

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc516537>



Аденоассоциированные вирусы в генной терапии спинальных мышечных атрофий: тренд или триумф?

Е.А. Слободкина^{1, 2}, Ж.А. Акопян^{1, 2}, П.И. Макаревич^{1, 2}

¹ Институт регенеративной медицины (Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова), Москва, Россия;

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Развитие генной терапии в XXI веке в значительной степени опирается на использование вирусных векторов, которые показали не только свою эффективность, но и достаточно высокий профиль безопасности. Среди векторных систем одно из ведущих мест заняли аденоассоциированные вирусы (ААВ), на основе которых были созданы препараты для лечения тяжелейших наследственных моногенных заболеваний, в том числе спинальных мышечных атрофий (СМА). Использование ААВ, с одной стороны, обосновано их гибкостью как платформы для создания генотерапевтических препаратов, а с другой зачастую воспринимается как своеобразный тренд, у которого есть существенные ограничения. В данном обзоре акцент сделан на два основных аспекта: ААВ как вектор для лечения заболеваний из группы СМА и возможные направления развития в этой области и в генной терапии в целом.

Обзор оперирует актуальными данными, опубликованными в ходе клинических и экспериментальных работ последних лет, а также критически рассматривает возможности генной терапии с помощью ААВ с упоминанием и других существующих подходов, в том числе медикаментозной терапии СМА.

Внимание также уделено ситуации в области использования ААВ для лечения иных наследственных заболеваний и наиболее острым проблемам, с которыми медики сталкиваются в процессе применения препаратов, созданных на основе этой перспективной векторной системы.

Ключевые слова: генная терапия; аденоассоциированные вирусы; нейромышечная дистрофия; спинальная мышечная атрофия.

Как цитировать:

Слободкина Е.А., Акопян Ж.А., Макаревич П.И. Аденоассоциированные вирусы в генной терапии спинальных мышечных атрофий: тренд или триумф? // Гены и клетки. 2024. Т. 19, № 1. С. 85–104. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc516537>

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc516537>

Adeno-associated viruses in gene therapy for spinal muscular atrophies: trend or triumph?

Ekaterina A. Slobodkina^{1, 2}, Zhanna A. Akopyan^{1, 2}, Pavel I. Makarevich^{1, 2}

¹ Institute for Regenerative Medicine (Medical Research and Education Centre, Lomonosov Moscow State University), Moscow, Russia;

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

ABSTRACT

The development of gene therapy in the 21st century is largely based on application of viral vectors, which have shown their effectiveness along with a fairly high safety profile. Among the vector systems, one of the leading places was taken by adeno-associated viruses (AAV), on the basis of which drugs were created for the treatment of severe hereditary monogenic diseases, including spinal muscular atrophies (SMA). Their use, on the one hand, is justified by the flexibility of AAV as a platform for the creation of gene therapy drugs, and on the other hand, it is often perceived as a kind of trend that has significant limitations. In this review, the focus is on two main aspects: AAV as a vector for the treatment of diseases from the SMA group and possible directions of development in this area and in gene therapy in general.

The review operates with recent data published after clinical trials and experimental studies during last decade, and also critically examines the possibilities of gene therapy using AAV, mentioning other existing approaches, incl. medical therapy for SMA.

Attention is also paid to the situation in the field of using AAV for the treatment of other hereditary diseases and the most acute problems faced by the use of drugs created on the basis of this promising vector system.

Keywords: gene therapy; AAV; neuromuscular dystrophy; spinal muscular atrophy.

To cite this article:

Slobodkina EA, Akopyan ZhA, Makarevich PI. Adeno-associated viruses in gene therapy for spinal muscular atrophies: trend or triumph? *Genes & cells*. 2024;19(1):85–104. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc516537>

Received: 30.06.2023

Accepted: 16.08.2023

Published online: 13.12.2023

ВВЕДЕНИЕ

Большинство созданных к настоящему времени эффективных препаратов для генной терапии (ГТ) моногенных (в том числе орфанных), онкологических, нейродегенеративных заболеваний и болезней системы крови базируется на использовании рекомбинантных векторов, получаемых методами генной инженерии на основе широкого спектра вирусов. Получаемые таким образом векторы для ГТ лишены генов, ассоциированных или напрямую определяющих патогенность вирусов дикого типа, а также способность к репликации, что обеспечивает безопасность создаваемых препаратов. Следует сразу же отметить, что использование интегрирующих в геном ретро- и лентивирусов, а также технологий редактирования генома хотя и является активно прогрессирующим разделом ГТ, однако не находится в фокусе настоящего обзора.

Генная терапия с использованием рекомбинантных аденоассоциированных вирусов (ААВ) — относительно новое, однако очень быстро развивающееся направление, успехам и проблематике которого посвящено данное сообщение. С точки зрения ГТ моногенных наследственных заболеваний вообще и нейромышечных заболеваний в частности большой интерес представляет использование ААВ. Эти вирусы за последние годы заслужили репутацию одной из наиболее эффективных и гибких платформ для доставки нуклеиновых кислот в клетки человека.

СТРОЕНИЕ, ТКАНЕВОЙ ТРОПИЗМ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ И ВЫБОР ПРОМОТОРА ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА

Строение генома ААВ

Аденоассоциированный вирус — небольшой вирус (20–25 нм), относящийся к семейству *Parvoviridae*. Геном ААВ дикого типа представлен одноцепочечной ДНК длиной около 4,7 кб и включает несколько облигатных элементов, обеспечивающих в обычном жизненном цикле его репликацию при условии коинфекции аденовирусом, что послужило основанием для использования термина «аденоассоциированный» [1]. К таким элементам относятся:

- гены репликации (Rep), кодирующие четыре неструктурных белка (Rep78, Rep68, Rep52 и Rep40), которые участвуют в репликации, контроле транскрипции, интеграции и инкапсуляции;
- ген вирусного кофактора, который кодирует активирующий сборку белок (AAP);
- структурные капсидные гены (*Cap* или *Vp1*, *Vp2* и *Vp3*).

Рекомбинантные ААВ создаются путём удаления всех открытых рамок считывания из вирусного генома,

что приводит к его преобразованию в дефектный по репликации вирус или вектор. Отсутствие вирусных генов, во-первых, значительно улучшает безопасность и, во-вторых, обеспечивает ёмкость вектора, которая в случае ААВ не может превышать 4,5–4,7 тыс. пар нуклеотидов из-за маленького размера капсидов данного вида вирусов.

Единственные геномные фрагменты, которые не удаляются из ААВ при создании вектора — это два инвертированных концевых повтора (ITRs). ITRs необходимы для репликации вирусной ДНК или трансгена. Минимальные ITRs имеют сайт связывания с вирусным белком Rep, который способствует включению генома вектора в предварительно сформированную капсидную частицу.

Капсид ААВ и его вклад в тропизм получаемых векторов

Капсидная оболочка ААВ служит защитой от нуклеаз, от распознавания системой врождённого иммунитета, а также определяет тропизм вириона. Всего известно 13 серотипов ААВ, которые отличаются экспрессируемыми поверхностными антигенами и аминокислотными последовательностями [1, 2], причём серотипы характеризуются выраженным тканевым тропизмом. С точки зрения разработки препарата для ГТ подбор вектора с определённым тропизмом позволяет сконцентрировать трансдукцию в клетках конкретной ткани и уменьшить доставку в нецелевые органы.

Из основных 11 серотипов (от ААВ1 до ААВ11), клонированных к настоящему времени, лучше всего охарактеризован ААВ2. Считается, что он обладает хорошим профилем безопасности и эффективности, а также хорошей пакующей ёмкостью и высокой трансдуцирующей способностью. ААВ2 часто используют в качестве основы для создания гибридных векторов, в которых ITRs одного серотипа упакованы в капсид другого серотипа для изменения его тропизма к тканям. Многообещающие новые варианты ААВ выделены из макак-резусов — ААВrh10 и ААВrh74. Они имеют высокую эффективность трансдукции, и по сравнению с ААВ2 у человека гораздо реже присутствует предсуществующий иммунитет против данных серотипов [3, 4].

Трансдукция ААВ происходит путём взаимодействия капсида с гликанами и протеогликанами, например гепарансульфатом, экспрессируемым в различных тканях. За первичным связыванием следует взаимодействие с более специфичными мембранными рецепторами и интернализация вируса. Среди этих рецепторов известны рецептор фактора роста фибробластов 1 (FGFR1) для ААВ2 [5], рецептор фактора роста гепатоцитов (HGF), для ААВ2 и ААВ3 [6], рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR) для ААВ5 [7], а также универсальный ААВ-рецептор [8].

Наиболее часто для разработки генотерапевтических препаратов используют серотип ААВ2, однако

для лечения заболеваний нервной системы применяют векторы на основе AAV9 и AAV8. Кроме того, на этапе клинических исследований находятся препараты с новыми капсидами AAV-LK03, SPK-100 и AAV-HSC15, однако их безопасность ещё недостаточно охарактеризована.

Варианты промоторов для экспрессии трансгена и их эффективность

В качестве промоторов чаще всего используют CMV (промотор цитомегаловируса), CBA (промотор бета-актина цыплёнка) и CAG (синтетический промотор, состоящий из энхансера CMV, промотора CBA и акцептора сплайсинга бета-глобина кролика). Для более специфичной доставки генов применяют нативные промоторы организма-реципиента [9, 10]. Введение высоких доз векторов с нативными промоторами не приводит к развитию серьёзных нежелательных явлений (в дозе до 2×10^{14} вирусных частиц на килограмм), однако исследования на животных моделях показывают, что большое количество копий вектора AAV9 может вызывать серьёзную токсичность [11]. Насколько наличие нативного промотора влияет на конечное количество вирусных частиц в трансдуцируемой ткани и безопасность вектора, неизвестно. Из-за высокой токсичности и недостаточной эффективности была прекращена разработка препарата BII089, предназначенного для лечения спинальной мышечной атрофии (СМА), информация о структуре использованного вектора недоступна [12, 13].

Для лечения заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) чаще всего используют промоторы CMV и CAG. В исследованиях также показано, что два других промотора, mPGK и hSYN, обеспечивают более сильную экспрессию трансгена в головном и спинном мозге по сравнению с CAG и CMV [14], однако их внедрение в клинику происходит медленно. Подобным образом первый нейрон-специфичный промотор NSE использовался в клинических исследованиях для доставки гена *GAD*, кодирующего декарбоксилазу глутаминовой кислоты, у пациентов с болезнью Паркинсона в 2005 году, однако, чтобы перейти к II фазе в начале 2021 года, потребовалось более 15 лет [13, 15].

АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫЕ ВИРУСЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Актуальное состояние генной терапии с использованием AAV

Исторически первым препаратом для ГТ путём доставки целевого гена с помощью AAV был Glybera

(алипоген типарвовек*¹, *alipogene tiparvovec*; Uniqure NV, Нидерланды), получивший разрешение на продажу от Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA) в 2012 году [16]. Этот препарат предназначался для лечения наследственного дефицита липопротеин-липазы, однако в 2017 году был изъят из продажи в связи с низким спросом и слишком высокими затратами на производство [17].

Одобрение Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) в 2017 году вортетиген непарвовек* (*voretigene neparvovec*, Лукстурна; Spark Therapeutics, США) [18] на основе модифицированного AAV2, а в 2019 году — онасемноген абепарвовек* (*onasemnogene aberparvovec*, Золгенсма; Novartis, Швейцария) [19] на базе AAV9 значительно усилило интерес к генной терапии AAV. Сейчас данные препараты одобрены не только в США, но и в ЕС, Великобритании, Австралии, Канаде и Южной Корее, а Золгенсма — также в Израиле, Тайване, Бразилии и Японии. В 2022 году EMA был одобрен эладокаген эксупарвовек* (*eladocagene exuparvovec*, Upstaza; PTC Therapeutics, США) [20]. Препарат представляет собой вектор AAV2, несущий ген, который кодирует L-декарбоксилазу ароматических аминокислот (hAADC), и предназначен для лечения состояний, связанных с наследственным дефицитом данного фермента. В 2022 году для лечения гемофилии в США одобрен этранакоген дизапарворовек* (*etranacogene dezaparvovec*, Hemgenix; Uniqure NV, Нидерланды) — препарат на основе AAV5, несущий ген IX фактора свёртывания крови и предназначенный для ГТ гемофилии В [21]. Летом 2023 года FDA также одобрен валоктокоген роксапарвовек* (*valoctocogene roxaparvovec*, Роктавиан; BioMarin Pharmaceutical, США), который использует в качестве вектора AAV2, несущий фактор свёртывания крови VIII для лечения гемофилии А [22]. Кроме того, для лечения миодистрофии Дюшенна одобрен диландистроген моксипарвовек* (*delandistrogene moxeparvovec-rokl*, Elevidys; Sarepta Therapeutics, США). Препарат представляет собой рекомбинантный AAV вектор, несущий ген микродистрофина [23].

На этапе регистрации находится ленадоген нолпарвовек* (*lenadogene nolparvovec*, Genethon; GenSight Biologics S.A., Франция) — препарат на основе AAV2 с геном *ND4* для лечения наследственной атрофии зрительного нерва Лебера [24]. Ведётся разработка препарата резамириген билпарвовек* (*resamirigene bilparvovec*, AT132; Astellas Gene Therapies, США) для лечения X-сцепленной миотубулярной миопатии, который представляет собой AAV8, несущий ген миотубуларина 1 (*MTM1*). К сожалению, в клиническом исследовании данного препарата (ASPIRO) [25] у двух из 17 мальчиков, получавших AT132 внутривенно

¹ Все отмеченные * лекарства не зарегистрированы в Государственном реестре лекарственных средств Российской Федерации. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>

в дозе 3×10^{14} вч (вирусных частиц) на килограмм массы тела, развилась фатальная печёночная недостаточность. Следует отметить, что эти два мальчика получили гораздо более высокую дозу ($4,80 \times 10^{15}$ – $7,74 \times 10^{15}$ вч в сумме) из-за более высокой массы тела. Пока неясно, была ли печёночная недостаточность проявлением сопутствующих заболеваний или вызвана более высокой дозой AAB [25], в связи с чем во втором квартале 2023 проведена встреча разработчиков препарата с FDA США, по итогам которой было принято решение продолжить проведение клинических исследований [24].

