

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.09.32-37>

Вариант-модификатор тяжести спинальной мышечной атрофии 5q с.859G>C SMN2 у российских пациентов

Лотник Е.Е., Ахкямова М.А., Забненкова В.В., Михальчук К.А., Поляков А.В., Щагина О.А.

ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

Введение. Поиск модификаторов тяжести спинальной мышечной атрофии (СМА 5q), а также изучение известных модификаторов в различных когортах пациентов остаются актуальной задачей из-за невозможности объяснить клиническое разнообразие СМА 5q лишь вариациями копий гена *SMN2*. В ряде работ была описана ассоциация варианта с.859G>C в экзоне 7 *SMN2* с более мягким клиническим фенотипом СМА 5q из-за увеличения включения экзона 7 в транскрипт гена *SMN2* и, следовательно, генерирования большего количества функционального белка SMN.

Цель исследования: изучить модифицирующее действие варианта с.859G>C в клинической структуре СМА 5q у российских пациентов.

Материалы. Поиск варианта с.859G>C p.(Gly287Arg) гена *SMN2* проведен у 488 неродственных пациентов, направленных с 2020 по 2022 гг. на молекулярно-генетическую диагностику СМА 5q в лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ. Контрольную группу составили 200 образцов ДНК жителей РФ с 2 копиями *SMN1* и 2 копиями *SMN2*.

Методы: мультиплексная проба-зависимая лигазная реакция с последующей амплификацией (MLPA).

Результаты: частота с.859G>C гена *SMN2* у российских пациентов со СМА 5q составила 0,2%. Таким образом, оценить влияние с.859G>C в качестве фактора, модифицирующего фенотип СМА 5q, не представляется возможным из-за крайне низкой частоты встречаемости данного варианта.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия 5q, *SMN2*, модифицирующий фактор с.859G>C.

Для цитирования: Лотник Е.Е., Ахкямова М.А., Забненкова В.В., Михальчук К.А., Поляков А.В., Щагина О.А. Вариант-модификатор тяжести спинальной мышечной атрофии 5q с.859G>C *SMN2* у российских пациентов. *Медицинская генетика* 2024; 23(9): 32-37.

Автор для корреспонденции: Лотник Екатерина Евгеньевна; e-mail: lotnik@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 09.09.2024

Variant modifier of the severity of spinal muscular atrophy 5q C.859G>C SMN2 in Russian patients

Lotnik E.E., Akhkiyomova M.A., Zabnenkova V.V., Mikhalechuk K.A., Polyakov A.V., Schagina O.A.

Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation

Background. The research and study spinal muscular atrophy (SMA 5q) severity modifiers in different patient cohorts remains a crucial task. In practice it is not possible to explain the clinical diversity of SMA 5q only by variations of *SMN2* copies. For the c.859G>C variant in exon 7 of *SMN2*, several studies have described an association with a milder clinical phenotype of SMA due to increased inclusion of exon 7 in the *SMN2* gene transcript and generation of more functional SMN protein.

Aim: to explore the modifying effect of the c.859G>C variant in the clinical structure of SMA 5q in Russian patients.

Materials. The search for the c.859G>C p.(Gly287Arg) variant in *SMN2* gene was performed in 488 unrelated patients referred for molecular genetic diagnostics of spinal muscular atrophy from 2020 to 2022 to the laboratory of DNA diagnostics in the Research Center for Medical Genetics, Moscow. The control group consisted of 200 DNA samples from residents of the Russian Federation with 2 copies of *SMN1* and 2 copies of *SMN2*.

Methods. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA).

Results. The frequency of c.859G>C *SMN2* in Russian patients was 0.2%. In summary, it is not possible to assess the effect of c.859G>C as a factor modifying the phenotype of SMA due to the extremely low frequency of this variant.

Keywords: spinal muscular atrophy 5q, *SMN2*, modifying factor c.859G>C.

For citation: Lotnik E.E., Akhkiyomova M.A., Zabnenkova V.V., Mikhalechuk K.A., Polyakov A.V., Schagina O.A. Variant modifier of the severity of spinal muscular atrophy 5q C.859G>C *SMN2* in Russian patients. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(9): 32-37. (In Russ.)

Corresponding author: Ekaterina Lotnik; **e-mail:** lotnik@mail.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for RCMG.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 09.09.2024

Введение

Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (СМА 5q) — прогрессирующее аутосомно-рецессивное нервно-мышечное заболевание, возникающее вследствие деградации α -мотонейронов передних рогов спинного мозга. Частота заболевания варьирует в различных популяциях от 1:6000 до 1:10 000 человек [4], в России по данным Zabnenkova V.V с соавт. (2016) была рассчитана как 1 на 5184 новорожденных. Однако согласно информации пилотных проектов по неонатальному скринингу она составляет 1 на 7700–7900 [5], а по данным скрининга 2023 г. частота в России составила 1 случай на 10 789 новорожденных [6]. Выделяют 4 клинических типа СМА (I–IV) в зависимости от возраста манифестации заболевания и приобретения двигательных навыков при естественном течении болезни [3].

