé fázi, byla zahájena v srpnu 2019 a plánované ukončení je v roce 2029. Studie se zaměřuje na kojence ve věku do 6. týdne života, u nichž byla diagnostikována SMA, ale zatím se neprojevují příznaky. Zkoumá se účinnost bezpečnost, farmakokinetika a farmakodynamiku Risdiplamu. Risdiplam je lék, jehož cílem je opravit sestřih genu SMN2. Léčba se pacientům podává perorálně jednou denně po dobu 2 let a následně se by měla následovat léčba v celkové délce nejméně 5 let. Momentálně probíhá nábor kojenců na vybraných místech po celém světě, kdy cílovým počtem je zápis 25 účastníků. Ti musí splňovat přísná kritéria pro zařazení do studie: věk do 6 týdnů, věk při porodu 37-42 týdnů, tělesná hmotnost – 3. percentil,

diagnóza 5q autosomálně recesivní SMA, absence klinických příznaků, schopnost cestování na místo studie po celou dobu jejího trvání, udělení souhlasu zákonného zástupce se zavedením trubice pro výživu a podání léčby, udělení souhlasu pro použití neinvazivní ventilace v případě potřeby [58, 61].

5.4 Studie Nusinersenu mezi účastníky se SMA, kteří dostávali Onasemnogen abeparovec (RESPOND)

Studie pod názvem RESOND byla zahájena v lednu 2021 a konec je odhadován na rok 2024. Studie je ve čtvrté fázi testování a jejím primárním cílem je vyhodnotit klinické výsledky léčby Nusinersenem u pacientů, pod jiným názvem Spinraza, kteří již dříve absolvovali léčbu Onasemnogen abeparovec neboli Zolgensmou. Druhým cílem studie je vyhodnotit bezpečnost a snášenlivost léčby Nusinersenem u těchto pacientů. Odhadovaný zápis je 60 účastníků ve Spojených státech a to ve věku od 3 do 36 měsíců věku. Účastníci dostanou Nusinersen 12 mg intratekální injekcí 1., 15., 29., a 64., den a následovně dostanou udržovací dávky léku každé 4 měsíce, 183, 302, 421, 540 a 659 dní. Podmínkami pro zařazení do studie jsou: diagnóza 5q SMA, již dříve podstoupená léčba Zolgensmou a děti, kterým se zhoršuje klinický stav. Pacienti dále nesměli již dříve absolvovat léčbu Nusinersenem nebo vykazovat nežádoucí příznaky po léčbě Zolgensmou [62].

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce bylo shrnout aktuální problematiku spinální muskulární atrofie a představit několik existujících léčebných postupů či nových metod ve fázi vývoje, které vedou ke zdokonalení symptomatické léčby, nebo by mohly vést i ke kauzální léčbě.

Bakalářská práce se skládá celkem z pěti kapitol, kdy první se zabývá historií a podstatou onemocnění. V této části je zmiňována především charakteristika spinální muskulární atrofie, tedy onemocnění postihující α -motoneurony předních rohů míšních, což následně způsobí svalovou slabost a atrofii. Dále je zde charakterizován genetický podtext onemocnění, které je klasifikováno zejména jako autosomálně recesivní. Jako poslední jsou uvedeny informace o klasifikaci, kdy se SMA dělí do pěti základních tříd podle závažnosti a věku nástupu slabostí.

Ve druhé kapitole se dozvídáme důležité informace o příčině SMA, tedy onemocnění vázaném na SMN gen. Podstatou je mutace genu SMN na pátém chromozómu oblasti v 5q11-q13. Je zde zmíněno, že se SMN gen vyskytuje ve dvou formách, a to telomerické (SMN1) a centromerické (SMN2) a liší se od sebe pouze záměnou jedné nukleové báze. Tato záměna je důvodem delece exonu 7, v některých případech může nastat i delece exonu 8, a to následně zapříčiní nefunkčnost genu a jeho neschopnost produkovat dostatečné množství SMN proteinu. Dále je popsána funkce SMN proteinu, který je pro motorické funkce organismu nezbytný.

