

## Posibilidades de tratamiento en la atrofia espinal infantil

Samuel I. Pascual-Pascual, Mar García-Romero

**Resumen.** Se revisan los nuevos tratamientos de la atrofia muscular espinal (AME) producida por delección del gen *SMN1*. Se describen las diferentes posibilidades de incrementar la proteína SMN, de su actividad y persistencia en el organismo. Fármacos neuroprotectores, como olesoxime y riluzol, y fármacos que actúan epigenéticamente, como inhibidores de histona deacetilasa, han mostrado cierto efecto positivo en fases preclínicas pero no han conseguido eficacia en los ensayos clínicos. Podrían proporcionar en un futuro un beneficio añadido a otros fármacos modificadores genéticos. Los mayores cambios en estudios de modelos del ratón SMA y en fases clínicas se han encontrado con oligonucleótidos antisentido que modifican el *splicing* del gen *SMN2*, y se espera que mejoren en el futuro próximo. Recientemente se ha aprobado el nusinersen, un metoxietilo fosforotioato-oligonucleótido antisentido, para uso en pacientes con AME de tipo I una vez demostrada su eficacia en pacientes en el ensayo en fase 3. Se revisan los resultados de este fármaco. Están en marcha modificaciones de oligonucleótidos antisentido que amplíen la liberación en el sistema nervioso y en tejidos periféricos. Hay datos que sugieren eficacia de la terapia génica introduciendo el gen *SMN1* mediante virus adenoasociados, actualmente en fase clínica 1. Una constante en estos nuevos tratamientos es que los resultados se optimizan en las etapas precoces de la enfermedad y, mejor aún, en estadio presintomático. Se subraya la importancia de los cuidados generales óptimos, especialmente nutricionales y respiratorios, para conseguir los mejores resultados con las nuevas terapias.

**Palabras clave.** Atrofia muscular espinal. Enfermedad de Kugelberg-Wellander. Enfermedad de Werdnig-Hoffmann. Oligonucleótidos antisentido. Tratamiento genético.

### Introducción

Las atrofas musculares espinales (AME) son un grupo de trastornos genéticos producidos por degeneración de las motoneuronas del asta anterior medular que ocasionan debilidad muscular progresiva. La más frecuente de ellas es la debida a la alteración del gen *SMN1*, localizado en el cromosoma 5q13, que produce atrofia muscular progresiva de predominio proximal y de un amplio espectro de gravedad. Fue primeramente descrita por Werdnig (1890) [1] y Hoffmann (1983) [2]. Tiene una herencia autosómica recesiva. La AME sigue un espectro continuo de gravedad, pero se distinguen cuatro tipos [3]:

- *Tipo 1 o enfermedad de Werdnig-Hoffmann:* es la más grave. Los niños nunca consiguen la sedestación pasiva y su evolución natural es el fallecimiento antes de cumplir 2 años en más del 80% de los casos.
- *Tipo 2 o intermedia:* descrita por Byers y Banker [4] y posteriormente por Dubowitz [5], la debilidad suele comenzar en el segundo semestre de vida y los niños consiguen la sedestación pasiva, pero no llegan a dar pasos sin ayuda.
- *Tipo 3 o enfermedad de Kugelberg-Wellander:* sus síntomas se hacen evidentes a los 2-3 años y los

niños consiguen la marcha independiente, pero gran parte la pierden a lo largo de su evolución [6].

- *Tipo 4:* más leve y de comienzo en la edad adulta.

La AME ligada al gen *SMN1* tiene una incidencia de 1/6.000 a 1/11.000 nacidos vivos, sin diferencias importantes entre etnias. La mitad corresponden al tipo 1. La frecuencia de portadores heterocigotos de la mutación de *SMN1* (*survival motoneuron 1*) es de 1/40 a 1/70 [7]. A pesar de ello, la incidencia actual en nuestro medio probablemente ha disminuido desde que se cuenta con el diagnóstico y consejo genético a los padres portadores y sus familiares cercanos.

Todas las AME se deben a una delección homocigota o a una mutación de *SMN1* [8], que ocasiona ausencia de la proteína SMN. El 95-98% portan una delección homocigota del exón 7 de *SMN1*, y un 2-5%, una heterocigosidad compuesta (de una delección *SMN1* y otra mutación intragénica de éste) [9,10].