Вопросы иммуногенности и онкогенности векторов на основе AAB

Рассмотрены механизмы иммунного ответа на AAB и подходы к уменьшению иммуногенности. Одной из основных проблем использования вирусных векторов является их иммуногенность, что делает небезопасным повторное введение препаратов на их основе. В развитии иммунного ответа на AAB участвуют оба звена врождённого иммунитета: гуморальный и клеточный. Активация гуморального иммунитета приводит к формированию капсид-специфичных антител, в том числе нейтрализующих. Предсуществующие, например из-за предыдущих контактов организма с AAB дикого типа, антитела уменьшают или полностью нарушают трансдукцию терапевтическим вектором, тем самым снижая эффективность лечения. Антитела, которые образуются в ответ на первое введение генетического вектора, не влияют на ход трансдукции, однако не позволяют использовать AAB данного серотипа повторно. Кроме того, может наблюдаться перекрёстная реактивность антител на AAB других серотипов.

Клеточный иммунный ответ включает активацию цитотоксичных Т-клеток примерно через 4–12 нед после введения генетического вектора. Исследования на животных моделях показывают, что развитие Т-клеточного ответа опосредовано Toll-like рецепторами (TLR), распознающими антигены капсида AAB [26, 27].

Возможность активации клеточного иммунитета при распознавании капсида AAB является важным фактором, влияющим на безопасность и эффективность проводимой ГТ. Одним из проявлений такого ответа служит гепатотоксичность, которая наблюдалась в клиническом исследовании с использованием AAB многих серотипов — AAB2, AAB8, AAB10 [28] и AAB9. *In vitro* исследования показывают, что активация иммунного ответа в печени опосредована специфичной для печени популяцией макрофагов — клетками Купфера [29]. Высокое сродство AAB9 к клеткам печени значительно увеличивает риск гепатотоксичности, при этом у ряда пациентов может наблюдаться дозозависимый эффект развития нежелательных явлений. В клинических исследованиях [30–32] гепатотоксичность онасемноген абепаровека предотвращалась профилактическим

введением преднизолона. Актуальный протокол применения онасемноген абепаровека также включает профилактическое назначение преднизолона в минимальных дозировках и с наименьшей продолжительностью курса, что не оказывает существенного влияния на состояние пациентов детского возраста.

Одно из преимуществ AAB в качестве вектора для ГТ по сравнению с другими вирусами заключается в том, что он вызывает минимальный клеточный и гуморальный иммунный ответ. Основной иммунный ответ на AAB проявляется в форме образования нейтрализующих антител (НАТ) к капсиду, что предотвращает связывание с рецептором и проникновение AAB в клетку при повторном введении. Стоит отметить, что наличие НАТ не влияет на безопасность первичного применения AAB, но значительно уменьшает эффективность.

Наиболее распространённым в популяции является иммунитет к серотипу AAB2: 30–80% людей контактируют с ним в раннем детстве и в течение длительного периода имеют циркулирующие НАТ к нему. Сходная распространённость приобретённого иммунитета наблюдается к серотипу AAB3. Реже встречаются НАТ к AAB5 (у 10–20% популяции) и AAB6 (до 30%), а наиболее редко происходит инфицирование AAB7 и AAB8 (не более 5–6%). Таким образом, у некоторого количества лиц в популяции могут выявляться НАТ к одному или нескольким серотипам AAB [33, 34], что с учётом возможного перекрёстного иммунитета может снижать эффективность ГТ с использованием данного вируса.

Существует также механизм трансплацентарной передачи НАТ от матери. Так, например, НАТ к AAB9 (преимущественно иммуноглобулины класса G) могут определяться в первые 6 нед от рождения ребёнка. Как правило, через 4–6 мес их титр становится неопределимым. В клиническом исследовании, изучавшем применение онасемноген абепаровека на основе AAB9 у пациентов со СМА, у 5,6% детей определялся повышенный уровень НАТ к AAB9 (выше 1:50) при повторном тестировании. Поэтому в реальной клинической практике перед применением препаратов ГТ на основе AAB определяется титр НАТ [35].

Обычно в клиническое исследование AAB не включают пациентов с НАТ, однако гематоэнцефалический и гематоофтальмический барьеры «защищают» ЦНС и органы зрения от системного иммунитета, поэтому нет необходимости исключать таких пациентов. В связи с этим актуальными являются разработка и оптимизация методов локального введения генотерапевтических препаратов в ЦНС и другие иммунопrivилегированные органы. Стоит отметить, что в зависимости от пути доставки может происходить системная утечка AAB и из ЦНС, что наблюдалось во II фазе клинического исследования препарата, предназначенного для интрацеребровентрикулярной доставки гена *GDNF* с помощью AAB2. Диссеминация вектора в спинномозговую жидкость привела

к нежелательным явлениям и низкой терапевтической эффективности [36, 37].

Низкая онкогенность как ключевое преимущество AAB

Плюсом в пользу выбора AAB для доставки терапевтических генов является то, что они не встраиваются в геном хозяина (за исключением нескольких описанных у животных случаев) и присутствуют в клетке в виде эписомы. Это значительно снижает мутагенность векторов данного типа [2, 38].

Случаев прямого онкогенного действия AAB у человека не описано [39], однако известны крайне редкие случаи интеграции трансгена AAB в геном других млекопитающих [40, 41]. Было показано, что после системного введения AAB2 и AAB9 новорождённым мышам линии MPSVII с наследственным комбинированным дефицитом гексозаминидазы А и В (модель болезни Сандхоффа) по мере взросления животных наблюдалось повышение частоты гепатоцеллюлярной карциномы. Исследование генетического материала опухолей выявило встраивание генома AAB в специфический локус мышинной хромосомы 12 (локус Rian), что привело к дисрегуляции экспрессии соседних генов. Это исследование стало важным с точки зрения представлений о мутагенезе, вызываемом AAB, однако данный локус присутствует только у грызунов, что делает эту находку важной с точки зрения представлений об AAB, но не противоречит имеющимся знаниям об их безопасности у человека [42, 43].

СПИНАЛЬНЫЕ МЫШЕЧНЫЕ АТРОФИИ КАК ОДНА ИЗ ОСНОВНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Характеристика и этиология заболеваний из группы спинальных мышечных атрофий

Спинальные мышечные атрофии — группа наследственных заболеваний периферической нервной системы, характеризующихся повреждением моторных нейронов головного и спинного мозга. Похожим по патогенезу и клиническим проявлениям заболеванием является боковой амиотрофический склероз (БАС), при котором также происходит поражение верхних и нижних двигательных нейронов, развиваются паралич и мышечная атрофия [44]. Молекулярно-генетические механизмы БАС до конца не известны.

В большинстве случаев СМА обусловлена мутациями или делецией гена выживаемости моторных нейронов 1 (*SMN1*) и наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Данный ген расположен на 5q-хромосоме и кодирует белок выживания моторных нейронов (SMN) [45, 46]. Ген *SMN1* имеет паралог *SMN2*, отличающийся сплайсингом в экзоне 7. *SMN2* также кодирует белок SMN, однако

при полной делеции *SMN1* продукция SMN с *SMN2* оказывается недостаточной. Тяжесть заболевания определяется количеством копий гена *SMN2* (чем больше, тем слабее проявления СМА).

Более редкие случаи СМА вызваны повреждением следующих генов: *VAPB* (20-я хромосома), *DYNC1H1* (14-я хромосома), *BICD2* (9-я хромосома) или *UBA1* (X-хромосома).

Как и другие нервно-мышечные заболевания, при которых поражаются двигательные нейроны, СМА являются неизлечимыми моногенными заболеваниями, вызванными loss-of-function-мутациями (приводящими к снижению или отсутствию функции белка) в конкретном гене (или его делецией), поэтому они служат потенциальными мишенями для ГТ.

Выделяют следующие типы СМА [47]:

- тип 0 проявляется уже в пренатальном периоде в виде снижения активности плода; у новорождённых наблюдаются пороки сердца, арефлексия, смерть наступает вследствие дыхательной недостаточности в течение первых 6 мес жизни;
- тип I (инфантильная СМА, или болезнь Верднига–Гоффмана) также присутствует внутриутробно или проявляется в первые 6 мес жизни; наблюдаются мышечная гипотония, гипорефлексия, затруднённое сосание и глотание; без лечения большинство больных не доживают до двух лет;
- тип II (промежуточная форма, или болезнь Дубовица) впервые проявляется в возрасте 6–18 мес. Дети не могут сидеть, стоять и ходить без посторонней помощи; отмечаются нарушения дыхания, которые часто приводят к смерти в раннем возрасте;
- тип III (болезнь Кугельберга–Веландера) обычно проявляется между 18 мес и юношеским возрастом. Дети могут самостоятельно ходить, но испытывают проблемы с бегом, подъёмом по лестнице. Болезнь прогрессирует медленно, продолжительность жизни больше (иногда вплоть до обычной) по сравнению с другими типами, зависит от развития дыхательных осложнений. Другие осложнения включают искривление позвоночника и контрактуры.
- тип IV развивается во взрослом возрасте, проявляется в медленно прогрессирующей слабости и атрофии проксимальных мышц.

Разработанные подходы к лечению спинальной мышечной атрофии

Патогенетическое лечение СМА основано на увеличении уровня белка SMN и направлено на уменьшение симптомов или улучшение двигательной функции, а также предотвращение жизнеугрожающих осложнений.

На сегодняшний день FDA и EMA одобрены следующие препараты:

1. Нусинерсен (nusinersen, Спинраза; Biogen, США) — первый одобренный препарат для лечения всех

типов СМА у педиатрических и взрослых пациентов. Это антисмысловой олигонуклеотид, ингибирующий сплайсинг экзона 7 мРНК гена *SMN2*, что приводит к синтезу длинной, более функциональной формы белка *SMN* [48]. Спинраза вводится интратекально, первые 4 дозы (после 1-й дозы — день 0) вводятся 1 раз в две недели (2-я и 3-я дозы) и на 63-й день от момента введения первой дозы (4-я доза). Поддерживающая терапия осуществляется путём разового введения препарата каждые 4 мес [49].

2. Рисдиплам (risdiplam, Эврисди; Genentech, США) — пероральный препарат для лечения СМА. Подобно нусинерсену, является модификатором сплайсинга *SMN2* [50], однако в качестве действующего вещества используется не олигонуклеотид, а малая молекула. Рисдиплам предназначен для пациентов со СМА типа I, II или III или для пациентов, у которых имеется до четырёх копий гена *SMN2* (EMA). FDA одобрило применение препарата у всех пациентов со СМА вне зависимости от числа копий гена *SMN2*.
3. Онасемноген абепарвовек (onasemnogene aberap-
oves, Золгенсма; Novartis, Швейцария) — препарат для генной терапии СМА, представляющий собой вектор на основе AAV9, несущий ген *SMN1*. Препарат вводится путём разовой внутривенной инфузии. Терапия была одобрена FDA и EMA в 2019 году, однако показания отличаются. EMA одобрило применение Золгенсмы у пациентов с наследственными мутациями в гене *SMN1*: у которых либо диагностирована СМА типа I, либо имеется до трёх копий гена *SMN2*. FDA же одобрило препарат для применения у педиатрических пациентов в возрасте до двух лет с биаллельными мутациями в гене *SMN1* [51, 52].

AAV9 как оптимальный вектор для терапии спинальной мышечной атрофии

Как уже упоминалось, СМА вызваны мутацией в определённом гене, поэтому этиотропным методом лечения является именно ГТ. Ещё одним преимуществом ГТ при СМА является то, что AAV-опосредованная трансдукция нервной ткани может привести к длительной экспрессии генов, поскольку зрелые нейроны представляют собой неделящиеся клетки и, следовательно, в них не происходит митозов, а также связанного с ними падения экспрессии с эпизодическими последовательностями, доставленных с помощью AAV.

Единственный зарегистрированный вирусный препарат для ГТ СМА Золгенсма представляет собой вектор на основе AAV9, несущий ген *SMN1* под контролем CMV-энхансера и гибридного промотора куриного β -актина. Данный серотип AAV обладает уникальными характеристиками [53], которые позволяют ему проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что и при других заболеваниях делает векторы на основе AAV9 хорошими кандидатами для доставки генов

в ЦНС с использованием относительно малоинвазивного внутривенного введения.

Системно введённый AAV9 трансдуцирует в основном астроциты у взрослых мышей, а также нейроны и нижние мотонейроны у новорождённых животных [54]. Системное введение AAV9-вектора при СМА обосновывается и тем, что ген-мутация в гене *SMN1* приводит к повреждению не только мотонейронов спинномозговых ганглиев, но и кишечника, нервной системы, сердца [55], поджелудочной железы [56], а также скелетных мышц [57].

AAV9-вектор, используемый в препарате Золгенсма, является самокомплементарным (двучпочечным), что позволяет добиваться лучшей эффективности после однократного введения. На данный момент имеются данные об эффективности и безопасности терапии онасемноген абепарвовек в среднем через 7,1 года после начала лечения: все 10 пациентов, получившие препарат в терапевтической дозе в исследовании START (NCT02122952), живы и не нуждаются в постоянной вентиляции лёгких, также у них наблюдается сохраняющаяся эффективность по сохранению ранее приобретённых или достижению новых моторных навыков [58–60]. В клиническом исследовании [61] были отмечены и нежелательные явления, вызванные введением препарата, которые ограничивались повышением уровня печёночных аминотрансфераз в сыворотке крови примерно через 3 нед после начала лечения, без других клинических проявлений. Указанное повышение активности печёночных ферментов эффективно купировалось с помощью преднизолона.