Další kapitola je zaměřena na podstatnou část práce a to na možnosti léčby spinální muskulární atrofie, v níž jsou zmiňovány přístupy ve fyzioterapii a rehabilitacích, které mají zlepšit kvalitu a prodloužit délku života pacientů. Tato kapitola je především věnována farmakoterapii a genové terapii, jejichž včasná aplikace představuje pro některé pacienty naději v kvalitnější život. V posledních pár letech se vyvinula řada léků a metod, které v budoucnu mohou zcela SMA vyléčit. Jedním je Nusinersen (uváděn pod komerčním názvem Spinraza), což je antisense oligonukleotid aplikovaný intratekálně v několika dávkách, který má za úkol se navázat na templát RNA, vytvořený podle genu SMN2 a zvýšit inkluzi exonu 7 do SMN proteinu. Dalším lékem je perorálně podávaný Risdiplam, který funguje na stejném principu jako Spinraza. Úplnou novinkou je zcela inovativní genová terapie, která přináší velkou naději pro pacienty se SMA, která dokáže nahradit nefunkční gen, tím že zdravý gen SMN1 vnese pomocí vektoru do lidského genomu. Tato metoda je velice účinná, ale cenově mnohdy nedostupná a aplikace je možná do dvou let věku dítěte.

Čtvrtá kapitola se zabývá zejména diagnostikou onemocnění, ale také konkrétní anonymní kazuistikou pacientů postižených SMA a dále také statistickým hlediskem. Je zde komentován důraz na brzkou diagnostiku SMA, protože právě čas hraje podstatnou roli v míře poškození neuronů a progresi onemocnění. Proto se také snaží Evropská aliance pro novorozenecký screening, zavést do roku 2025 povinnost testování novorozenců na onemocnění SMA.

V poslední kapitole nalézáme informace o čtyřech klinických studiích, zabývajících se především prioritou léčby SMA. Studie probíhají v zahraničí, zvláště v USA a zabývají se prvními třemi typy SMA a dětmi či dospívajícími různých věkových kategoriích. Právě tyto studie jsou velikou nadějí pro pacienty i jejich rodiny a je důležité, aby se jim věnovala pozornost a děti trpící SMA jednou dostaly šanci být úplně vyléčeny.

7 CITOVANÁ LITERATURA

- [1] HABERLOVÁ, Jana a Petra HEDVIČÁKOVÁ. Spinální svalová atrofie v dětském věku. *Neurologie pro praxi*, 2002, č. 4., 180-182 s. [online]. 2009 Solen s.r.o. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2002/04/03.pdf>
- [2] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 40 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [3] Spinální muskulární atrofie-delece/duplikace exonu 7 a 8 v genech SMN1 a SMN2. *AeskuLab a Unilabs company: AeskuLab Patologie* [online]. Brno [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.aeskulab.cz/prehled-vysetreni-lekarske-genetiky-aeskulab-brno-ostrava/515-spinalni-muskularni-atrofie-delece-duplikace-exonu-7-a-8-v-genech-smn1-a-smn2>
- [4] HABERLOVÁ, Jana a Jolana KOPEJSKOVÁ. Spinální svalová atrofie v dětském věku – základní informace pro rodiče dětí s SMA. *Kolpingova rodina Smečno: Raná péče* [online]. 6.10.2015, [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.dumrodin.cz/clanky/spinalni-svalova-atrofie-v-detskem-veku-zakladni-informace-pro-rodice-deti-s-sma.html>
- [5] KOLB, J. Stephen and T. John KISSEL. Spinal muscular atrophy: a timely review. *Arch Neurol*, 2011, 68(8), 979-984 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860273/>
- [6] DUBOWITZ, Victor. Ramblings in the history of spinal muscular atrophy. *Neuromuscular disorders*, 2009, 19(1), 69–73 s. ISSN 0960-8966
- [7] MESSINA, Sonia and Maria SFRAMELI. New Treatments in Spinal Muscular Atrophy: Positive Results and New Challenges. *JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE*. JUL 2020, 9(7), (2222) 1-2 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7408870/>