El ser humano tiene una o más copias de este gen en un nivel más centromérico en el mismo cromosoma 5q, denominado gen *SMN2*. Éste tiene una mínima diferencia de unos pocos nucleótidos respecto de *SMN1*, pero funcionalmente la diferencia es muy importante [11]. Uno de estos nucleótidos

Servicio de Neurología Pediátrica.  
Hospital Universitario La Paz.  
Universidad Autónoma de Madrid.  
Madrid, España

#### Correspondencia:

Dr. Samuel Ignacio Pascual Pascual.  
Servicio de Neurología Pediátrica.  
Hospital Universitario La Paz. Paseo  
de la Castellana, 261. E-28046  
Madrid.

#### E-mail:

sipascual@telefonica.net

#### Declaración de intereses:

Los autores participan como investigadores en el ensayo clínico de fase 3 ENDEAR para evaluar la eficacia y seguridad del fármaco ISIS396443 administrado intratecalmente en pacientes con atrofia muscular espinal de tipo I. No declaran otro conflicto de interés.

#### Aceptado:

10.04.17.

#### Cómo citar este artículo:

Pascual-Pascual SI, García-Romero M. Posibilidades de tratamiento en la atrofia espinal infantil. Rev Neurol 2017; 64 (Supl 3): S19-24.

© 2017 Revista de Neurología

suprime el ensamblaje (*splicing*) del exón 7 en más del 80% de los transcritos de *SMN2*, lo que reduce la proteína SMN funcional a alrededor de un 10% de la producida por el gen *SMN1* normal [12]. La ausencia de la copia complementaria *SMN2* es letal para el feto con delección del gen *SMN1* [13]. Los pacientes con AME tienen varias copias de *SMN2*: a mayor número de ellas, mayor proporción de proteína SMN funcional y menor gravedad de la enfermedad. Hay una correlación inversa entre el número de copias *SMN2* y la gravedad. La mayor parte de las AME tipo 1 tienen dos copias; las AME tipo 2, de dos a cuatro copias, y las AME tipo 3, habitualmente cuatro o más copias [14]. No obstante, otros genes, polimorfismos del gen *SMN2* o factores epigenéticos, modifican la expresión de la enfermedad porque la correlación del fenotipo clínico con el número de copias de *SMN2* no es perfecta, como tampoco lo es su relación con la proporción de proteína SMN [15]. Si bien el gen *SMN* afecta especialmente a la supervivencia y función de las motoneuronas espinales [16,17], también tiene otras funciones menos llamativas en tejido cerebral, cardíaco y vascular y en el sistema sensitivo y autonómico [18,19], pero que pueden llegar a constituir dianas a tener en cuenta en futuras terapias.

## Tratamiento

El tratamiento de la AME es en la actualidad paliativo. Hay acuerdo general en seguir los cuidados estándares, que mejoran sin duda la esperanza y la calidad de vida, si bien no consiguen hacer ganar adquisiciones motoras [20,21]. Son especialmente básicos los cuidados nutricionales, respiratorios y ortopédicos (éstos últimos principalmente en las AME tipo 2 y 3), y se hacen todavía más importantes en la medida en que surgen tratamientos específicos de esta enfermedad. Hay consenso mayoritario sobre el papel fundamental del cuidado nutricional y respiratorio para mejorar los resultados de los ensayos de los nuevos fármacos [22].

En los últimos años se han probado tratamientos específicos, con diferentes mecanismos de acción, que pueden clasificarse en diversos tipos.

En primer lugar, neuroprotectores como olesoxime o riluzol tratan de prolongar la vida de la proteína SMN [23]. No han demostrado utilidad clínica relevante, pero es posible que puedan desempeñar un papel complementario en un futuro al actuar sinérgicamente con otros fármacos de mayor eficacia.

En segundo lugar, existen los tratamientos que buscan aumentar la expresión del gen *SMN2* [21],

como los inhibidores de histona deacetilasa. El ácido valproico [24], el butirato sódico, el fenilbutirato [25], la hidroxurea [26], el albuterol [27] y la trichostatina [28], entre otros, se han probado una vez que han mostrado potencial actividad en estudios celulares y modelos murinos de AME, pero no han resultado eficaces en estudios clínicos [29-31].

Los tratamientos que en modelos murinos muestran mejores resultados son los oligonucleótidos antisentido y la terapia genética con virus adenoasociados [32]. Mejoran en gran proporción la supervivencia de los ratones SMA, muy superior a la conseguida por los compuestos anteriormente citados.