Ген белка выживаемости мотонейронов (survival motor neuron) имеет теломерную (*SMN1*) и центромерную (*SMN2*) копии [1,2]. Оба гена состоят из девяти экзонов (1, 2a, 2b, 3–8) с различием в 5 нуклеотидов в последовательностях ДНК интрона 6 (In6, G/A), экзона 7 (Ex7, C/T), интрона 7 (In7+100, A/G; In7+214, A/G) и экзона 8 (Ex8, G/A). Клинически значимым различием последовательностей двух генов является единственный нуклеотид с.840C>T в экзоне 7 *SMN2*, который нарушает работу экзонного энхансера сплайсинга (ESE). Вариант приводит к альтернативному сплайсингу мРНК, существенному снижению функционального полноразмерного белка (FL-SMN) и резкому увеличению продукции SMN Δ 7 (продукт центромерной копии гена, лишенный экзона 7). Из-за отсутствия в большей части транскрипта *SMN2* экзона 7, псевдоген экспрессирует лишь 10% FL-SMN в отличие от *SMN1*, в норме экспрессирующего 100% белка [7].

Описаны различные положительные модифицирующие факторы генетической и экзогенной природы, оказывающие влияние на тяжесть течения и возраст клинического проявления заболевания [8]. Множество работ [9–11] посвящено поиску модификаторов, которые могут влиять на фенотип СМА посредством воздействия на экспрессию гена *SMN*. Один из них, вариант с.859G>C p. (Gly287Arg) гена *SMN2*, расположен в составном регуляторном элементе сплайсин-

га в центре экзона 7 и обнаружен у пациентов с отсутствием копий экзона 7 гена *SMN1* и более легкой, чем ожидалось исходя из числа копий *SMN2*, формой СМА [12,13]. Наблюдается аддитивный эффект на фенотип в зависимости от того, обнаружен ли вариант с.859G>C в одной или большем числе копий *SMN2* [14]. Экспериментально на системе миниген показано, что вариант с.859G>C *SMN2* приводит к увеличению включения экзона 7 (до 70%) во время сплайсинга пре-мРНК, по сравнению с минигеном *SMN2* дикого типа (уровень включения 50%) [15]. Однако механизм этого явления остается не до конца ясен. Prior T.W. с соавт. (2009) выдвигают гипотезу, что данная замена создает новый мотив распознавания последовательности для SF2/ASF — сайта связывания богатых серином/аргинином белков (SR), что способствует сплайсингу пре-мРНК [15]. Vezain с соавт. (2010) показывают, что с.859G>C разрушает сайт связывания гетерогенного ядерного рибонуклеопротеина (гяРНП) A1-зависимого сайленсера, но не исключают и возможность появления энхансера, распознаваемого активатором сплайсинга, отличным от SF2/ASF [12].

Спектры и частоты вариантов в локусе SMN различаются в разных популяциях, поэтому актуальным остается как изучение известных модификаторов, так и поиск новых.

Целью работы является изучение влияния варианта с.859G>C на разнообразие клинических фенотипов СМА 5q у российских пациентов.

Материалы и методы

Поиск варианта с.859G>C p.(Gly287Arg) гена *SMN2* проведен у 488 неродственных пациентов, направленных с 2020 по 2022 гг. (до начала масштабных пилотных проектов по скринингу новорожденных) на молекулярно-генетическую диагностику СМА в лабораторию ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ, у которых была выявлена делеция экзона 7 гена *SMN1* в гомозиготном состоянии. Генотипы пациентов, медиана и диапазон возраста обращения представлены в **табл. 1**. Контрольная группа представлена образцами ДНК 200 жителей РФ с 2 копиями *SMN1* и 2 копиями *SMN2*.

ДНК была выделена из цельной крови, забранной в пробирку с ЭДТА, с использованием набора Wizard® GenomicDNA Purification Kit (PROMEGA, USA) согласно протоколу производителя. Для определения числа копий генов *SMN1* и *SMN2* был использован набор SALSA MLPA Probemix P060 (MRC Holland, Нидерланды) согласно протоколу фирмы производителя.

Для регистрации варианта с.859G>C p.(Gly287Arg) *SMN2* была разработана система, основанная на мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции с последующей амплификацией (MLPA-система) (рисунок). Для визуального разделения теломерной и центромерной копий гена выбраны точки различия с.840C>T ex7 *SMN2* и с.835-44G>A int6 *SMN1*. Дизайн олигонуклеотидных проб для лигирования (табл. 2) и универсальных праймеров (табл. 3) выполнен в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ», синтез – ЗАО «Евроген», г. Москва. Мультиплексная лигазная реакция проводилась на программируемом термоциклере «ДНК-технология» (Россия) в 2 этапа: лигирование с последующей ПЦР.

Результаты детектировали методом электрофореза в 8% полиакриламидном геле (ПААГ) с соотношением акриламида (АА): бисакриламида (БА) 29:1,3. В качестве маркера молекулярного веса использовали ДНК фага I.