- [8] Spinální muskulární atrofie (SMA) – molekulárně genetická analýza počtu kopií genu SMN1. *CGB laboratoř a.s.* [online]. 2016 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.pathology.cz/spinalni-muskularni-atrofie-sma-molekularne-geneticka-analyza-poctu-kopii-genu-smn1--2452.html>
- [9] GUY'S and ST. THOMAS' HOSPITAL, London, IDEAS-Genetic Knowledge Park. *Autosomálně recesivní dědičnost* [online]. 2016, březen 2008 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=448>
- [10] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 49 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [11] SLEIGH, James and Lesley LUCK. Spinal Muscular Atrophy (SMA): The Genetics of Spinal Muscular Atrophy. *SMA Europe* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/essentials/spinal-muscular-atrophy-sma/the-genetics-of-spinal-muscular-atrophy/>
- [12] HABERLOVÁ, Jana, Alžběta SLABÁ, Petra HEDVIČÁKOVÁ a Tereza Doušová. Spinální svalové atrofie – diagnostika, léčba, výzkum. *Neurol. praxi* [online], 2016 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2016/06/03.pdf>
- [13] BAKER, Mei, Robert GRIGGS, Barry BYRNE, Anne M. CONNOLLY, Richard FINKEL, Lucja GRAJKOWSKA, Amanda HAIDET-PHILLIPS, Laura HAGERTY, Robert OSTRANDER, Lianna ORLANDO, Kathryn SWOBODA, Michael WATSON and R. Rodney HOWELL. Maximizing the Benefit of Life-Saving Treatments for Pompe Disease, Spinal Muscular Atrophy, and Duchenne Muscular Dystrophy Through Newborn Screening: Essential Steps. *JAMA Neurol.* (2019). 76(8): 978-983 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31107518/>
- [14] D'AMICO, Adele, Eugenio MERCURI, Francesco D. TIZIANO and Enrico BERTINI. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis*, 71(6), 2011. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231874/>
- [15] BNS STAFF. Spinal Muscular Atrophy Type 1 Subtypes. *SMA NEWS TODAY HCP* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://hcp.smanewstoday.com/spinal-muscular-atrophy-type-1/spinal-muscular-atrophy-type-1-subtypes/>

- [16] SMA UK Information Production Team. What is 5q Spinal Muscular Atrophy? *Spinal muscular atrophy uk* [online]. září 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://smauk.org.uk/what-is-spinal-muscular-atrophy>
- [17] Rare Disease Database: Spinal Muscular Atrophy. *National Organization for Rare Disorders* [online]. 2012 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://rarediseases.org/rare-diseases/spinal-muscular-atrophy/>
- [18] Spinal Muscular Atrophy (SMA): Types of SMA. *The Muscular Dystrophy Association (MDA)* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.mda.org/disease/spinal-muscular-atrophy/types>
- [19] ISLANDER, Gunilla and Anna HELLBLOM. *Doporučení pro vedení anestezie u Spinální svalová atrofie* [online]. červen 2016, 2-3 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.orpha.net/data/patho/Ans/cs/Spinalni-svalova-atrofie-CZ.pdf>
- [20] BAIONI, T. C. Mariana and R. Celia AMBIEL. Spinal muscular atrophy: diagnosis, treatment and future prospects. *Jornal de Pediatria* [online]. 86(4), 261-270 s. 2010 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: https://www.scielo.br/pdf/jped/v86n4/en_a04v86n4.pdf
- [21] Spinální muskulární atrofie-delece/duplikace exonu 7 a 8 v genech SMN1 a SMN2. *AeskuLab a Unilabs company: AeskuLab Patologie* [online]. Brno [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.aeskulab.cz/prehled-vysetreni-lekarske-genetiky-aeskulab-brno-ostrava/515-spinalni-muskularni-atrofie-delece-duplikace-exonu-7-a-8-v-genech-smn1-a-smn2>
- [22] LOMONTE, Patrick, Faouzi BAKLOUTI and Oliver BINDA. *The Biochemistry of Survival Motor Neuron Protein Is Paving the Way to Novel Therapies for Spinal Muscle Atrophy: Biochemistry 2020* [online]. 30. března 2020, 14, 1391–1397 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biochem.9b01124>
- [23] SMN1 gene: survival of motor neuron 1, telomeric. *Medline Plus Genetics* [online]. srpen 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/smn1/#conditions>
- [24] CHAYTOW, Helena, Yu-Ting HUANG, Thomas H. GILLINGWATER and M. E. Kiterie FALLER. The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cell Mol Life Sci.* 2018, 75(21), 3877-3894 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-018-2849-1>