## Oligonucleótidos antisentido

Interactúan con el pre-ARNm modificando el *splicing* de diferentes genes y, en lo que respecta a la AME, mejorando la transcripción *SMN2* [33].

Los oligonucleótidos antisentido son análogos a secuencias específicas de ARN que se unen al pre-ARN y omiten o añaden exones en su transcripción a ARNm [34]. Se acoplan a moléculas diferentes, como fosforotioatos o morfolinós, que les confieren estabilidad, resistencia a endonucleasas y mejoran su penetración en tejidos y células [35]. Unidos a péptidos, los oligonucleótidos antisentido pueden incrementar la penetración celular.

En el caso de la AME, el oligonucleótido antisentido que inhibe al silenciador del *splicing* N1 (ISSN1), situado en el intrón 7 del gen *SMN2*, promueve la inclusión del exón 7 en el ARNm (*full length SMN2*) y permite formar la proteína completa [36,37]. Mejora el fenotipo de modelos murinos de AME, inyectados vía intraventricular [38]. Los oligonucleótidos antisentido modificados mejor estudiados hasta el momento no atraviesan la barrera hematoencefálica, por lo que deben introducirse por vía intratecal [39]. Uno de ellos, el nusinersen (previamente conocido como ISIS-SMN<sub>Rx</sub> y como ISIS 396443), es un oligonucleótido antisentido modificado, compuesto por 18 nucleótidos unidos a un esqueleto 2'-O-metoxietilo fosforotioato (MOE), que se une al pre-ARNm del gen *SMN2* y promueve la inclusión del exón 7, con lo que incrementa la producción de proteína SMN. Ha pasado las etapas de estudio preclínicas y clínicas. En modelos murinos incrementa la proteína SMN en diversas zonas del sistema nervioso central y mejora la función motora [33,38].

El ensayo clínico en fase 1 probando dosis diferentes (1, 3, 6 y 9 mg) en 28 pacientes de 2-14 años, con AME tipos 2 y 3, mostró concentraciones de nusinersen en sangre y en líquido cefalorraquídeo












en correlación directa con la dosis inyectada. La persistencia del fármaco en el líquido cefalorraquídeo es superior a 4-6 meses. Se consiguió una mejora significativa de la actividad motora de los pacientes tratados con la dosis de 9 mg, medida con la escala de Hammersmith [40]. No mostró efectos secundarios importantes y no correlacionados con la dosis [41]. Los efectos adversos fueron los esperados por el procedimiento de punción lumbar [42].

Estos resultados dieron paso a un ensayo en fase 2 en niños con AME tipo I cuyos resultados se han publicado recientemente [43]. Se trataron 20 niños menores de 7 meses de edad diagnosticados de AME 1, con dos o tres copias del gen *SMN2*. Por vía intratecal se les inyectaron dosis de 6 y 12 mg. Se confirmó la seguridad del fármaco y la mejora significativa en la evolución motriz medida por las escalas de Hammersmith (Figura) y CHOP-INTEND [44]. La proporción de niños vivos, libres de ventilación invasiva y que tampoco necesitaban ventilación no invasiva más de 16 horas diarias, fue superior a la observada en la evolución natural histórica de la AME tipo I [45,46]. Se midieron también los potenciales evocados motores al estimular los nervios cubital y peroneal, que aumentaron respecto a su valor previo al tratamiento, lo que expresa la mayor potencia de contracción muscular en los músculos inervados por estos nervios. El análisis del tejido nervioso de los pacientes tratados que fallecieron demostró que el fármaco era captado por las neuronas motoras a lo largo de la médula, tronco cerebral y cerebro, y que se conseguía un aumento del transcrito completo ARNm del gen *SMN2* con el exón 7 (*full length SMN2*) y de la proteína SMN en la medula espinal.

En 2014 se autorizaron dos ensayos multicéntricos en fase 3 de nusinersen, uno para niños con AME 1 (ENDEAR) y otro para niños con AME 2 y 3 (CHERISH), cuyos resultados definitivos están pendientes.

El estudio ENDEAR de pacientes con AME 1 ha seleccionado 121 niños menores de 7 meses, todos ellos con dos copias *SMN2*, al objeto de poder comparar mejor los resultados en una población más uniforme. La proporción de tratados/procedimiento simulado fue de 2 a 1. Los tratados recibieron nusinersen intratecal en dosis de 12 mg los días 1, 15, 29, 64 y, posteriormente, cada cuatro meses. Al cabo de los 12 meses, todos pasarían a tratarse con nusinersen hasta conocerse los resultados. Los objetivos primarios planteados son valorar la supervivencia libre de ventilación (que no reciban ventilación invasiva ni tampoco ventilación no invasiva más de 16 horas diarias durante tres semanas) y el

Figura. Escala de Hammersmith (*Hammersmith Infant Neurological Exam –part 2*).