Результаты третьей фазы клинического исследования (STRIVE) показали эффективность препарата онасемноген абепарвовек относительно контроля (группа пациентов в исследовании, в котором изучалось естественное течение СМА). Способность сидеть без опоры в течение 30 с отмечена у 59% пациентов в возрасте 18 мес по сравнению с 0% в контрольной группе ($p < 0,0001$); 90,9% пациентов к 14 мес были живы и не нуждались в постоянной вентиляции лёгких по сравнению с 25% в контрольной группе. Суммарно в двух клинических исследованиях приняли участие 54 пациента в возрасте младше 6 мес, 2 погибли по причинам, не связанным с препаратом [62, 63].

Применение онасемноген абепарвовек было также изучено у пациентов с доклинической стадией СМА в исследовании SPR1NT. Все 29 участников выжили и не нуждались в постоянной вентиляции лёгких, у них отмечалось соответствующее возрасту моторное развитие [64, 65].

Проблемные аспекты применения AAV9 для лечения спинальной мышечной атрофии

Долгосрочные эффекты применения онасемноген абепарвовек продолжают изучаться в 15-летнем наблюдении за пациентами-участниками клинического исследования [66]. На данный момент возраст наиболее старшего пациента, включённого в исследования START,

составляет 8,5 года (8 лет от момента введения препарата) [62]. По мнению ряда учёных, у некоторых пациентов возможно снижение эффективности проведённой терапии, что может быть связано с уменьшением экспрессии целевого гена в трансдуцированных клетках из-за их быстрого деления в растущем организме [67].

При системном введении AAV9 имеет способность трансдуцировать разные клетки и ткани в организме. Для более адресной доставки именно в ЦНС имеет смысл использовать нейро- или астроцит-специфичные промоторы. Эта идея была проверена в исследовании A. Besse и соавт. [68]. Учёные сконструировали AAV9-вектор, экспрессирующий SMN под контролем промотора синапсина человека (SYN) — AAV9-SYN-SMN, и изучили влияние интрацеребровентрикулярного введения (i.c.v.) AAV9-SYN-SMN на выживаемость и нервно-мышечные функции у нокаутных по SMN (SMNΔ7) мышей. В качестве контроля использовали AAV9-вектор, также кодирующий SMN, под промотором фосфоглицераткиназы (PGK) — AAV9-PGK-SMN. Вектор AAV9-PGK-SMN вводили как внутривенно, так и интрацеребровентрикулярно, причём интрацеребровентрикулярное введение вызывало максимальную экспрессию SMN в тканях ЦНС: количество SMN было в 6–9 раз выше, чем в головном и спинном мозге мышей SMNΔ7, которым интрацеребровентрикулярно вводили вектор AAV9-SYN-SMN или внутривенно — вектор AAV9-PGK-SMN. Введение AAV9-SYN-SMN в максимальной дозе индуцировало экспрессию SMN в спинном и головном мозге на уровне, сравнимом с таковым после внутривенного введения AAV9-PGK-SMN. При этом эффективность вектора AAV9-SYN-SMN уступала AAV9-PGK-SMN, вводимому разными путями. Интересно, что уровни SMN в периферических тканях были приблизительно равными при введении как i.c.v., так и внутривенно.

Накопленные клинические данные показывают безопасность AAV, что служит хорошим обоснованием для их использования с целью доставки терапевтических генов. Актуальным направлением является разработка новых способов повышения эффективности доставки и ГТ для заболеваний ЦНС.

ВОЗМОЖНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ

Подходы к модификации AAV-векторов

Изменение последовательности белков капсида AAV может значительно изменить эффективность трансдукции, что позволяет осуществлять различные

модификации для управления трансдукцией и тканевым тропизмом. В настоящее время наиболее перспективными представляются следующие приёмы и подходы:

1. Вставка в капсиды специфичных пептидных лигандов для адресной доставки терапевтических генов в определённые клетки и ткани. Включение в капсид специальных пептидов обеспечивает узнавание и связывание вектора со специфическими белками на поверхности клеток, некоторые модификации пептидов-лигандов усиливают также проникновение вируса внутрь клетки [69]. На данный момент известны пептиды, которые повышают AAV-трансдукцию клеток скелетных мышц [70], лёгких [71], кровеносных сосудов [72–74], островков поджелудочной железы [75], различных опухлевых клеток [76, 77] и др.

Несмотря на то, что вставка в капсид лигандов и пептидов способствует специфичному связыванию вектора с клеточными рецепторами и повышает эффективность трансдукции, эти модификации имеют ряд ограничений. Во-первых, место вставки ограничено определёнными сайтами на капсиде, модификация которых не должна отрицательно влиять на рецептор-опосредованное проникновение вируса. Следовательно, для рационального дизайна пептидных вставок требуются знания об устойчивых к модификации сайтах капсида. Во-вторых, специфичность многих пептидов или лигандов зависит от их конформации, нарушение правильной трёхмерной структуры при проведении вставки может привести к снижению эффективности по сравнению с немодифицированным вектором. В-третьих, модифицированный капсид может подвергаться нейтрализации уже существующими антителами.

2. Использование естественного разнообразия открытых серотипов AAV с созданием мозаичных/химерных капсидов. Мозаичные векторы включают капсидные белки нескольких серотипов AAV. Химерные AAV создаются либо путём направленной эволюции, либо путём генной инженерии и изменения аминокислот капсида. Подход направленной эволюции включает использование либо подверженной ошибкам ПЦР, либо перетасовку ДНК. Подверженная ошибкам ПЦР проводится в специальных условиях, повышающих частоту ошибок полимеразы, что приводит к получению вариантов капсида со случайными мутациями. В методе перетасовки ДНК используются рестрикционные ферменты для фрагментации сар-генов выбранных серотипов. Затем эти фрагменты случайным образом рекомбинируются в полноразмерные капсидные гены, после чего происходит амплификация вариантов. После получения химерных капсидов проводят селективный скрининг с предпочтительным типом клеток и выбирают варианты с наиболее подходящими характеристиками [69, 78].

Генно-инженерный подход использует информацию о структуре и последовательности капсида для создания новых химерных вирусов путём переноса определённых

остатков капсида или доменов от одного серотипа к другому для достижения желаемого фенотипа.

Изменение соотношения белков каждого из серотипов позволяет добиваться необходимой эффективности трансдукции определённого типа клеток. Например, в работе J.E. Rabinowitz и коллег [79] показано, что создание капсида на основе серотипов AAB3 и AAB5 в соотношениях 3:1 позволяет вирусной частице связываться как с гепарином, так и с муцином на поверхности клеток, в то время как сам AAB3 связывается только с гепарином, а AAB5 имеют тропизм только к муцину [79]. Целесообразно также создавать химерные векторы, включающие часть белков капсида от вируса дикого типа, а часть — от модифицированного пептидом-лигандом капсида. Это позволяет одновременно достигать тропизма к определённому типу ткани и сохранять высокую эффективность трансдукции [80].

3. Экзогенная модификация капсида. Эти подходы варьируются от использования биспецифических антител для связывания вируса с рецепторами и специфического захвата клетками [81] до биотинилирования с последующей конъюгацией таргетных лигандов [82, 83]. Кроме этого, для покрытия капсида применяют специальные обволакивающие вещества, которые используются для конъюгации с лигандами, а также могут препятствовать вирусной нейтрализации антителами [84, 85]. Значительно улучшает трансдукцию AAB2/9 заключение векторов в оболочку из катионных липидов [86].

4. Использование тканеспецифичных промоторов. Ещё одним способом, позволяющим добиваться экспрессии терапевтического гена в определённом типе клеток, является подбор тканеспецифичных промоторов. Для специфичной экспрессии трансгена в нейронах предложено использование промоторов синапсина или *CamKII* [87–89], промоторов *GFAP* или *ALDH1/1* — для экспрессии в астроцитах [90, 91], промотора основного белка миелина — для олигодендроцитов [92, 93].

Модификация AAB9 как подход к созданию препаратов нового поколения для генной терапии спинальной мышечной атрофии

Важным для векторной трансдукции ЦНС открытием стало описание серотипа AAB9, а именно его высокого тропизма к тканям нервной системы [54]. Была показана эффективная, обширная трансдукция спинного мозга и ЦНС после однократного внутривенного или интратекального введения вектора на основе AAB9, что послужило толчком для исследования и разработки ГТ с использованием данного серотипа. Сейчас AAB9 является «золотым стандартом вектора» для доставки в ЦНС при системном введении и широко используется в клинических исследованиях с минимальными признаками периферической или центральной токсичности [94].

Как уже упоминалось, лежащий в основе препарата онасемноген абепарвовек AAB9 имеет тропизм

ко многим тканям, и особенно — к клеткам печени, что может в ряде случаев приводить к нежелательному явлению в виде повышения печёночных трансаминаз. В работе N. Pulicherla и соавт. [95] авторы, используя метод подверженной ошибкам ПЦР, получили вектор, обладающий сниженным тропизмом к печени, но эффективно трансдуцирующий сердечные и скелетные мышцы. Модификации были направлены на GH-петлю (аминокислоты 390–627) — участок капсида, необходимый для связывания с рецепторами и влияющий на тропизм и иммуногенность вектора.

На основе подхода рациональной инженерии получен вариант капсида AAB9.HR. Данный вектор не только сохраняет способность AAB9 проникать через ГЭБ при внутривенном введении новорождённым мышам, но также имеет сниженную трансдукцию периферических тканей [96].

Метод целенаправленной эволюции AAB на основе Cre-индуцированной рекомбинации (CREATE) позволил получить вектор AAV-PHP.B, который трансдуцировал клетки ЦНС взрослых мышей после внутривенного введения с эффективностью, в 40 раз превышающей эффективность трансдукции с использованием AAB9. Помимо астроцитов данный вектор трансдуцировал *CC1+*-олигодендроциты и несколько подтипов нейронов [97]. Однако стоит упомянуть, что полученный серотип сохраняет высокую способность проникать через ГЭБ только у животных, обладающих рецептором *Ly6A*, и практически не применим для приматов и клинического использования [98].

Генная терапия других нервно-мышечных заболеваний

Различные нервно-мышечные расстройства моногенного происхождения изучаются в доклинических и клинических исследованиях с использованием ГТ.

Например, в основе развития семейного БАС лежит мутация в гене супероксиддисмутазы *SOD1*. Мутация в этом гене приводит к накоплению неправильно сформированного белка *SOD1*, что ведёт к повреждению клетки. Для лечения БАС было предложено использовать AAB, несущий микроРНК, одной из мишеней которой является *SOD1*. Первое применение такого вектора у двух пациентов с БАС показало, что после его интратекальной инфузии наблюдалось снижение уровня *SOD1* в тканях спинного мозга [99], однако клинического улучшения не было. Данный факт обусловил необходимость дальнейших исследований.

Спинальная мышечная атрофия с респираторным дистресс-синдромом 1-го типа (SMARD1) представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание двигательных нейронов, вызванное мутациями в гене *IGHMBP2* (11q13). Заболевание поражает детей и в настоящее время неизлечимо. На мышинной модели было показано, что ГТ с помощью AAB9 восстанавливает уровень

целевого белка, двигательную функцию, нервно-мышечную физиологию и увеличивает продолжительность жизни животных [100], что позволило инициировать переход к клиническому исследованию данного препарата.

Миодистрофия Дюшенна вызвана мутациями в гене *DMD*, кодирующем субсарколеммальный белок дистрофин. Ген *DMD* очень большой (11,5 тыс. п.о.), что затрудняет его упаковку в вектор на основе AAB. Однако исследования показали, что симптомы заболевания могут быть облегчены использованием более коротких форм белка дистрофина [101, 102]. На данный момент проводится несколько клинических исследований с использованием AAB разных серотипов (AABrh74, AAB8 и AAB9), кодирующих микро-/мини-дистрофин [103, 104]. Как уже упоминалось выше, в 2023 году FDA был одобрен препарат Elevidys на основе рекомбинантного капсида AABrh74 [23].

Болезнь Помпе (болезнь накопления гликогена II) представляет собой мышечное заболевание с ауто-сомно-рецессивным типом наследования, вызванное мутациями в гене альфа-глюкозидазы (GAA), которое в течение многих лет лечили с помощью заместительной ферментной терапии. Заболевание поражает разные органы, в том числе сердце и ЦНС, и эффективность заместительной терапии оказывается недостаточной. В качестве альтернативы предложено использовать ГТ, которая показала эффективность на животных моделях (уменьшение накопления гликогена в миокарде и в мотонейронах) [105]. В настоящее время проводится несколько клинических исследований генозаместительной терапии векторами AAB различных серотипов (AAB1, AAB2/8, AAB9), несущих ген *GAA* и предназначенных для внутримышечного или внутривенного введения [104].

Ещё одним нейромышечным заболеванием-кандидатом для ГТ является тяжёлый тип врождённой миопатии — X-сцепленная миотубулярная миопатия. Введение AAB с геном миотубуларина (*MTM1*) собакам вызывало значительное улучшение мышечной силы и выживаемости [106]. Однако в клиническом исследовании у пациентов, получавших высокие дозы AAB8 с геном *MTM1*, наблюдалась тяжёлая гепатотоксичность, которая стала причиной двух смертельных исходов. Точные механизмы, которые привели к этим нежелательным явлениям, до конца не известны: возможно, на развитие нежелательных явлений повлияли наличие у пациентов антител к AAB или сопутствующие заболевания [107].