- [25] KOLB, J. Stephen and T. John KISSEL. Spinal muscular atrophy: a timely review. *Arch Neurol.* 2011, 68(8), 979-984 s. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860273/>
- [26] HABERLOVÁ, Jana a Jolana KOPEJSKOVÁ. Spinální svalová atrofie v dětském věku – základní informace pro rodiče dětí s SMA. *Kolpingova rodina Smečno: Raná péče* [online]. 6.10.2015, [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: <http://www.dumrodin.cz/clanky/spinalni-svalova-atrofie-v-detskem-veku-zakladni-informace-pro-rodice-deti-s-sma.html>
- [27] HABERLOVÁ, Jana a Petra HEDVIČÁKOVÁ. Spinální svalová atrofie v dětském věku. *Neurologie pro praxi*, 2002, č. 4., 180-182 s. [online]. 2009 Solen s.r.o. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2002/04/03.pdf>
- [28] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 66-111 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [29] Olesoxime. *SMA NEWS TODAY HCP* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://smanewstoday.com/olesoxime-tro19622/>
- [30] Treatments for SMA: Spinraza. *SMA Europe* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/essentials/treatments-for-sma/spinraza/>
- [31] Pharmacotherapy of Spinal Muscular Atrophy (SMA). *PREMERA BLUE CROSS* [online]. únor2021, 1-15 s. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: <https://www.premera.com/medicalpolicies/5.01.574.pdf>
- [32] CLABORN, K. Melanie, Debra L. STEVENS, Cheri K. WALKER and L. Brooke GILDON (2019). Nusinersen: Léčba spinální svalové atrofie. *Annals of Pharmacotherapy*, 53 (1), 61-69 s. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1060028018789956?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

- [33] DIVISION OF NEUROLOGY. Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy (SMA). *Children's Hospital of Philadelphia* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.chop.edu/treatments/gene-therapy-spinal-muscular-atrophy-sma>
- [34] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 55-61 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [35] ŠÍPEK, Antonín. Genová terapie. *Genetika-Biologie* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/genova-terapie>
- [36] CO JE TO BUNĚČNÁ A GENOVÁ TERAPIE? *Evropské aliance pro transformační terapie* [online]. březen 2021 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://asgent.org/cs/co-je-to-bunecna-a-genova-terapie/>
- [37] LINDBERG, Sara. Understanding Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *Healthline* [online]. únor 2021 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/spinal-muscular-atrophy/gene-therapy-for-spinal-muscular-atrophy>
- [38] KAUFMANN, Philipp, Imran KAUSAR, Kevin FOUST, Alexandre KASPAR, Brian K. KASPAR and R. Jerry MENDELL. (2019). p37 Onasemnogene abeparvovec gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy: from bench to bedside. *Thorax*. 74. A109.2 - A109. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/337213674_P37_Onasemnogene_abeparvovec_gene-replacement_therapy_for_spinal_muscular_atrophy_from_bench_to_bedside
- [39] HABERLOVÁ, Jana, Alžběta SLABÁ, Petra HEDVIČÁKOVÁ a Tereza Doušová. Spinální svalové atrofie – diagnostika, léčba, výzkum. *Neurol. praxi* [online], 2016 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2016/06/03.pdf>
- [40] Spinal Muscular Atrophy (SMA): Types of SMA. *The Muscular Dystrophy Association (MDA)* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.mda.org/disease/spinal-muscular-atrophy/types>
- [41] KULIHA, Martin. *Muskuloskeletální ultrazvuk v neurologii* [online]. duben 2017, 18 (4), 248-252 s. [cit. 2021-6-14].
Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2017/04/07.pdf>