PUNTUACION	0	1	2	3	4
<b>Head control</b>	Unable to maintain head upright normal up to 3m	Wobbles normal up to 4m	Maintained upright all the time normal from 5m		
<b>Sitting</b>	Cannot sit	With support at hips  normal at 4m	Props  normal at 6m	Stable sit  normal at 7-8m	Pivots (rotates)  normal at 9m
<b>Voluntary grasp – note side</b>	No grasp	Uses whole hand	Index finger and thumb but immature grasp	Pincer grasp	
<b>Ability to kick in supine</b>	No kicking	Kicks horizontally but legs do not lift	Upward (vertically)  normal at 3m	Touches leg  normal at 4-5m	Touches toes  normal at 5-6m
<b>Rolling</b>	No rolling	Rolling to side (normal at 4m)	Prone to supine (normal at 6 m)	Supine to prone (normal at 6 m)	
<b>Crawling or bottom shuffling</b>	Does not lift head	On elbow  (normal at 3 m)	On outstretched hand  (normal at 4m)	Crawling flat on abdomen  (normal at 8m)	Crawling on hands and knees  (normal at 10m)
<b>Standing</b>	Does not support weight	Supports weight (normal at 4m)	Stands with support (normal at 7m)	Stands unaided (normal at 12m)	
<b>Walking</b>		Bouncing (normal at 6m)	Cruising (walks holding on) (normal at 12m)	Walking independently (normal by 15m)	

desarrollo motor según la escala de Hammersmith [40], con definición previa de los criterios de mejoría. Se preprogramó un análisis preliminar de los resultados cuando 80 pacientes hubieran sido tratados durante seis meses. El resultado ha sido muy positivo, encontrando diferencia significativa entre aquellos tratados y los que recibieron el procedimiento simulado. Ningún paciente con tratamiento simulado mejoró en la escala de Hammersmith (Figura) dos puntos en el parámetro de movimiento de las piernas o un punto en el resto de los parámetros, mientras que lo consiguió el 41% de los tratados con nusinersen ( $p = 0,000027$ ). En cuanto a la supervivencia libre de ventilación, en el grupo tratado fue del 61%, y en el simulado, del 32% ( $p = 0,0046$ ). Los resultados de los tratados con nusinersen fueron similares a los conseguidos en el ensayo en fase 2, con tendencia a la mejora progresiva del desarrollo motor conforme pasa el tiempo [47]. Con estos datos se decidió que todos los pacientes pasaran a ser tratados durante el resto del ensayo (fase abierta). La Agencia Europea del Medicamento ha autorizado el uso compasivo del fármaco para las AME 1.

En cuanto a las AME más leves, el estudio en fase 1b/2a de nusinersen en niños con AME 2 y 3 (estudio CS2, actualmente en marcha en fase de extensión) engloba 28 pacientes y su evolución muestra progresivas adquisiciones motoras en la escala de Hammersmith y aumento de la distancia recorrida en la marcha en seis minutos (6MWT) [48].

El tratamiento con nusinersen de lactantes con AME presintomáticos (estudio NURTURE, fase 2), que engloba a 17 casos tratados muy precozmente, en el 74% desde el primer mes de vida, notifica resultados mejores que los del estudio ENDEAR, lo que indica que la precocidad del tratamiento es un aspecto importante [49].

En diciembre de 2016, el nusinersen fue aprobado por la FDA estadounidense para tratamiento de la AME tanto de niños como de adultos [50] (Spinraza<sup>®</sup>). Hasta el momento, es el único tratamiento específico disponible para esta enfermedad y constituye un hito en el desarrollo de los oligonucleótidos que modulan el *splicing* de ARN [51], aplicables a muchas enfermedades genéticas [35].

El tratamiento intratecal con oligonucleótidos antisentido, tanto MOE como morfolinós, modifica las alteraciones de las motoneuronas, el aspecto más importante de la enfermedad [52], siendo mucho más eficaz si el tratamiento es precoz. Sin embargo, como ya se ha expuesto, la ausencia de proteína SMN también repercute en otros tejidos periféricos. Los oligonucleótidos antisentido MOE han resultado recientemente muy eficaces por vía sistémica en el ratón SMA grave neonato presintomático [53].