Развитие методов прямой генной терапии с доставкой в центральную нервную систему

Генная доставка в ЦНС и органы слуха/зрения является сложной задачей. Это связано с тем, что головной мозг, органы зрения, слуха и спинной мозг отделены физиологическими барьерами, такими как ГЭБ,

которые сильно ограничивают доступ к ним. Для лечения нейросенсорных расстройств используют интраокулярное, интравитреальное, субконъюнктивальное и другие способы местного введения вектора в органы зрения или в ушную улитку. Для доставки терапевтических генов в мозг чаще всего используют прямую инфузию AAB, даже несмотря на то, что другие стратегии доставки в спинномозговую жидкость (внутричерепно-вентрикулярный, интрацистеральный и интратекальный пути) или в кровоток могут быть полезны для лечения мультифокальных заболеваний.

Местное введение препаратов в ЦНС включает хирургическую процедуру, во время которой пациент находится под анестезией и удерживается внутри стереотаксической рамы, в то время как кончик иглы или гибкий катетер из плавленого кварца вводится непосредственно в паренхиму через трепанационные отверстия, просверленные в черепе. Внутримозговая инъекция AAB была первым способом векторной доставки. Она до сих пор используется в большинстве клинических исследований и, как правило, хорошо переносится [94, 108–111].

Интраназальная доставка является альтернативным и неинвазивным вариантом, потенциально подходящим для восстановления уровней терапевтических лизосомальных ферментов, которые после секреции могут диффундировать в ЦНС. Наконец, для лечения некоторых заболеваний двигательных нейронов используют внутримышечные или интраспинальные инъекции AAB [94].

Местное введение вектора имеет значительные преимущества перед системным: во-первых, это позволяет создать максимальную концентрацию вектора в тканях-мишенях, а во-вторых — уменьшает широту биораспределения и связанные с ней риски иммуногенности и токсичности.

При заболеваниях двигательных нейронов в доклинических условиях на моделях БАС у мышей успешно применяют многоуровневые инъекции в паренхиму спинного мозга [112–114]. Однако трансляция таких подходов на более крупных млекопитающих и в клинических исследованиях затруднена из-за высоких рисков при хирургическом вмешательстве. Помимо риска вирусной или бактериальной инфекции, кровотечения и отёка, присущих любому нейрохирургическому вмешательству, основным ограничением, связанным со стереотаксической инъекцией AAB, является ограниченное распространение вектора в паренхиме. Для упрощения диффузии вектора на животных моделях применяют технику доставки с усилением конвекции (CED) либо вводят вектор совместно с гепарином [115] или маннитолом [116]. На животных моделях также изучались интравентрикулярный, интрацистеральный и интратекальный пути введения векторов.

Как уже упоминалось, ГЭБ представляет собой сложный биологический барьер из последовательных слоёв эндотелиальных клеток головного мозга, соединённых

плотными контактами, перицитов и астроцитов. Попытки нарушить его целостность для упрощения доставки терапевтических средств, например маннитола, связаны со значительными побочными эффектами [116, 117].

Отметим важное наблюдение: в зависимости от возраста организма введённый трансген экспрессируется в различных типах клеток. К примеру, установлено, что при введении вектора новорождённым мышам трансген экспрессируется в нейронах, а взрослым — в астроглии [54]. Сходные результаты были получены и на макаках-резус: после внутривенной инфузии AAV9 новорождённым животным наблюдалась трансдукция нейронов, а при введении вектора молодым обезьянам трансдуцировалась преимущественно глия [54, 118, 119].

Ещё одним серотипом AAV, способным проникать через ГЭБ при внутривенном введении, является вариант AAVrh10. Исследование Y. Tang и соавт. [120] показало, что эффективность трансдукции AAVrh10 выше, чем у AAV9, в большей части центральной и периферической нервной системы. Интересно, что распределение AAVrh10 не увеличивалось при увеличении дозы вводимого вектора, тогда как при трансдукции AAV9 наблюдается дозозависимый эффект. Данный факт свидетельствует о том, что два вектора имеют разные механизмы трансдукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Векторы на основе аденоассоциированных вирусов являются ведущей платформой для доставки генов и лечения различных заболеваний человека. Использование новых биотехнологических методов для рациональной разработки капсидов аденоассоциированных вирусов и оптимизация дизайна генома внесли существенный вклад в развитие данной области генной терапии. Доклинические и клинические исследования показали эффективность генной терапии с использованием аденоассоциированных вирусов, что в совокупности с данными о безопасности данного типа вирусной доставки генов позволяет называть эти вирусы «идеальным терапевтическим вектором». Изучение природных свойств разных серотипов аденоассоциированных вирусов, а также целенаправленная модификация капсида позволяют эффективно трансдуцировать различные клетки и ткани организма, в том числе нервную. Важным этапом в развитии генной терапии с использованием аденоассоциированных вирусов стала регистрация онасемноген абепарвовектора — генотерапевтического препарата для лечения спинальной мышечной атрофии, что послужило хорошим примером для активной разработки аналогичных средств терапии других нейромышечных заболеваний.

Стоит учитывать, что долгосрочные эффекты применения аденоассоциированных вирусов продолжают изучаться как с точки зрения эффективности, так

и в отношении вопросов безопасности. Актуальными направлениями развития опосредованной этими вирусами генной терапии является создание новых модификаций капсида, изменение дизайна промоторов и энхансеров, а также изучение новых путей и способов доставки, которые обеспечат специфичный тканевой тропизм, повысят безопасность и позволят с высокой эффективностью лечить нервно-мышечные и нейродегенеративные заболевания.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Поисково-аналитическую работу и подготовку статьи осуществляли в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова. Публикация статьи в журнале проведена по заказу издательства «Эко-Вектор».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Е.А. Слободкина — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; Ж.А. Акопян — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи; П.И. Макаревич — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, подготовка и написание текста статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The search and analytical work and the preparation of the article were carried out within the framework of the state assignment of the Lomonosov Moscow State University. The publication of the article in the journal carried out by order the "Eco-Vector" publishing house.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication). E.A. Slobodkina — literature review, collection and analysis of literary sources, writing and editing the article; Jh.A. Akopyan — literature review, collection and analysis of literary sources, writing and editing the article; P.I. Makarevich — literature review, collection and analysis of literary sources, writing and editing the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Drouin L.M., Agbandje-Mckenna M. Adeno-associated virus structural biology as a tool in vector development // *Future Virol.* 2013. Vol. 8, N 12. P. 1183–1199. doi: 10.2217/fvl.13.112
2. Mitchell A.M., Nicolson S.C., Warischalk J.K., Samulski R.J. AAV's anatomy: roadmap for optimizing vectors for translational success // *Curr Gene Ther.* 2010. Vol. 10, N 5. P. 319–340. doi: 10.2174/156652310793180706
3. Mendell J.R., Sahenk Z., Lehman K., et al. Assessment of systemic delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in children with duchenne muscular dystrophy: a nonrandomized controlled trial // *JAMA Neurol.* 2020. Vol. 77, N 9. P. 1122–1131. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1484
4. Thwaite R., Pagès G., Chillón M., Bosch A. AAVrh.10 immunogenicity in mice and humans. Relevance of antibody cross-reactivity in human gene therapy // *Gene Ther.* 2015. Vol. 22, N 2. P. 196–201. doi: 10.1038/gt.2014.103
5. Qing K., Mah C., Hansen J., et al. Human fibroblast growth factor receptor 1 is a co-receptor for infection by adeno-associated virus 2 // *Nat Med.* 1999. Vol. 5, N 1. P. 71–77. doi: 10.1038/4758
6. Ling C., Lu Y., Kalsi J.K., et al. Human hepatocyte growth factor receptor is a cellular coreceptor for adeno-associated virus serotype 3 // *Hum Gene Ther.* 2010. Vol. 21, N 12. P. 1741–1747. doi: 10.1089/hum.2010.075
7. Srivastava A. In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors // *Curr Opin Virol.* 2016. Vol. 21. P. 75–80. doi: 10.1016/j.coviro.2016.08.003
8. Pillay S., Meyer N.L., Puschnik A.S., et al. An essential receptor for adeno-associated virus infection // *Nature.* 2016. Vol. 530, N 7588. P. 108–112. Corrected and republished from: *Nature.* 2016. Vol. 539, N 7629. P. 456. doi: 10.1038/nature16465
9. Nieuwenhuis B., Laperrousaz E., Tribble J.R., et al. Improving adeno-associated viral (AAV) vector-mediated transgene expression in retinal ganglion cells: comparison of five promoters // *Gene Ther.* 2023. Vol. 30, N 6. P. 503–519. doi: 10.1038/s41434-022-00380-z
10. Georgiadis A., Duran Y., Ribeiro J., et al. Development of an optimized AAV2/5 gene therapy vector for Leber congenital amaurosis owing to defects in RPE65 // *Gene Ther.* 2016. Vol. 23, N 12. P. 857–862. Corrected and republished from: *Gene Ther.* 2018. Vol. 25, N 6. P. 450. doi: 10.1038/gt.2016.66
11. Hinderer C., Katz N., Buza E.L., et al. Severe toxicity in nonhuman primates and piglets following high-dose intravenous administration of an adeno-associated virus vector expressing human SMN // *Hum Gene Ther.* 2018. Vol. 29, N 3. P. 285–298. doi: 10.1089/hum.2018.015
12. Kuzmin D.A., Shutova M.V., Johnston N.R., et al. The clinical landscape for AAV gene therapies // *Nat Rev Drug Discov.* 2021. Vol. 20, N 3. P. 173–174. doi: 10.1038/d41573-021-00017-7
13. Au H.K.E., Isalan M., Mielcarek M. Gene therapy advances: a meta-analysis of AAV usage in clinical settings // *Front Med (Lausanne).* 2022. Vol. 8. P. 809118. doi: 10.3389/fmed.2021.809118
14. Nieuwenhuis B., Haenzi B., Hilton S., et al. Optimization of adeno-associated viral vector-mediated transduction of the corticospinal tract: comparison of four promoters // *Gene Ther.* 2021. Vol. 28, N 1–2. P. 56–74. doi: 10.1038/s41434-020-0169-1
15. <https://investors.meiragtx.com/news-releases/news-release-details/meiragtx-announces-acquisition-vector-neurosciences-gains-phase-2-gene-therapy-program-for-parkinsons-disease>. New York, 2018. Доступ по ссылке: <https://investors.meiragtx.com/news-releases/news-release-details/meiragtx-announces-acquisition-vector-neurosciences-gains-phase-2-gene-therapy-program-for-parkinsons-disease>
16. <https://www.ema.europa.eu/> [интернет]. EMA. European Medicines Agency recommends first gene therapy for approval. 2012. Доступ по ссылке: <https://www.ema.europa.eu/en/news/european-medicines-agency-recommends-first-gene-therapy-approval>
17. <https://www.ema.europa.eu/> [интернет]. EMA. Glybera. Expiry of the marketing authorisation in the European Union. 2017. Доступ по ссылке: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-glybera-expiry-marketing-authorisation-european-union_en.pdf
18. <https://www.fda.gov/> [интернет]. FDA. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss. 2017. Доступ по ссылке: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>
19. <https://www.fda.gov/> [интернет]. FDA. FDA approves innovative gene therapy to treat pediatric patients with spinal muscular atrophy, a rare disease and leading genetic cause of infant mortality. 2019. Доступ по ссылке: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-innovative-gene-therapy-treat-pediatric-patients-spinal-muscular-atrophy-rare-disease>
20. <https://www.ema.europa.eu/> [интернет]. EMA. Upstaza. 2022. Доступ по ссылке: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/upstaza>
21. <https://www.fda.gov/> [интернет]. FDA. HEMGENIX. 2023. Доступ по ссылке: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/hemgenix>
22. <https://www.fda.gov/> [интернет]. FDA. FDA approves first gene therapy for adults with severe hemophilia A. 2023. Доступ по ссылке: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapy-adults-severe-hemophilia#:~:text=The FDA granted approval of Roctavian to BioMarin Pharmaceutical Inc>
23. Hoy S.M. Delandistrogene moxeparvovec: first approval // *Drugs.* 2023. Vol. 83, N 14. P. 1323–1329. doi: 10.1007/s40265-023-01929-x
24. The American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT). ASGCT/Citeline Quarterly Report: Q1 2023. 2023.
25. Shieh P.B., Bönnemann C.G., Müller-Felber W., et al. Re: “moving forward after two deaths in a gene therapy trial of myotubular myopathy” by wilson and flotte // *Hum Gene Ther.* 2020. Vol. 31, N 15–16. P. 787. doi: 10.1089/hum.2020.217
26. Martino A.T., Suzuki M., Markusic D.M., et al. The genome of self-complementary adeno-associated viral vectors increases Toll-like receptor 9-dependent innate immune responses in the liver // *Blood.* 2011. Vol. 117, N 24. P. 6459–6468. doi: 10.1182/blood-2010-10-314518
27. Hösel M., Broxtermann M., Janicki H., et al. Toll-like receptor 2-mediated innate immune response in human nonparenchymal liver cells toward adeno-associated viral vectors // *Hepatology.* 2011. Vol. 55, N 1. P. 287–297. doi: 10.1002/hep.24625
28. Pipe S., Leebeek F.W.G., Ferreira V., et al. Clinical considerations for capsid choice in the development of liver-targeted AAV-based gene transfer // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2019. Vol. 15. P. 170–178. doi: 10.1016/j.omtm.2019.08.015