- [42] POULOVÁ, Kristýna. Genová terapie SMA – přelom hned v několika oblastech. *ULékaře.cz* [online]. červen 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.ulekare.cz/clanek/genova-terapie-sma-prelom-hned-v-nekolika-oblastech-429127>
- [43] Databáze léčiv: ZOLGENSMA. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0238974&tab=prices>
- [44] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 66-111 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [45] European Alliance for Newborn Screening in Spinal Muscular Atrophy. Opening a new horizon for children born with SMA. *SMA Europe* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/opening-a-new-horizon-for-children-born-with-sma/>
- [46] HILL, Mark. Guthrie test-Embryology. *UNSW Embryology* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Guthrie_test
- [47] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 55-61 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [48] Adámkova cesta: Léčba a současný stav, Moje cesta. *Jdu s Adámkem ... bojujeme se SMA* [online]. 2020 [cit. 2021-6-15]. Dostupné z: <https://www.adamkovacesta.cz/>
- [49] PETROVICKÝ. Sofinčin příběh. *Naděje pro Sofínku* [online]. [cit. 2021-6-15]. Dostupné z: <https://www.nadejeprosofinku.cz/z-mamincina-denicku>
- [50] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 289-291 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [51] About SMA. *SMA Foundation* [online]. 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://smafoundation.org/about-sma/>
- [52] Clinical Review Report: Nusinersen (Spinraza): (Biogen Canada Inc.): Indication: Treatment of patients with 5q SMA. Ottawa. 12-13 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK533989/pdf/Bookshelf_NBK533989.pdf

- [53] Spinal muscular atrophy, Frequency. Medline Plus Genetics [online]. srpen 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/spinal-muscular-atrophy/#frequency>
- [54] BNF STAFF. Spinal Muscular Atrophy: Epidemiology and Genetics. *SMA NEWS TODAY HCP* [online]. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://hcp.smanewstoday.com/spinal-muscular-atrophy-epidemiology-and-genetics/>
- [55] CRAWFORD, Thomas O. Scholar Rock. An Active Treatment Study of SRK-015 in Patients With Type 2 or Type 3 Spinal Muscular Atrophy (TOPAZ). *Clinical Trails* [online]. 17. března 2021 [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03921528?recrs=ad&cond=SMA&draw=5&rank=32>
- [56] SCHOLAR ROCK. The path to novel medicines: Spinal Muscular Atrophy. *SCHOLAR ROCK* [online]. [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://scholarrock.com/our-pipeline/clinical-trials/>
- [57] SMA EUROPE. Scholar Rock announces results from TOPAZ phase 2 trial in Type 2 and 3 SMA. SMA Europe [online]. 6. dubna 2021 [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/news/scholar-rock-announces-results-from-topaz-phase-2-trial-in-type-2-and-3-sma/>
- [58] SMA EUROPE. Clinical Trials for SMA. *SMA Europe*. [online]. [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/sma-research/clinical-trials/>
- [59] GLAZMAN, M. Allan, Elena MAZZONE, Marion MAIN, Marco PELLICIONI, John WOOD, Kathryn SWOBODA, Charles SCOTT, Marika PANE, Sonia MESSINA, Enrico BERTINI, Eugenio MERCURI and Richard FINKEL. The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): test development and reliability. *Neuromuscul Disord*. 2010, 20(3), 155-161. [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3260046/>

- [60] NOVARTIS PHARMACEUTICALS. An Open Label Study of LMI070 (Branaplam) in Type 1 Spinal Muscular Atrophy (SMA). *Clinical Trails* [online]. 7.května 2021 [cit. 2021-6-18].
Dostupné z:
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02268552?recrs=ad&cond=SMA&draw=3&rank=9>
- [61] HOFFMANN-LA ROCHE. A Study of Risdiplam in Infants With Genetically Diagnosed and Presymptomatic Spinal Muscular Atrophy (Rainbowfish). *Clinical Trails* [online]. 7. června 2021 [cit. 2021-6-18].
Dostupné z:
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03779334?term=rainbow+fish&cond=SMA&draw=2&rank=1>
- [62] BIOGEN. A Study of Nusinersen Among Participants With Spinal Muscular Atrophy Who Received Onasemnogene Apeparvovec (RESPOND). *Clinical Trails* [online]. 16. května 2021 [cit. 2021-6-18]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04488133>
- [63] MAXDORF. Velký lékařský slovník [online]. 1998-2021 [cit. 2021-06-27]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/>.