También se ha probado una modificación de oligonucleótidos antisentido, un péptido altamente activo (Pip6a) conjugado a un oligómero fosforodiamitato morfolino, que permite la liberación eficiente por vía intravenosa y consigue penetración tisular en todos los órganos, incluido el cerebro y la médula, y aumento paralelo de expresión de la proteína SMN en todos ellos en el modelo del ratón taiwanés SMA. Mejora profundamente el fenotipo del ratón y prolonga su vida, que pasa de 12 a 456 días [54]. La corrección de la afectación del sistema nervioso central y de las alteraciones extraneurológicas de la AME probablemente es un aspecto importante en el tratamiento futuro de la enfermedad. Es de esperar que estos avances farmacológicos lleguen en años próximos a fases clínicas.

Otras moléculas pequeñas modifican, de algún otro modo no completamente comprendido, la expresión de *SMN2*. Roche ha desarrollado una de ellas [55], que se está probando en ensayo clínico en fase 1 en tratamiento oral (NCT02633709/RG7916/RO7034067, ensayos SUNFISH y FIREFISH), y Novartis, otra molécula en prueba en ensayo clínico en fase 1/2 (NCT02268552/LMI070) [56]. Estas moléculas parecen penetrar en el sistema nervioso central atravesando la barrera hematoencefálica. No está claro que puedan ser muy efectivos como tratamiento único, pero podrían ser sinérgicos con otros tratamientos que aumenten la proteína SMN [56].

### Tratamiento genético, introduciendo el gen *SMN1* mediante un virus adenoasociado

Numerosos datos avalan la terapia con virus adenoasociados (AAV) como vectores genéticos en diversas enfermedades, siendo el scAAV serotipo 9 y el AAVrh 10 los que muestran mayor potencial de penetración en el sistema nervioso central y en el tejido muscular esquelético [57,58]. La terapia génica se ha mostrado útil en el modelo del ratón SMA. La introducción por vía intravenosa del gen *SMN* mediante scAAV9 consigue cruzar la barrera hematoencefálica y expresar altos niveles de proteína en el encéfalo, incrementando más de 10 veces la vida del ratón SMA y libre de debilidad muscular [59,60]. La eficacia parece ser mayor cuanto más precoz es el tratamiento.

Está en marcha un ensayo en fase 1 en humanos con AME tipo 1 (AVXS-101, NCT02122952 [61]). Se prueban dos diferentes dosis ( $6,7 \times 10^{13}$  o  $2,0 \times 10^{14}$  vg/kg) aplicadas en una sola infusión intravenosa y los resultados preliminares indican muy buenos resultados. El promotor notifica una mejoría de la función motora en todos los casos, que es mayor en los que reciben la dosis más alta. Once de los 12 casos tratados con la dosis alta consiguieron control cefálico, volteo y sedestación pasiva estable. No se notifican efectos adversos relacionados con el tratamiento. Se espera poder iniciar un ensayo en fase 3 en AME tipo 1 a finales de 2017.

### Terapia con células madre

La terapia con células madre pluripotenciales, generadas de fibroblastos corregidos genéticamente procedentes de pacientes con AME, induce mejoría del fenotipo cuando se trasplantan al ratón SMA [62]. Es probable que consigan un beneficio terapéutico protegiendo las motoneuronas funcionantes, pero esta terapia todavía se encuentra en estado preclínico [63].

### Conclusiones

Hay múltiples vías de investigación de tratamientos específicos de la AME, algunas de las cuales han mostrado eficacia en pacientes en ensayos clínicos. Uno de los fármacos, el nusinersen, ya se ha aprobado para su uso clínico por eficacia y seguridad. Nuevas modificaciones de oligonucleótidos antisentido en investigación incrementan la penetración en los tejidos y probablemente mejoren los resultados. Nunca antes ha sido tan importante el



diagnóstico y tratamiento precoces, ya que los resultados de las nuevas terapias se relacionan directamente con el tratamiento temprano. Es más importante si cabe seguir las recomendaciones de los cuidados estándares de la enfermedad, especialmente de la nutrición, del cuidado respiratorio y el mantenimiento del rango de movimiento de las articulaciones porque la mejoría alcanzada depende también del buen estado general del paciente.