29. Carestia A., Kim S.J., Horling F., et al. Modulation of the liver immune microenvironment by the adeno-associated virus serotype 8 gene therapy vector // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020. Vol. 20. P. 95–108. doi: 10.1016/j.omtm.2020.10.023
30. Chand D., Mohr F., McMillan H., et al. Hepatotoxicity following administration of onasemnogene abeparvovec (AVXS-101) for the treatment of spinal muscular atrophy // *J Hepatol.* 2021. Vol. 74, N 3. P. 560–566. doi: 10.1016/j.jhep.2020.11.001
31. Valavi E., Aminzadeh M., Amouri P., et al. Effect of prednisolone on linear growth in children with nephrotic syndrome // *J Pediatr (Rio J).* 2020. Vol. 96, N 1. P. 117–124. doi: 10.1016/j.jped.2018.07.014
32. Mushtaq T., Ahmed S.F. The impact of corticosteroids on growth and bone health // *Arch Dis Child.* 2002. Vol. 87, N 2. P. 93–96. doi: 10.1136/ad.87.2.93
33. Boutin S., Monteilhet V., Veron P., et al. Prevalence of serum igg and neutralizing factors against adeno-associated virus (AAV) types 1, 2, 5, 6, 8, and 9 in the healthy population: implications for gene therapy using AAV vectors // *Hum Gene Ther.* 2010. Vol. 21, N 6. P. 704–712. doi: 10.1089/hum.2009.182
34. Calcedo R., Vandenberghe L.H., Gao G., et al. Worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated viruses // *J Infect Dis.* 2009. Vol. 199, N 3. P. 381–390. doi: 10.1086/595830
35. Day J.W., Finkel R.S., Mercuri E., et al. Adeno-associated virus serotype 9 antibodies in patients screened for treatment with onasemnogene abeparvovec // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2021. Vol. 21. P. 76–82. doi: 10.1016/j.omtm.2021.02.014
36. Salvatore M.F., Ai Y., Fischer B., et al. Point source concentration of GDNF may explain failure of phase II clinical trial // *Exp Neurol.* 2006. Vol. 202, N 2. P. 497–505. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.07.015
37. Richardson R.M., Kells A.P., Rosenbluth K.H., et al. Interventional MRI-guided putaminal delivery of AAV2-GDNF for a planned clinical trial in parkinson's disease // *Mol Ther.* 2011. Vol. 19, N 6. P. 1048–1057. doi: 10.1038/mt.2011.11
38. Douglas J.T. Adenoviral vectors for gene therapy // *Mol Biotechnol.* 2007. Vol. 36, N 1. P. 71–80. doi: 10.1007/s12033-007-0021-5
39. Sabatino D.E., Bushman F.D., Chandler R.J., et al. Evaluating the state of the science for adeno-associated virus integration: an integrated perspective // *Mol Ther.* 2022. Vol. 30, N 8. P. 2646–2663. doi: 10.1016/j.ymthe.2022.06.004
40. Nguyen G.N., Everett J.K., Kafle S., et al. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells // *Nat Biotechnol.* 2021. Vol. 39, N 1. P. 47–55. doi: 10.1038/s41587-020-0741-7
41. Nakai H., Montini E., Fuess S., et al. AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice // *Nat Genet.* 2003. Vol. 34, N 3. P. 297–302. doi: 10.1038/ng1179
42. Donsante A., Miller D.G., Li Y., et al. AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma // *Science.* 2007. Vol. 317, N 5837. P. 477. doi: 10.1126/science.1142658
43. Wang L., Xiao R., Andres-Mateos E., Vandenberghe L.H. Single stranded adeno-associated virus achieves efficient gene transfer to anterior segment in the mouse eye // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, N 8. P. e0182473. doi: 10.1371/journal.pone.0182473
44. Feldman E.L., Goutman S.A., Petri S., et al. Amyotrophic lateral sclerosis // *Lancet.* 2022. Vol. 400, N 10360. P. 1363–1380. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01272-7
45. Brzustowicz L.M., Lehner T., Castilla L.H., et al. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2–13.3 // *Nature.* 1990. Vol. 344, N 6266. P. 540–541. doi: 10.1038/344540a0
46. Bürglen L., Lefebvre S., Clermont O., et al. Structure and organization of the human survival motor neurone (SMN) gene // *Genomics.* 1996. Vol. 32, N 3. P. 479–482. doi: 10.1006/geno.1996.0147
47. <https://www.ninds.nih.gov/> [интернет]. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Spinal muscular atrophy. Доступ по ссылке: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/spinal-muscular-atrophy>
48. Singh N.N., Howell M.D., Androphy E.J., Singh R.N. How the discovery of ISS-N1 led to the first medical therapy for spinal muscular atrophy // *Gene Ther.* 2017. Vol. 24, N 9. P. 520–526. doi: 10.1038/gt.2017.34
49. <https://investors.biogen.com/> [интернет]. Biogen Inc. Spinraza prescribing information. 2016. Доступ по ссылке: <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/new-data-cure-sma-highlight-potential-benefit-spinraza>
50. Ratni H., Ebeling M., Baird J., et al. Discovery of Risdiplam, a selective survival of motor neuron-2 (SMN2) gene splicing modifier for the treatment of spinal muscular atrophy (SMA) // *J Med Chem.* 2018. Vol. 61, N 15. P. 6501–6517. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00741
51. <https://www.novartis.com/> [интернет]. Novartis Gene Therapies Inc. Zolgensma prescribing information. 2023. Доступ по ссылке: https://www.novartis.com/us-en/sites/novartis_us/files/zolgensma.pdf
52. <https://www.ema.europa.eu/> [интернет]. Novartis Europharm Limited. Zolgensma. Onasemnogene abeparvovec. 2020. Доступ по ссылке: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zolgensma>
53. Cearley C.N., Wolfe J.H. Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain // *Mol Ther.* 2006. Vol. 13, N 3. P. 528–537. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.11.015
54. Foust K.D., Nurre E., Montgomery C.L., et al. Intravascular AAV9 preferentially targets neonatal neurons and adult astrocytes // *Nat Biotechnol.* 2009. Vol. 27, N 1. P. 59–65. doi: 10.1038/nbt.1515
55. Rudnik-Schöneborn S., Heller R., Berg C., et al. Congenital heart disease is a feature of severe infantile spinal muscular atrophy // *J Med Genet.* 2008. Vol. 45, N 10. P. 635–638. doi: 10.1136/jmg.2008.057950
56. Bowerman M., Swoboda K.J., Michalski J.P., et al. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy // *Ann Neurol.* 2012. Vol. 72, N 2. P. 256–268. doi: 10.1002/ana.23582
57. Hamilton G., Gillingwater T.H. Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron // *Trends Mol Med.* 2013. Vol. 19, N 1. P. 40–50. doi: 10.1016/j.molmed.2012.11.002
58. Mendell J.R., Al-Zaidy S.A., Lehman K.J., et al. Five-year extension results of the phase 1 START trial of onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy // *JAMA Neurol.* 2021. Vol. 78, N 7. P. 834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1272
59. Erdos J., Wild C. Mid- and long-term (at least 12 months) follow-up of patients with spinal muscular atrophy (SMA) treated with nusinersen, onasemnogene abeparvovec, risdiplam or combination therapies: a systematic review of real-world study data // *Eur J Paediatr Neurol.* 2022. Vol. 39. P. 1–10. doi: 10.1016/j.ejpn.2022.04.006
60. Mendell J., Wiggerson M., Alecu I., et al. Long-term follow-up of onasemnogene abeparvovec gene therapy in patients with spinal

- muscular atrophy type 1 // *Neurology*. 2023. Vol. 100, N 17 Suppl. 2. doi: 10.1212/WNL.0000000000202549
- 61.** Mendell J.R., Al-Zaidy S., Shell R., et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy // *N Engl J Med*. 2017. Vol. 377, N 18. P. 1713–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1706198
- 62.** Mercuri E., Muntoni F., Baranello G., et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial // *Lancet Neurol*. 2021. Vol. 20, N 10. P. 832–841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9
- 63.** Day J.W., Finkel R.S., Chiriboga C.A., et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STRIVE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial // *Lancet Neurol*. 2021. Vol. 20, N 4. P. 284–293. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00001-6
- 64.** Strauss K.A., Farrar M.A., Muntoni F., et al. Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with two copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy type 1: the phase III SPRINT trial // *Nat Med*. 2022. Vol. 28, N 7. P. 1381–1389. doi: 10.1038/s41591-022-01866-4
- 65.** Strauss K.A., Farrar M.A., Muntoni F., et al. Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with three copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy: the phase III SPRINT trial // *Nat Med*. 2022. Vol. 28, N 7. P. 1390–1397. doi: 10.1038/s41591-022-01867-3
- 66.** Darras B., Mercuri E., Strauss K., et al. Intravenous and intrathecal onasemnogene abeparvovec gene therapy in symptomatic and presymptomatic spinal muscular atrophy: Long-Term Follow-Up Study (S34.002) // *Neurology*. 2023. Vol. 100, N 17 Suppl. 2. doi: 10.1212/WNL.0000000000202555
- 67.** Reilly A., Chehade L., Kothary R. Curing SMA: are we there yet? // *Gene Ther*. 2023. Vol. 30, N 1–2. P. 8–17. doi: 10.1038/s41434-022-00349-y
- 68.** Besse A., Astord S., Marais T., et al. AAV9-mediated expression of SMN restricted to neurons does not rescue the spinal muscular atrophy phenotype in mice // *Mol Ther*. 2020. Vol. 28, N 8. P. 1887–1901. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.05.011
- 69.** Muzyczka N., Warrington K.H. Jr. Custom adeno-associated virus capsids: the next generation of recombinant vectors with novel tropism // *Hum Gene Ther*. 2005. Vol. 16, N 4. P. 408–416. doi: 10.1089/hum.2005.16.408
- 70.** Yu C.Y., Yuan Z., Cao Z., et al. A muscle-targeting peptide displayed on AAV2 improves muscle tropism on systemic delivery // *Gene Ther*. 2009. Vol. 16, N 8. P. 953–962. doi: 10.1038/gt.2009.59
- 71.** Liqun Wang R., McLaughlin T., Cossette T., et al. Recombinant AAV serotype and capsid mutant comparison for pulmonary gene transfer of α -1-antitrypsin using invasive and noninvasive delivery // *Mol Ther*. 2009. Vol. 17, N 1. P. 81–87. doi: 10.1038/mt.2008.217
- 72.** Work L.M., Büning H., Hunt E., et al. Vascular bed-targeted in vivo gene delivery using tropism-modified adeno-associated viruses // *Mol Ther*. 2006. Vol. 13, N 4. P. 683–693. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.11.013
- 73.** Müller O.J., Kaul F., Weitzman M.D., et al. Random peptide libraries displayed on adeno-associated virus to select for targeted gene therapy vectors // *Nat Biotechnol*. 2003. Vol. 21, N 9. P. 1040–1046. doi: 10.1038/nbt856
- 74.** White S.J., Nicklin S.A., Büning H., et al. Targeted gene delivery to vascular tissue in vivo by tropism-modified adeno-associated virus vectors // *Circulation*. 2004. Vol. 109, N 4. P. 513–519. doi: 10.1161/01.CIR.0000109697.68832.5D
- 75.** Loiler S.A., Conlon T.J., Song S., et al. Targeting recombinant adeno-associated virus vectors to enhance gene transfer to pancreatic islets and liver // *Gene Ther*. 2003. Vol. 10, N 18. P. 1551–1558. doi: 10.1038/sj.gt.3302046
- 76.** Grifman M., Trepel M., Speece P., et al. Incorporation of tumor-targeting peptides into recombinant adeno-associated virus capsids // *Mol Ther*. 2001. Vol. 3, N 6. P. 964–975. doi: 10.1006/mthe.2001.0345
- 77.** Perabo L., Büning H., Kofler D.M., et al. In vitro selection of viral vectors with modified tropism: the adeno-associated virus display // *Mol Ther*. 2003. Vol. 8, N 1. P. 151–157. doi: 10.1016/S1525-0016(03)00123-0
- 78.** Grimm D., Lee J.S., Wang L., et al. In vitro and in vivo gene therapy vector evolution via multispecies interbreeding and retargeting of adeno-associated viruses // *J Virol*. 2008. Vol. 82, N 12. P. 5887–5911. doi: 10.1128/jvi.00254-08
- 79.** Rabinowitz J.E., Bowles D.E., Faust S.M., et al. Cross-dressing the virion the transcapsidation of adeno-associated // *J Virol*. 2004. Vol. 78, N 9. P. 4421–4432. doi: 10.1128/jvi.78.9.4421-4432.2004
- 80.** Gigout L., Rebollo P., Clement N., et al. Altering AAV tropism with mosaic viral capsids // *Mol Ther*. 2005. Vol. 11, N 6. P. 856–865. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.03.005
- 81.** Bartlett J.S., Kleinschmidt J., Boucher R.C., Samulski R.J. Targeted adeno-associated virus vector transduction of nonpermissive cells mediated by a bispecific F(ab')₂ antibody // *Nat Biotechnol*. 1999. Vol. 17, N 2. P. 181–186. Corrected and republished from: *Nat Biotechnol*. 1999. Vol. 17. P. 393. doi: 10.1038/6185
- 82.** Stachler M.D., Chen I., Ting A.Y., Bartlett J.S. Site-specific modification of AAV vector particles with biophysical probes and targeting ligands using biotin ligase // *Mol Ther*. 2008. Vol. 16, N 8. P. 1467–1473. doi: 10.1038/mt.2008.129
- 83.** Arnold G.S., Sasser A.K., Stachler M.D., Bartlett J.S. Metabolic biotinylation provides a unique platform for the purification and targeting of multiple AAV vector serotypes // *Mol Ther*. 2006. Vol. 14, N 1. P. 97–106. doi: 10.1016/j.ymthe.2006.02.014
- 84.** Carlisle R.C., Benjamin R., Briggs S.S., et al. Coating of adeno-associated virus with reactive polymers can ablate virus tropism, enable retargeting and provide resistance to neutralising antisera // *J Gene Med*. 2008. Vol. 10, N 4. P. 400–411. doi: 10.1002/jgm.1161
- 85.** Lee G.K., Maheshri N., Kaspar B., Schaffer D.V. PEG conjugation moderately protects adeno-associated viral vectors against antibody neutralization // *Biotechnol Bioeng*. 2005. Vol. 92, N 1. P. 24–34. doi: 10.1002/bit.20562
- 86.** Fein D.E., Limberis M.P., Maloney S.F., et al. Cationic lipid formulations alter the in vivo tropism of AAV2/9 vector in lung // *Mol Ther*. 2009. Vol. 17, N 12. P. 2078–2087. doi: 10.1038/mt.2009.173
- 87.** Jackson K.L., Dayton R.D., Deverman B.E., Klein R.L. Better targeting, better efficiency for wide-scale neuronal transduction with the synapsin promoter and AAV-PHP.B // *Front Mol Neurosci*. 2016. Vol. 9. P. 116. Corrected and republished from: *Front Mol Neurosci*. 2016. Vol. 9. P. 154. doi: 10.3389/fnmol.2016.00116
- 88.** McLean J.R., Smith G.A., Rocha E.M., et al. Widespread neuron-specific transgene expression in brain and spinal cord following synapsin promoter-driven AAV9 neonatal intracerebroventricular injection // *Neurosci Lett*. 2014. Vol. 576. P. 73–78. doi: 10.1016/j.neulet.2014.05.044