8 ZDROJE OBRÁZKŮ

- [1] KOLB, J. Stephen and T. John KISSEL. Schematic of SMN gene. *NIH Public Access: Spinal Muscular Atrophy* [online]. 2011, 9 s. [cit. 2021-6-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3860273/pdf/nihms518569.pdf>
- [2] GUY'S and ST. THOMAS' HOSPITAL, London, IDEAS-Genetic Knowledge Park. *Autosomálně recesivní dědičnost* [online]. 2016, březen 2008 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=448>
- [3] KOČOVÁ, Helena. *Spinální svalová atrofie v souvislostech*. Praha: Grada Publishing, 2017. 52 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [4] GAILLYOVÁ, Renata. *Klinická genetika, genetické poradenství, cytogenetika, DNA diagnostika* [online]. LF MU, 2010, 33 s. [cit. 2021-6-15]. Dostupné z: <https://slidetodoc.com/klinick-genetika-genetick-poradenstv-cytogenetika-dna-diagnostika-od-7/>
- [5] GUY'S and ST. THOMAS' HOSPITAL, London, IDEAS-Genetic Knowledge Park. *Autosomálně recesivní dědičnost* [online]. 2016, březen 2008 [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=448>
- [6] LOMONTE, Patrick, Faouzi BAKLOUTI and Oliver BINDA. *The Biochemistry of Survival Motor Neuron Protein Is Paving the Way to Novel Therapies for Spinal Muscle Atrophy: Biochemistry 2020* [online]. 30. března 2020, 14, 1391–1397 s. [cit. 2021-6-14]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biochem.9b01124>
- [7] GUBITZ, Amelie K., Wenqin FENG and Gideon DREYFUSS. *Komplex SMN: SMN komplex* [online]. květen 2014, 296(1), 51-56 [cit. 2021-7-2]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014482704001338?via%3Dihub>
- [8] KOČOVÁ, Helena. *Spinální svalová atrofie v souvislostech*. Praha: Grada Publishing, 2017. 59 s. ISBN 978-80-271-9639-5

9 ZDROJE TABULEK

- [1] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 66-70 s. ISBN 978-80-271-9639-5
- [2] Treatments for SMA: *SMA Europe* [online]. [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: <https://www.sma-europe.eu/essentials/treatments-for-sma/>
- [3] Olesoxime. *SMA NEWS TODAY HCP* [online]. [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: <https://smanewstoday.com/olesoxime-tro19622/>
- [4] PARSONS, Lucy. *Roche scores FDA approval for SMA drug risdiplam, now named Evrysdi* [online]. říjen 2020 [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: http://www.pmlive.com/pharma_news/roche_scores_fda_approval_for_sma_drug_risdiplam,_now_named_evrysdi_1346658
- [5] EUROPEAN MEDICINES AGENCY. *Risdiplam* [online]. březen 2019 [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu3192145>
- [6] NOVARTIS PHARMACEUTICALS. An Open Label Study of LMI070 (Branaplam) in Type 1 Spinal Muscular Atrophy (SMA). *Clinical Trails* [online]. 7.května 2021 [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02268552?recrs=ad&cond=SMA&draw=3&rank=9>
- [7] CRAWFORD, Thomas O. Scholar Rock. An Active Treatment Study of SRK-015 in Patients With Type 2 or Type 3 Spinal Muscular Atrophy (TOPAZ). *Clinical Trails* [online]. 17. března 2021 [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03921528?recrs=ad&cond=SMA&draw=5&rank=32>
- [8] KOČOVÁ, Helena. Spinální svalová atrofie v souvislostech. Praha: Grada Publishing, 2017. 57 s. ISBN 978-80-271-9639-5