### Bibliografía

1. Werdnig G. Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis. *Arch Psychiatr Neurol* 1891; 22: 437-81.
2. Hoffmann J. Ueber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer Basis. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1893; 3: 427-70.
3. Dubowitz V. Chaos in the classification of SMA: a possible resolution. *Neuromuscul Disord* 1995; 5: 3-5.
4. Byers RK, Banker BQ. Infantile muscular atrophy. *Arch Neurol* 1961; 5: 140-64.
5. Dubowitz V. Infantile muscular atrophy. a prospective study with particular reference to a slowly progressive variety. *Brain* 1964; 87: 707-18.
6. Kugelberg E, Welander L. Heredofamilial juvenile muscular atrophy simulating muscular dystrophy. *Arch Neurol Psychiatry* 1956; 75: 500-9.
7. Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, Akmaev VR, Zhou Z, Rohlf EM, et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 27-32.
8. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155-65.
9. Darras BT. Spinal muscular atrophies. *Pediatr Clin N Am* 2015; 62: 743-66.
10. Markowitz JA, Singh P, Darras BT. Spinal muscular atrophy: a clinical and research update. *Pediatr Neurol* 2012; 46: 1-12.
11. Monani UR, Lorson CL, Parsons DW, Prior TW, Androphy EJ, Burghes AH, et al. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1177-83.
12. Lorson CL, Androphy EJ. An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene SMN. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 259-65.
13. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, Snyder PJ, Sedra MS, Wirth B, et al. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med* 2002; 4: 20-6.
14. Feldkotter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 358-68.
15. Sumner CJ, Kolb SJ, Harmison GG, Jeffries NO, Schadt K, Finkel RS, et al. SMN mRNA and protein levels in peripheral blood: biomarkers for SMA clinical trials. *Neurology* 2006; 66: 1067-73.
16. Kariya, S, Obis T, Garone C, Akay T, Sera F, Iwata S, et al. Requirement of enhanced survival motoneuron protein imposed during neuromuscular junction maturation. *J Clin Invest* 2014; 124: 785-800.
17. Oprea GE, Kröber S, McWhorter ML, Rossoll W, Müller S, Krawczak M, et al. Platin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Science* 2008; 320: 524-7.
18. Tisdale S, Pellizzoni L. Disease mechanisms and therapeutic approaches in spinal muscular atrophy. *J Neurosci* 2015; 35: 8691-700.
19. Rudnik-Schöneborn S, Goebel HH, Schlote W, Molaian S, Omran H, Ketelsen U, et al. Classical infantile spinal muscular atrophy with SMN deficiency causes sensory neuronopathy. *Neurology* 2003; 60: 983-7.
20. Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, Schroth M, Simonds A, Wong B, et al. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol* 2007; 22: 1027-49.
21. Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges. *Lancet Neurol* 2012; 11: 443-52.
22. Finkel RS, Bishop KM, Nelson RM. Spinal muscular atrophy type I: is it ethical to standardize supportive care intervention in clinical trials? *J Child Neurol* 2017; 32: 155-60.
23. Calder AN, Androphy EJ, Hodgetts KJ. Small molecules in development for the treatment of spinal muscular atrophy. *J Med Chem* 2016; 59: 10067-83.
24. Swoboda KJ, Scott CB, Crawford TO, Simard LR, Reyna SP, Krosschell KJ, et al. SMA CARNIVAL trial part I: double-blind, randomized, placebo-controlled trial of L-carnitine and valproic acid in spinal muscular atrophy. *PLoS One* 2010; 5: e12140.
25. Mercuri E, Bertini E, Messina S, Solari A, D'Amico A, Angelozzi C, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of phenylbutyrate in spinal muscular atrophy. *Neurology* 2007; 68: 51-5.
26. Chen TH, Chang JG, Yang YH, Mai HH, Liang WC, Wu YC, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of hydroxyurea in spinal muscular atrophy. *Neurology* 2010; 75: 2190-7.
27. Tiziano FD, Lomastro R, Pinto AM, Messina S, D'Amico A, Fiori S, et al. Salbutamol increases survival motor neuron (SMN) transcript levels in leucocytes of spinal muscular atrophy (SMA) patients: relevance for clinical trial design. *J Med Genet* 2010; 47: 856-8.
28. Narver HL, Kong L, Burnett BG, Choe DW, Bosch-Marcé M, Taye AA, et al. Sustained improvement of spinal muscular atrophy mice treated with trichostatin A plus nutrition. *Ann Neurol* 2008; 64: 465-70.
29. Mohseni J, Zabidi-Hussin ZA, Sasongko TH. Histone deacetylase inhibitors as potential treatment for spinal muscular atrophy. *Genet Mol Biol* 2013; 36: 299-307.
30. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal muscular atrophy. *Neurol Clin* 2015; 33: 831-46.
31. Wadman RI, Bosboom WM, Van der Pol WL, Van den Berg LH, Wokke JH, Iannaccone ST. Drug treatment for spinal muscular atrophy types II and III. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 18: CD006282.
32. Seo J, Howell MD, Singh NN, Singh RN. Spinal muscular atrophy: an update on therapeutic progress. *Biochim Biophys Acta* 2013; 183: 22180-90.
33. Hua Y, Vickers TA, Okunola HL, Bennett CF, Krainer AR. Antisense masking of an hnRNP A1/A2 intronic splicing silencer corrects SMN2 splicing in transgenic mice. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 834-48.
34. Potaczek DP, Garn H, Unger SD, Renz H. Antisense molecules: a new class of drugs. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1334-46.
35. Pascual-Pascual SI. Tratamiento con oligonucleótidos antisentido en la enfermedad de Duchenne. *Rev Neurol* 2012; 54 (Supl 3): S31-9.
36. Singh NK, Singh NN, Androphy EJ, Singh RN. Splicing of a critical exon of human survival motor neuron is regulated by a unique silencer element located in the last intron. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 1333-46.
37. Hua Y, Vickers TA, Baker BF, Bennett CF, Krainer AR. Enhancement of SMN2 exon 7 inclusion by antisense oligonucleotides targeting the exon. *PLoS Biol* 2007; 5: e73.
38. Hua Y, Sahashi K, Hung G, Rigo F, Passini MA, Bennett CF, et al. Antisense correction of SMN2 splicing in the CNS rescues necrosis in a type III SMA mouse model. *Genes Dev* 2010; 24: 1634-44.
39. Geary RS, Yu RZ, Levin AA. Pharmacokinetics of phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotides. *Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2: 562-73.
40. Frisone MF, Mercuri E, Laroche S, Foglia C, Maalouf EF,