89. Watakabe A., Ohtsuka M., Kinoshita M., et al. Comparative analyses of adeno-associated viral vector serotypes 1, 2, 5, 8 and 9 in marmoset, mouse and macaque cerebral cortex // *Neurosci Res.* 2015. Vol. 93. P. 144–157. doi: 10.1016/j.neures.2014.09.002
90. Dashkoff J., Lerner E.P., Truong N., et al. Tailored transgene expression to specific cell types in the central nervous system after peripheral injection with AAV9 // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016. Vol. 3. P. 16081. doi: 10.1038/mtm.2016.81
91. Koh W., Park Y.M., Lee S.E., Lee C.J. AAV-mediated astrocyte-specific gene expression under human ALDH1L1 promoter in mouse thalamus // *Exp Neurobiol.* 2017. Vol. 26, N 6. P. 350–361. doi: 10.5607/en.2017.26.6.350
92. Georgiou E., Sidiropoulou K., Richter J., et al. Gene therapy targeting oligodendrocytes provides therapeutic benefit in a leukodystrophy model // *Brain.* 2017. Vol. 140, N 3. P. 599–616. doi: 10.1093/brain/aww351
93. Kennedy L.H., Rinholm J.E. Visualization and live imaging of oligodendrocyte organelles in organotypic brain slices using adeno-associated virus and confocal microscopy // *J Vis Exp.* 2017. N 128. P. 56237. doi: 10.3791/56237
94. Hudry E., Vandenberghe L.H. Therapeutic AAV gene transfer to the nervous system: a clinical reality // *Neuron.* 2019. Vol. 101, N 5. P. 839–862. Corrected and republished from: *Neuron.* 2019. Vol. 102, N 1. P. 263. doi: 10.1016/j.neuron.2019.02.017
95. Pulicherla N., Shen S., Yadav S., et al. Engineering liver-detargeted AAV9 vectors for cardiac and musculoskeletal gene transfer // *Mol Ther.* 2011. Vol. 19, N 6. P. 1070–1078. doi: 10.1038/mt.2011.22
96. Wang D., Li S., Gessler D.J., et al. A rationally engineered capsid variant of AAV9 for systemic CNS-directed and peripheral tissue-detargeted gene delivery in neonates // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018. Vol. 9. P. 234–246. doi: 10.1016/j.omtm.2018.03.004
97. Deverman B.E., Pravdo P.L., Simpson B.P., et al. Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain // *Nat Biotechnol.* 2016. Vol. 34, N 2. P. 204–209. doi: 10.1038/nbt.3440
98. Huang Q., Chan K.Y., Tobey I.G., et al. Delivering genes across the blood-brain barrier: LY6A, a novel cellular receptor for AAV-PHP.B capsids // *PLoS One.* 2019. Vol. 14, N 11. P. e0225206. doi: 10.1371/journal.pone.0225206
99. Mueller C., Berry J.D., McKenna-Yasek D.M., et al. SOD1 suppression with adeno-associated virus and microRNA in familial ALS // *N Engl J Med.* 2020. Vol. 383, N 2. P. 151–158. doi: 10.1056/NEJMoa2005056
100. Nizzardo M., Simone C., Rizzo F., et al. Gene therapy rescues disease phenotype in a spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1) mouse model // *Sci Adv.* 2015. Vol. 1, N 2. P. e1500078. doi: 10.1126/sciadv.1500078
101. Le Guiner C., Servais L., Montus M., et al. Long-term microdystrophin gene therapy is effective in a canine model of Duchenne muscular dystrophy // *Nat Commun.* 2017. Vol. 8. P. 16105. doi: 10.1038/ncomms16105
102. Hakim C.H., Wasala N.B., Pan X., et al. A five-repeat micro-dystrophin gene ameliorated dystrophic phenotype in the severe DBA/2J-mdx model of duchenne muscular dystrophy // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2017. Vol. 6. P. 216–230. doi: 10.1016/j.omtm.2017.06.006
103. Goedeker N.L., Dharia S.D., Griffin D.A., et al. Evaluation of rAAVrh74 gene therapy vector seroprevalence by measurement of total binding antibodies in patients with Duchenne muscular dystrophy // *Ther Adv Neurol Disord.* 2023. Vol. 16. P. 17562864221149781. doi: 10.1177/17562864221149781
104. Gomez Limia C., Baird M., Schwartz M., et al. Emerging perspectives on gene therapy delivery for neurodegenerative and neuromuscular disorders // *J Pers Med.* 2022. Vol. 12, N 12. P. 1979. doi: 10.3390/jpm12121979
105. Lim J.A., Yi H., Gao F., et al. Intravenous injection of an AAV-PHP.B vector encoding human acid α -glucosidase rescues both muscle and CNS defects in murine pompe disease // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2019. Vol. 12. P. 233–245. doi: 10.1016/j.omtm.2019.01.006
106. Mack D.L., Poulard K., Goddard M.A., et al. Systemic AAV8-mediated gene therapy drives whole-body correction of myotubular myopathy in dogs // *Mol Ther.* 2017. Vol. 25, N 4. P. 839–854. doi: 10.1016/j.yymthe.2017.02.004
107. Wilson J.M., Flotte T.R. Moving forward after two deaths in a gene therapy trial of myotubular myopathy // *Hum Gene Ther.* 2020. Vol. 31, N 13–14. P. 695–696. doi: 10.1089/hum.2020.182
108. Colle M.A., Piguet F., Bertrand L., et al. Efficient intracerebral delivery of AAV5 vector encoding human ARSA in non-human primate // *Hum Mol Genet.* 2010. Vol. 19, N 1. P. 147–158. doi: 10.1093/hmg/ddp475
109. <https://classic.clinicaltrials.gov/> [интернет]. ClinicalErials.gov archive. Study NCT01801709. A Phase I/II, Open Labeled, Monocentric Study of Direct Intracranial Administration of a Replication Deficient Adeno-associated Virus Gene Transfer Vector Serotype rh.10 Expressing the Human ARSA cDNA to Children With Metachromatic Leukodystrophy. 2014. Доступ по ссылке: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01801709>
110. <https://classic.clinicaltrials.gov/> [интернет]. A Phase I, Dose-Escalating Study to Assess the Safety and Tolerability of CERE-110 [Adeno-Associated Virus (AAV)-Based Vector-Mediated Delivery of Beta-Nerve Growth Factor (NGF)] in Subjects With Mild to Moderate Alzheimer's Disease. 2004. Доступ по ссылке: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00087789>
111. Rafii M.S., Tuszynski M.H., Thomas R.G., et al. Adeno-associated viral vector (serotype 2)-nerve growth factor for patients with alzheimer disease: a randomized clinical trial // *JAMA Neurol.* 2018. Vol. 75, N 7. P. 834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2018.0233
112. Azzouz M., Hottinger A., Paterna J.C., et al. Increased motoneuron survival and improved neuromuscular function in transgenic ALS mice after intraspinal injection of an adeno-associated virus encoding Bcl-2 // *Hum Mol Genet.* 2000. Vol. 9, N 5. P. 803–811. doi: 10.1093/hmg/9.5.803
113. Franz C.K., Federici T., Yang J., et al. Intraspinal cord delivery of IGF-I mediated by adeno-associated virus 2 is neuroprotective in a rat model of familial ALS // *Neurobiol Dis.* 2009. Vol. 33, N 3. P. 473–481. doi: 10.1016/j.nbd.2008.12.003
114. Hardcastle N., Boulis N.M., Federici T. AAV gene delivery to the spinal cord: serotypes, methods, candidate diseases, and clinical trials // *Expert Opin Biol Ther.* 2018. Vol. 18, N 3. P. 293–307. doi: 10.1080/14712598.2018.1416089
115. Mastakov M.Y., Baer K., Kotin R.M., During M.J. Recombinant adeno-associated virus serotypes 2- and 5-mediated gene transfer in the mammalian brain: quantitative analysis of heparin co-infusion // *Mol Ther.* 2002. Vol. 5, N 4. P. 371–380. doi: 10.1006/mthe.2002.0564

- 116.** Carty N., Lee D., Dickey C., et al. Convection-enhanced delivery and systemic mannitol increase gene product distribution of AAV vectors 5, 8, and 9 and increase gene product in the adult mouse brain // *J Neurosci Methods*. 2010. Vol. 194, N 1. P. 144–153. doi: 10.1016/j.jneumeth.2010.10.010
- 117.** McCarty D.M., DiRosario J., Gulaid K., et al. Mannitol-facilitated CNS entry of rAAV2 vector significantly delayed the neurological disease progression in MPS IIIB mice // *Gene Ther*. 2009. Vol. 16, N 11. P. 1340–1352. doi: 10.1038/gt.2009.85
- 118.** Gray S.J., Matagne V., Bachaboina L., et al. Preclinical differences of intravascular AAV9 delivery to neurons and glia: a compar-

- ative study of adult mice and nonhuman primates // *Mol Ther*. 2011. Vol. 19, N 6. P. 1058–1069. doi: 10.1038/mt.2011.72
- 119.** Rahim A.A., Wong A.M., Hoefer K., et al. Intravenous administration of AAV2/9 to the fetal and neonatal mouse leads to differential targeting of CNS cell types and extensive transduction of the nervous system // *FASEB J*. 2011. Vol. 25, N 10. P. 3505–3518. doi: 10.1096/fj.11-182311
- 120.** Tanguy Y., Biferi M.G., Besse A., et al. Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice // *Front Mol Neurosci*. 2015. Vol. 8. P. 36. doi: 10.3389/fnmol.2015.00036