- Haataja L, et al. Prognostic value of the neurologic optimality score at 9 and 18 months in preterm infants born before 31 weeks' gestation. *J Pediatr* 2002; 140: 57-60.
41. Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, Iannaccone ST, Montes J, De Vivo DC, et al. Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMNRx) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology* 2016; 86: 890-7.
  42. Haché M, Swoboda KJ, Sethna N, Farrow-Gillespie A, Khandji A, Xia S, et al. Intrathecal injections in children with spinal muscular atrophy: nusinersen clinical trial experience. *J Child Neurol* 2016; 31: 899-906.
  43. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, Day JW, Montes J, De Vivo DC, et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet* 2016; 388: 3017-26.
  44. Glanzman AM, Mazzone E, Main M, Pelliccioni M, Wood J, Swoboda KJ, et al. The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): test development and reliability. *Neuromuscul Disord* 2010; 20: 155-61.
  45. Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, Darras BT, Chung WK, Sproule DM, et al. Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology* 2014; 83: 810-7.
  46. De Sanctis R, Coratti G, Pasternak A, Montes J, Pane M, Mazzone ES, et al. Developmental milestones in type I spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* 2016; 26: 754-9.
  47. Finkel RS, Kuntz N, Mercuri E, Muntoni F, Chiriboga CA, Darras BY, et al. Primary efficacy and safety results from the phase 3 ENDEAR study of Nusinersen in infants diagnosed with spinal muscular atrophy (SMA). 43rd Annual Congress of the British Paediatric Neurology Association. Cambridge, UK, 11-13 January 2017.
  48. Darras BY, Chiriboga CA, Montes J, Swoboda KJ, Johnson N, Iannaccone ST, et al. Nusinersen treatment-naïve patients with later-onset spinal muscular atrophy (SMA): efficacy results from a phase 1b/2a multicentre study (CS2) and its open label extension (CS12). 21st International Congress of the World Muscle Society. Granada, Spain, 4-6 October 2016.
  49. Bertini E, Hwu WL, Reyna SP, Farwell W, Gheuens S, Sun P, et al. Nusinersen in pre-symptomatic infants with spinal muscular atrophy (SMA): interim efficacy and safety results from the phase 2 NURTURE study. 21st International Congress of the World Muscle Society. Granada, Spain, 4-6 October 2016.
  50. Choy M. Pharmaceutical approval update. *Pharmacy and Therapeutics* 2017; 42: 165-6.
  51. Aartsma-Rus A. FDA approval of nusinersen for spinal muscular atrophy makes 2016 the year of splice modulating oligonucleotides. *Nucleic Acid Ther* 2017; 27: 67-9.
  52. Porensky PN, Mitrapant C, McGovern VL, Bevan AK, Foust KD, Kaspar BK, et al. A single administration of morpholino antisense oligomer rescues spinal muscular atrophy in mouse. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 1625-38.
  53. Hua Y, Sahashi K, Rigo F, Hung G, Horev G, Bennett CF, et al. Peripheral SMN restoration is essential for long-term rescue of a severe spinal muscular atrophy mouse model. *Nature* 2011; 478: 123-6.
  54. Hammond SM, Hazell G, Shabanpoor F, Saleh AF, Bowerman M, Sleight JN, et al. Systemic peptide-mediated oligonucleotide therapy improves long-term survival in spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113: 10962-7.
  55. Naryshkin NA, Weetall M, Dakka A, Narasimhan J, Zhao X, Feng Z, et al. SMN2 splicing modifiers improve motor function and longevity in mice with spinal muscular atrophy. *Science* 2014; 345: 688-92.
  56. Fletcher S, Bellgard MI, Price L, Akkari AP, Wilton SD. Translational development of splice-modifying antisense oligomers. *Expert Opin Biol Ther* 2017; 17: 15-30.
  57. Asokan A, Schaffer DV, Jude Samulski R. The AAV vector toolkit: poised at the clinical crossroads. *Mol Ther* 2012; 20: 699-708.
  58. Tanguy Y, Biferi MG, Besse A, Astord S, Cohen-Tannoudji M, Marais T, et al. Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice. *Front Mol Neurosci* 2015; 8: 36.
  59. Valori CE, Ning K, Wyles M, Mead RJ, Grierson AJ, Shaw PJ, et al. Systemic delivery of scAAV9 expressing SMN prolongs survival in a model of spinal muscular atrophy. *Sci Transl Med* 2010; 2: 35ra42.
  60. Dominguez E, Marais T, Chatauret N, Benkhalifa-Ziyyat S, Duque S, Ravassard P, et al. Intravenous scAAV9 delivery of a codon-optimized SMN1 sequence rescues SMA mice. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 681-93.
  61. Almeida MJ. AVXS-101. SMA News Today. URL: <https://smanewstoday.com/avxs-101-avaxis>. [30.03.2017].
  62. Corti S, Nizzardo M, Simone C, Falcone M, Nardini M, Ronchi D, et al. Genetic correction of human induced pluripotent stem cells from patients with spinal muscular atrophy. *Sci Transl Med* 2012; 165: 165ra162.
  63. Faravelli I, Nizzardo M, Comi GP, Corti S. Spinal muscular atrophy-recent therapeutic advances for an old challenge. *Nat Rev Neurol* 2015; 11: 351-9.