REFERENCES

- 1.** Drouin LM, Agbandje-Mckenna M. Adeno-associated virus structural biology as a tool in vector development. *Future Virol*. 2013;8(12):1183–1199. doi: 10.2217/fvl.13.112
- 2.** Mitchell AM, Nicolson SC, Warischalk JK, Samulski RJ. AAVs anatomy: roadmap for optimizing vectors for translational success. *Curr Gene Ther*. 2010;10(5):319–340. doi: 10.2174/156652310793180706
- 3.** Mendell JR, Sahenk Z, Lehman K, et al. Assessment of systemic delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in children with duchenne muscular dystrophy: a nonrandomized controlled trial. *JAMA Neurol*. 2020;77(9):1122–1131. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1484
- 4.** Thwaite R, Pagès G, Chillón M, Bosch A. AAVrh.10 immunogenicity in mice and humans. Relevance of antibody cross-reactivity in human gene therapy. *Gene Ther*. 2015;22(2):196–201. doi: 10.1038/gt.2014.103
- 5.** Qing K, Mah C, Hansen J, et al. Human fibroblast growth factor receptor 1 is a co-receptor for infection by adeno-associated virus 2. *Nat Med*. 1999;5(1):71–77. doi: 10.1038/4758
- 6.** Ling C, Lu Y, Kalsi JK, et al. Human hepatocyte growth factor receptor is a cellular coreceptor for adeno-associated virus serotype 3. *Hum Gene Ther*. 2010;21(12):1741–1747. doi: 10.1089/hum.2010.075
- 7.** Srivastava A. In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors. *Curr Opin Virol*. 2016;21:75–80. doi: 10.1016/j.coviro.2016.08.003
- 8.** Pillay S, Meyer NL, Puschnik AS, et al. An essential receptor for adeno-associated virus infection. *Nature*. 2016;530(7588):108–112. Corrected and republished from: *Nature*. 2016 Nov 17;539(7629):456. doi: 10.1038/nature16465
- 9.** Nieuwenhuis B, Laperrousaz E, Tribble JR, et al. Improving adeno-associated viral (AAV) vector-mediated transgene expression in retinal ganglion cells: comparison of five promoters. *Gene Ther*. 2023;30(6):503–519. doi: 10.1038/s41434-022-00380-z
- 10.** Georgiadis A, Duran Y, Ribeiro J, et al. Development of an optimized AAV2/5 gene therapy vector for Leber congenital amaurosis owing to defects in RPE65. *Gene Ther*. 2016;23(12):857–862. Corrected and republished from: *Gene Ther*. 2018;25(6):450. doi: 10.1038/gt.2016.66
- 11.** Hinderer C, Katz N, Buza EL, et al. Severe toxicity in nonhuman primates and piglets following high-dose intravenous administration of an adeno-associated virus vector expressing human SMN. *Hum Gene Ther*. 2018;29(3):285–298. doi: 10.1089/hum.2018.015
- 12.** Kuzmin DA, Shutova M, Johnston NR, et al. The clinical landscape for AAV gene therapies. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(3):173–174. doi: 10.1038/d41573-021-00017-7
- 13.** Au HKE, Isalan M, Mielcarek M. Gene therapy advances: a meta-analysis of AAV usage in clinical settings. *Front Med (Lausanne)*. 2022;8:809118. doi: 10.3389/fmed.2021.809118
- 14.** Nieuwenhuis B, Haenzi B, Hilton S, et al. Optimization of adeno-associated viral vector-mediated transduction of the corticospinal tract: comparison of four promoters. *Gene Ther*. 2021;28(1-2):56–74. doi: 10.1038/s41434-020-0169-1
- 15.** <https://investors.meiragtx.com/> [Internet]. MeiraGTx. MeiraGTx announces acquisition of vector neurosciences, gains phase 2 gene therapy program for Parkinson's disease. 2018. Available from: <https://investors.meiragtx.com/news-releases/news-release-details/meiragtx-announces-acquisition-vector-neurosciences-gains-phase/>
- 16.** <https://www.ema.europa.eu/> [Internet]. EMA. European Medicines Agency recommends first gene therapy for approval. 2012. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/european-medicines-agency-recommends-first-gene-therapy-approval>
- 17.** <https://www.ema.europa.eu/> [Internet]. EMA. Glybera. Expiry of the marketing authorisation in the European Union. 2017. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-glybera-expiry-marketing-authorisation-european-union_en.pdf
- 18.** <https://www.fda.gov/> [Internet]. FDA. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss. 2017. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>
- 19.** <https://www.fda.gov/> [Internet]. FDA. FDA approves innovative gene therapy to treat pediatric patients with spinal muscular atrophy, a rare disease and leading genetic cause of infant mortality. 2019. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-innovative-gene-therapy-treat-pediatric-patients-spinal-muscular-atrophy-rare-disease>
- 20.** <https://www.ema.europa.eu/> [Internet]. EMA. Upstaza. 2022. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/upstaza>
- 21.** <https://www.fda.gov/> [Internet]. FDA. HEMGENIX. 2023. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/hemgenix>
- 22.** <https://www.fda.gov/> [Internet]. FDA. FDA Approves First Gene Therapy for Adults with Severe Hemophilia A. 2023. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapy-adults-severe-hemophilia#:~:text=The FDA granted approval of Roctavian to BioMarin Pharmaceutical Inc>

23. Hoy SM. Delandistrogene moxeparvovec: first approval. *Drugs*. 2023;83(14):1323–1329. doi: 10.1007/s40265-023-01929-x
24. The American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT). *ASGCT/Citeline Quarterly Report: Q1 2023*. 2023.
25. Shieh PB, Bönnemann CG, Müller-Felber W, et al. Re: “moving forward after two deaths in a gene therapy trial of myotubular myopathy” by wilson and flotte. *Hum Gene Ther*. 2020;31(15-16):787. doi: 10.1089/hum.2020.217
26. Martino AT, Suzuki M, Markusic DM, et al. The genome of self-complementary adeno-associated viral vectors increases Toll-like receptor 9-dependent innate immune responses in the liver. *Blood*. 2011;117(24):6459–6468. doi: 10.1182/blood-2010-10-314518
27. Hösel M, Broxtermann M, Janicki H, et al. Toll-like receptor 2-mediated innate immune response in human nonparenchymal liver cells toward adeno-associated viral vectors. *Hepatology*. 2011;55(1):287–297. doi: 10.1002/hep.24625
28. Pipe S, Leebeek FWG, Ferreira V, et al. Clinical considerations for capsid choice in the development of liver-targeted AAV-Based gene transfer. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019;15:170–178. doi: 10.1016/j.omtm.2019.08.015
29. Carestia A, Kim SJ, Horling F, et al. Modulation of the liver immune microenvironment by the adeno-associated virus serotype 8 gene therapy vector. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021;20:95–108. doi: 10.1016/j.omtm.2020.10.023
30. Chand D, Mohr F, McMillan H, et al. Hepatotoxicity following administration of onasemnogene abeparvovec (AVXS-101) for the treatment of spinal muscular atrophy. *J Hepatol*. 2021;74(3):560–566. doi: 10.1016/j.jhep.2020.11.001
31. Valavi E, Aminzadeh M, Amouri P, et al. Effect of prednisolone on linear growth in children with nephrotic syndrome. *J Pediatr (Rio J)*. 2020;96(1):117–124. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.07.014
32. Mushtaq T, Ahmed SF. The impact of corticosteroids on growth and bone health. *Arch Dis Child*. 2002;87(2):93–96. doi: 10.1136/ad.87.2.93
33. Boutin S, Monteilhet V, Veron P, et al. Prevalence of serum IgG and neutralizing factors against adeno-associated virus (AAV) types 1, 2, 5, 6, 8, and 9 in the healthy population: implications for gene therapy using AAV vectors. *Hum Gene Ther*. 2010;21(6):704–712. doi: 10.1089/hum.2009.182
34. Calcedo R, Vandenberghe LH, Gao G, et al. Worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated viruses. *J Infect Dis*. 2009;199(3):381–390. doi: 10.1086/595830
35. Day JW, Finkel RS, Mercuri E, et al. Adeno-associated virus serotype 9 antibodies in patients screened for treatment with onasemnogene abeparvovec. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021;21:76–82. doi: 10.1016/j.omtm.2021.02.014
36. Salvatore MF, Ai Y, Fischer B, et al. Point source concentration of GDNF may explain failure of phase II clinical trial. *Exp Neurol*. 2006;202(2):497–505. doi: 10.1016/j.expneurol.2006.07.015
37. Richardson RM, Kells AP, Rosenbluth KH, et al. Interventional MRI-guided putaminal delivery of AAV2-GDNF for a planned clinical trial in parkinson's disease. *Mol Ther*. 2011;19(6):1048–1057. doi: 10.1038/mt.2011.11
38. Douglas JT. Adenoviral vectors for gene therapy. *Mol Biotechnol*. 2007;36(1):71–80. doi: 10.1007/s12033-007-0021-5
39. Sabatino DE, Bushman FD, Chandler RJ, et al. Evaluating the state of the science for adeno-associated virus integration: an integrated perspective. *Mol Ther*. 2022;30(8):2646–2663. doi: 10.1016/j.jymthe.2022.06.004
40. Nguyen GN, Everett JK, Kafle S, et al. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells. *Nat Biotechnol*. 2021;39(1):47–55. doi: 10.1038/s41587-020-0741-7
41. Nakai H, Montini E, Fuess S, et al. AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. *Nat Genet*. 2003;34(3):297–302. doi: 10.1038/ng1179
42. Donsante A, Miller DG, Li Y, et al. AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma. *Science*. 2007;317(5837):477. doi: 10.1126/science.1142658
43. Wang L, Xiao R, Andres-Mateos E, Vandenberghe LH. Single stranded adeno-associated virus achieves efficient gene transfer to anterior segment in the mouse eye. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182473. doi: 10.1371/journal.pone.0182473
44. Feldman EL, Goutman SA, Petri S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 2022;400(10360):1363–1380. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01272-7
45. Brzustowicz LM, Lehner T, Castilla LH, et al. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3. *Nature*. 1990;344(6266):540–541. doi: 10.1038/344540a0
46. Bürglen L, Lefebvre S, Clermont O, et al. Structure and organization of the human survival motor neurone (SMN) gene. *Genomics*. 1996;32(3):479–482. doi: 10.1006/geno.1996.0147
47. <https://www.ninds.nih.gov/> [Internet]. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Spinal muscular atrophy. Available from: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/spinal-muscular-atrophy>
48. Singh NN, Howell MD, Androphy EJ, Singh RN. How the discovery of ISS-N1 led to the first medical therapy for spinal muscular atrophy. *Gene Ther*. 2017;24(9):520–526. doi: 10.1038/gt.2017.34
49. <https://investors.biogen.com/> [Internet]. Biogen Inc. Spinraza prescribing information. 2016. Available from: <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/new-data-cure-sma-highlight-potential-benefit-spinraza>
50. Ratni H, Ebeling M, Baird J, et al. Discovery of Risdiplam, a selective survival of motor neuron-2 (SMN2) gene splicing modifier for the treatment of spinal muscular atrophy (SMA). *J Med Chem*. 2018;61(15):6501–6517. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00741
51. <https://www.novartis.com/> [Internet]. Novartis Gene Therapies Inc. Zolgensma prescribing information. 2023. Available from: https://www.novartis.com/us-en/sites/novartis_us/files/zolgensma.pdf
52. <https://www.ema.europa.eu/> [Internet]. Novartis Europharm Limited. Zolgensma. Onasemnogene abeparvovec. 2020. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zolgensma>
53. Cearley CN, Wolfe JH. Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain. *Mol Ther*. 2006;13(3):528–537. doi: 10.1016/j.jymthe.2005.11.015
54. Foust KD, Nurre E, Montgomery CL, et al. Intravascular AAV9 preferentially targets neonatal neurons and adult astrocytes. *Nat Biotechnol*. 2009;27(1):59–65. doi: 10.1038/nbt.1515
55. Rudnik-Schöneborn S, Heller R, Berg C, et al. Congenital heart disease is a feature of severe infantile spinal muscular atrophy. *J Med Genet*. 2008;45(10):635–638. doi: 10.1136/jmg.2008.057950

56. Bowerman M, Swoboda KJ, Michalski JP, et al. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2012;72(2):256–268. doi: 10.1002/ana.23582
57. Hamilton G, Gillingwater TH. Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron. *Trends Mol Med.* 2013;19(1):40–50. doi: 10.1016/j.molmed.2012.11.002
58. Mendell JR, Al-Zaidy SA, Lehman KJ, et al. Five-year extension results of the phase 1 START trial of onasemnogene abeparvovec in spinal muscular atrophy. *JAMA Neurol.* 2021;78(7):834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1272
59. Erdos J, Wild C. Mid- and long-term (at least 12 months) follow-up of patients with spinal muscular atrophy (SMA) treated with nusinersen, onasemnogene abeparvovec, risdiplam or combination therapies: a systematic review of real-world study data. *Eur J Paediatr Neurol.* 2022;39:1–10. doi: 10.1016/j.ejpn.2022.04.006
60. Mendell J, Wigderson M, Alecu I, et al. Long-term follow-up of onasemnogene abeparvovec gene therapy in patients with spinal muscular atrophy type 1. *Neurology.* 2023;100(17 Suppl. 2). doi: 10.1212/WNL.0000000000202549
61. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(18):1713–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1706198
62. Mercuri E, Muntoni F, Baranello G, et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy type 1 (STRIVE-EU): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2021;20(10):832–841. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00251-9
63. Day JW, Finkel RS, Chiriboga CA, et al. Onasemnogene abeparvovec gene therapy for symptomatic infantile-onset spinal muscular atrophy in patients with two copies of SMN2 (STRIVE): an open-label, single-arm, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2021;20(4):284–293. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00001-6
64. Strauss KA, Farrar MA, Muntoni F, et al. Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with two copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy type 1: the phase III SPRINT trial. *Nat Med.* 2022;28(7):1381–1389. doi: 10.1038/s41591-022-01866-4
65. Strauss KA, Farrar MA, Muntoni F, et al. Onasemnogene abeparvovec for presymptomatic infants with three copies of SMN2 at risk for spinal muscular atrophy: the phase III SPRINT trial. *Nat Med.* 2022;28(7):1390–1397. doi: 10.1038/s41591-022-01867-3
66. Darras B, Mercuri E, Strauss K, et al. Intravenous and intrathecal onasemnogene abeparvovec gene therapy in symptomatic and presymptomatic spinal muscular atrophy: Long-Term Follow-Up Study (S34.002). *Neurology.* 2023;100(17 Suppl. 2). doi: 10.1212/WNL.0000000000202555
67. Reilly A, Chehade L, Kothary R. Curing SMA: are we there yet? *Gene Ther.* 2023;30(1–2):8–17. doi: 10.1038/s41434-022-00349-y
68. Besse A, Astord S, Marais T, et al. AAV9-mediated expression of SMN restricted to neurons does not rescue the spinal muscular atrophy phenotype in mice. *Mol Ther.* 2020;28(8):1887–1901. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.05.011
69. Muzyczka N, Warrington KH Jr. Custom adeno-associated virus capsids: the next generation of recombinant vectors with novel tropism. *Hum Gene Ther.* 2005;16(4):408–416. doi: 10.1089/hum.2005.16.408
70. Yu CY, Yuan Z, Cao Z, et al. A muscle-targeting peptide displayed on AAV2 improves muscle tropism on systemic delivery. *Gene Ther.* 2009;16(8):953–962. doi: 10.1038/gt.2009.59
71. Liqun Wang R, McLaughlin T, Cossette T, et al. Recombinant AAV serotype and capsid mutant comparison for pulmonary gene transfer of α -1-antitrypsin using invasive and noninvasive delivery. *Mol Ther.* 2009;17(1):81–87. doi: 10.1038/mt.2008.217
72. Work LM, Büning H, Hunt E, et al. Vascular bed-targeted in vivo gene delivery using tropism-modified adeno-associated viruses. *Mol Ther.* 2006;13(4):683–693. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.11.013
73. Müller OJ, Kaul F, Weitzman MD, et al. Random peptide libraries displayed on adeno-associated virus to select for targeted gene therapy vectors. *Nat Biotechnol.* 2003;21(9):1040–1046. doi: 10.1038/nbt856
74. White SJ, Nicklin SA, Büning H, et al. Targeted gene delivery to vascular tissue in vivo by tropism-modified adeno-associated virus vectors. *Circulation.* 2004;109(4):513–519. doi: 10.1161/01.CIR.0000109697.68832.5D
75. Loiler SA, Conlon TJ, Song S, et al. Targeting recombinant adeno-associated virus vectors to enhance gene transfer to pancreatic islets and liver. *Gene Ther.* 2003;10(18):1551–1558. doi: 10.1038/sj.gt.3302046
76. Grifman M, Trepel M, Speece P, et al. Incorporation of tumor-targeting peptides into recombinant adeno-associated virus capsids. *Mol Ther.* 2001;3(6):964–975. doi: 10.1006/mthe.2001.0345
77. Perabo L, Büning H, Kofler DM, et al. In vitro selection of viral vectors with modified tropism: the adeno-associated virus display. *Mol Ther.* 2003;8(1):151–157. doi: 10.1016/S1525-0016(03)00123-0
78. Grimm D, Lee JS, Wang L, et al. In vitro and in vivo gene therapy vector evolution via multispecies interbreeding and retargeting of adeno-associated viruses. *J Virol.* 2008;82(12):5887–5911. doi: 10.1128/jvi.00254-08
79. Rabinowitz JE, Bowles DE, Faust SM, et al. Cross-dressing the virion the transcapsidation of adeno-associated. *J Virol.* 2004;78(9):4421–32. doi: 10.1128/jvi.78.9.4421-4432.2004
80. Gigout L, Rebollo P, Clement N, et al. Altering AAV tropism with mosaic viral capsids. *Mol Ther.* 2005;11(6):856–865. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.03.005
81. Bartlett JS, Kleinschmidt J, Boucher RC, Samulski RJ. Targeted adeno-associated virus vector transduction of nonpermissive cells mediated by a bispecific F(ab')₂ antibody. *Nat Biotechnol.* 1999;17(2):181–186. Corrected and republished from: *Nat Biotechnol.* 1999;17(4):393. doi: 10.1038/6185
82. Stachler MD, Chen I, Ting AY, Bartlett JS. Site-specific modification of AAV vector particles with biophysical probes and targeting ligands using biotin ligase. *Mol Ther.* 2008;16(8):1467–1473. doi: 10.1038/mt.2008.129
83. Arnold GS, Sasser AK, Stachler MD, Bartlett JS. Metabolic biotinylation provides a unique platform for the purification and targeting of multiple AAV vector serotypes. *Mol Ther.* 2006;14(1):97–106. doi: 10.1016/j.ymthe.2006.02.014
84. Carlisle RC, Benjamin R, Briggs SS, et al. Coating of adeno-associated virus with reactive polymers can ablate virus tropism, enable retargeting and provide resistance to neutralising antisera. *J Gene Med.* 2008;10(4):400–411. doi: 10.1002/jgm.1161
85. Lee GK, Maheshri N, Kaspar B, Schaffer DV. PEG conjugation moderately protects adeno-associated viral vectors against antibody neutralization. *Biotechnol Bioeng.* 2005;92(1):24–34. doi: 10.1002/bit.20562
86. Fein DE, Limberis MP, Maloney SF, et al. Cationic lipid formulations alter the in vivo tropism of AAV2/9 vector in lung. *Mol Ther.* 2009;17(12):2078–2087. doi: 10.1038/mt.2009.173