### Possible treatments for infantile spinal atrophy

**Summary.** The new treatments of spinal muscular atrophy (SMA) due by *SMN1* gene deletions are reviewed. There are several ways to increase the protein SMN, its activity and persistence in the tissues. Neuroprotective drugs as olesoxime or riluzole, and drugs acting by epigenetic mechanisms, as histone deacetylase inhibitors, have shown positive effects in preclinical studies but no clear efficacy in clinical trials. They might give in the future added benefits when used associated to other genetic modifying drugs. The best improvements in murine models of SMA and in clinical trials have been reached with antisense oligonucleotides, drugs that modify the splicing of *SMN2*, and they are expected to get better in the near future. Nusinersen, a methoxy-ethyl phosphotioate antisense oligonucleotide has recently approved for treatment of patients with SMA type 1 after having proved its efficacy in clinical trial phase 3. The results of nusinersen are reviewed. New modifications of antisense oligonucleotides with better access to brain, spinal cord and peripheral tissues are on the way. There are data of the efficacy of the genetic therapy with *SMN1* gene through adenoassociated virus, now in phase 1 trial. A constant feature of these new treatments is that the earlier the treatment, the best are the results, and they are even better in presymptomatic stage. The general standards of care, particularly nutrition and respiratory management are needed in order to reach optimal results with the new therapies.

**Key words.** Antisense oligonucleotides. Genetic treatment. Kugelberg-Wellander disease. Spinal muscular atrophy. Werdnig-Hoffmann disease.