87. Jackson KL, Dayton RD, Deverman BE, Klein RL. Better targeting, better efficiency for wide-scale neuronal transduction with the synapsin promoter and AAV-PHP.B. *Front Mol Neurosci.* 2016;9:116. Corrected and republished from: *Front Mol Neurosci.* 2016;9:154. doi: 10.3389/fnmol.2016.00116
88. McLean JR, Smith GA, Rocha EM, et al. Widespread neuron-specific transgene expression in brain and spinal cord following synapsin promoter-driven AAV9 neonatal intracerebroventricular injection. *Neurosci Lett.* 2014;576:73–78. doi: 10.1016/j.neulet.2014.05.044
89. Watakabe A, Ohtsuka M, Kinoshita M, et al. Comparative analyses of adeno-associated viral vector serotypes 1, 2, 5, 8 and 9 in marmoset, mouse and macaque cerebral cortex. *Neurosci Res.* 2015;93:144–157. doi: 10.1016/j.neures.2014.09.002
90. Dashkoff J, Lerner EP, Truong N, et al. Tailored transgene expression to specific cell types in the central nervous system after peripheral injection with AAV9. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016;3:16081. doi: 10.1038/mtm.2016.81
91. Koh W, Park YM, Lee SE, Lee CJ. AAV-mediated astrocyte-specific gene expression under human ALDH1L1 promoter in mouse thalamus. *Exp Neurobiol.* 2017;26(6):350–361. doi: 10.5607/en.2017.26.6.350
92. Georgiou E, Sidiropoulou K, Richter J, et al. Gene therapy targeting oligodendrocytes provides therapeutic benefit in a leukodystrophy model. *Brain.* 2017;140(3):599–616. doi: 10.1093/brain/aww351
93. Kennedy LH, Rinholm JE. Visualization and live imaging of oligodendrocyte organelles in organotypic brain slices using adeno-associated virus and confocal microscopy. *J Vis Exp.* 2017;(128):56237. doi: 10.3791/56237
94. Hudry E, Vandenberghe LH. Therapeutic AAV gene transfer to the nervous system: a clinical reality. *Neuron.* 2019;101(5):839–862. Corrected and republished from: *Neuron.* 2019;102(1):263. doi: 10.1016/j.neuron.2019.02.017
95. Pulicherla N, Shen S, Yadav S, et al. Engineering liver-detargeted AAV9 vectors for cardiac and musculoskeletal gene transfer. *Mol Ther.* 2011;19(6):1070–1078. doi: 10.1038/mt.2011.22
96. Wang D, Li S, Gessler DJ, et al. A rationally engineered capsid variant of AAV9 for systemic CNS-directed and peripheral tissue-detargeted gene delivery in neonates. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018;9:234–246. doi: 10.1016/j.omtm.2018.03.004
97. Deverman BE, Pravdo PL, Simpson BP, et al. Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain. *Nat Biotechnol.* 2016;34(2):204–209. doi: 10.1038/nbt.3440
98. Huang Q, Chan KY, Tobey IG, et al. Delivering genes across the blood-brain barrier: LY6A, a novel cellular receptor for AAV-PHP.B capsids. *PLoS One.* 2019;14(11):e0225206. doi: 10.1371/journal.pone.0225206
99. Mueller C, Berry JD, McKenna-Yasek DM, et al. SOD1 suppression with adeno-associated virus and microRNA in familial ALS. *N Engl J Med.* 2020;383(2):151–158. doi: 10.1056/NEJMoa2005056
100. Nizzardo M, Simone C, Rizzo F, et al. Gene therapy rescues disease phenotype in a spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1) mouse model. *Sci Adv.* 2015;1(2):e1500078. doi: 10.1126/sciadv.1500078
101. Le Guiner C, Servais L, Montus M, et al. Long-term microdystrophin gene therapy is effective in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Nat Commun.* 2017;8:16105. doi: 10.1038/ncomms16105
102. Hakim CH, Wasala NB, Pan X, et al. A five-repeat micro-dystrophin gene ameliorated dystrophic phenotype in the severe DBA/2J-mdx model of duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2017;6:216–230. doi: 10.1016/j.omtm.2017.06.006
103. Goedeker NL, Dharia SD, Griffin DA, et al. Evaluation of rAAVrh74 gene therapy vector seroprevalence by measurement of total binding antibodies in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Ther Adv Neurol Disord.* 2023;16:17562864221149781. doi: 10.1177/17562864221149781
104. Gomez Limia C, Baird M, Schwartz M, et al. Emerging perspectives on gene therapy delivery for neurodegenerative and neuromuscular disorders. *J Pers Med.* 2022;12(12):1979. doi: 10.3390/jpm12121979
105. Lim JA, Yi H, Gao F, et al. Intravenous injection of an AAV-PHP.B vector encoding human acid α -glucosidase rescues both muscle and CNS defects in murine pompe disease. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2019;12:233–245. doi: 10.1016/j.omtm.2019.01.006
106. Mack DL, Poulard K, Goddard MA, et al. Systemic AAV8-mediated gene therapy drives whole-body correction of myotubular myopathy in dogs. *Mol Ther.* 2017;25(4):839–854. doi: 10.1016/j.ymt.2017.02.004
107. Wilson JM, Flotte TR. Moving forward after two deaths in a gene therapy trial of myotubular myopathy. *Hum Gene Ther.* 2020;31(13-14):695–696. doi: 10.1089/hum.2020.182
108. Colle MA, Piguet F, Bertrand L, et al. Efficient intracerebral delivery of AAV5 vector encoding human ARSA in non-human primate. *Hum Mol Genet.* 2010;19(1):147–158. doi: 10.1093/hmg/ddp475
109. <https://classic.clinicaltrials.gov/> [Internet]. ClinicalTrials.gov archive. Study NCT01801709. A Phase I/II, Open Labeled, Monocentric Study of Direct Intracranial Administration of a Replication Deficient Adeno-associated Virus Gene Transfer Vector Serotype rh.10 Expressing the Human ARSA cDNA to Children With Metachromatic Leukodystrophy. 2014. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01801709>
110. <https://clinicaltrials.gov/> [Internet]. A Phase I, Dose-Escalating Study to Assess the Safety and Tolerability of CERE-110 [Adeno-Associated Virus (AAV)-Based Vector-Mediated Delivery of Beta-Nerve Growth Factor (NGF)] in Subjects With Mild to Moderate Alzheimer's Disease. 2004. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00087789>
111. Rafii MS, Tuszynski MH, Thomas RG, et al. Adeno-associated viral vector (serotype 2)-nerve growth factor for patients with alzheimer disease: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol.* 2018;75(7):834–841. doi: 10.1001/jamaneurol.2018.0233
112. Azzouz M, Hottinger A, Paterna JC, et al. Increased motoneuron survival and improved neuromuscular function in transgenic ALS mice after intraspinal injection of an adeno-associated virus encoding Bcl-2. *Hum Mol Genet.* 2000;9(5):803–811. doi: 10.1093/hmg/9.5.803
113. Franz CK, Federici T, Yang J, et al. Intraspinal cord delivery of IGF-I mediated by adeno-associated virus 2 is neuroprotective in a rat model of familial ALS. *Neurobiol Dis.* 2009;33(3):473–481. doi: 10.1016/j.nbd.2008.12.003
114. Hardcastle N, Boulis NM, Federici T. AAV gene delivery to the spinal cord: serotypes, methods, candidate diseases, and clinical trials. *Expert Opin Biol Ther.* 2018;18(3):293–307. doi: 10.1080/14712598.2018.1416089
115. Mastakov MY, Baer K, Kotin RM, During MJ. Recombinant adeno-associated virus serotypes 2- and 5-mediated gene transfer in the mammalian brain: quantitative analysis of heparin co-infusion. *Mol Ther.* 2002;5(4):371–380. doi: 10.1006/mthe.2002.0564

- 116.** Carty N, Lee D, Dickey C, et al. Convection-enhanced delivery and systemic mannitol increase gene product distribution of AAV vectors 5, 8, and 9 and increase gene product in the adult mouse brain. *J Neurosci Methods*. 2010;194(1):144–153. doi: 10.1016/j.jneumeth.2010.10.010
- 117.** McCarty DM, DiRosario J, Gulaid K, et al. Mannitol-facilitated CNS entry of rAAV2 vector significantly delayed the neurological disease progression in MPS IIIB mice. *Gene Ther*. 2009;16(11):1340–1352. doi: 10.1038/gt.2009.85
- 118.** Gray SJ, Matagne V, Bachaboina L, et al. Preclinical differences of intravascular aav9 delivery to neurons and glia: a com-

parative study of adult mice and nonhuman primates. *Mol Ther*. 2011;19(6):1058–1069. doi: 10.1038/mt.2011.72

119. Rahim AA, Wong AM, Hoefer K, et al. Intravenous administration of AAV2/9 to the fetal and neonatal mouse leads to differential targeting of CNS cell types and extensive transduction of the nervous system. *FASEB J*. 2011;25(10):3505–3518. doi: 10.1096/fj.11-182311

120. Tanguy Y, Biferi MG, Besse A, 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. doi: 10.3389/fnmol.2015.00036

ОБ АВТОРАХ

* **Макаревич Павел Игоревич**, канд. мед. наук;
адрес: Россия, 119192, Москва,
Ломоносовский пр-т, д. 27, к. 10;
ORCID: 0000-0001-8869-5190;
eLibrary SPIN: 7259-9180;
e-mail: makarevichpi@my.msu.ru

Акопян Жанна Алексеевна, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-0989-7825;
eLibrary SPIN: 4450-0324;
e-mail: akopyanza@my.msu.ru

Слободкина Екатерина Александровна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0003-4390-1864;
eLibrary SPIN: 5387-9096;
e-mail: slobodkinaea@my.msu.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Pavel I. Makarevich**, MD, Cand. Sci. (Medicine);
address: 27 bldg 10 Lomonosovsky avenue, 119192 Moscow,
Russia;
ORCID: 0000-0001-8869-5190;
eLibrary SPIN: 7259-9180;
e-mail: makarevichpi@my.msu.ru

Zhanna A. Akopyan, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-0989-7825;
eLibrary SPIN: 4450-0324;
e-mail: akopyanza @my.msu.ru

Ekaterina A. Slobodkina, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0003-4390-1864;
eLibrary SPIN: 5387-9096;
e-mail: slobodkinaea@my.msu.ru