Результаты

Вариант с.859G>C в гетерозиготном состоянии обнаружен у двух пробандов с 0 копий ex7 гена *SMN1* и 3 копиями ex7 *SMN2*. Оба пациента мужского пола,

первый – из Республики Крым, обратившийся за диагностикой в возрасте 14 лет. Второй мужчина 22 лет из Пермского края.

Возраст обращения за диагностикой пациентов с тремя копиями *SMN2* в исследуемой выборке (N=300) варьирует от 4 месяцев до 42 лет, медиана составила 8 лет 5 месяцев. Очевидно, что оба пациента обратились за диагностикой в более позднем возрасте, чем ожидалось. Однако наблюдаемое число пациентов с вариантом с.859G>C *SMN2* слишком невелико для статистического анализа.

Лишь 0,2% российских пациентов с делецией экзона 7 *SMN1* в гомозиготном состоянии имеют вариант с.859G>C *SMN2*. Таким образом, частота данного варианта у российских пациентов ниже, чем в исследованных когортах пациентов других стран (табл. 4). Необходимо отметить, что в нашем исследовании не выявлено ни одного гомозиготного носителя варианта.

По данным М. Calucho с соавт. (2018), в когорте из 625 испанских пациентов со СМА аллельная частота с.859G>C составляет 1,04%. Вариант выявлен у 4 пациентов со II типом СМА с делецией 7ex и 2 копиями *SMN2* в гетерозиготном состоянии, у 4 пациентов с III типом СМА с двумя копиями *SMN2*, у троих из них в гомозиготном состоянии. Еще 2 человека с III типом имеют вариант в одной из трех копий *SMN2*. Среди образцов 94 ДНК пациентов из Франции с гомозиготной делецией гена *SMN1* Vezain M. с соавт. (2010) обнаружили с.859G>C гена *SMN2* у двух пациентов мужского пола, страдающих СМА типа IIIa. Первый пациент имел две копии гена *SMN2* и вариант с.859G>C в обе-

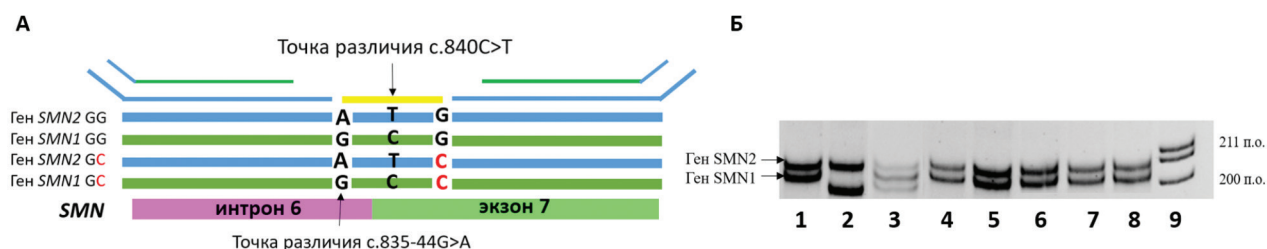


Рисунок. А – MLPA-система с указанием различия в последовательностях генов *SMN1* и *SMN2*: с.840C>T экзона 7 *SMN2* и с.835-44G>A интрона 6 *SMN1*. Красным выделен вариант с.859G>C *SMN2*. Б – Результат использования MLPA-системы, визуализированный в ПАА-геле: 1. контрольный образец, норма, генотип *SMN2*-GG, *SMN1*-GG; 2. контрольный образец, делеция гена *SMN1*, генотип *SMN2*-GC; 3. контрольный образец, норма, генотип *SMN2*-GG, *SMN1*-GG, генотип *SMN2*-GC; 4-8. анализируемые образцы; 9. маркер молекулярного веса

Figure 1. А – MLPA system indicating the difference in the sequences of the *SMN1* and *SMN2* genes: c.840C>T exon 7 *SMN2* and c.835-44G>A intron 6 *SMN1*. The variant c.859G>C *SMN2* is highlighted in red. Б – The result of using the MLPA system, visualized in PAA gel: 1. control sample, norm, genotype *SMN2*-GG, *SMN1*-GG; 2. control sample, deletion of the *SMN1* gene, genotype *SMN2*-GC; 3. control sample, norm, genotype *SMN2*-GG, *SMN1*-GG, genotype *SMN2*-GC; 4-8. analyzed samples; 9. molecular weight marker

их копиях. У пациента 2 было три копии *SMN2* и вариант с.859G>C в одной из них. Частота составила 1,6%. В выборке из 217 пациентов из США [9] у 2 человек выявлена замена с.859G>C, частота – 0,7%. У первого пациента подтверждены 2 копии *SMN2* и установлена СМА типа IIIa. У второго пациента было определено наличие с.859G>C в двух копиях *SMN2*, СМА типа IIIb. В другой выборке из 44 пациентов из США [15] у 3 человек выявлен вариант с.859G>C, частота со-

ставляла 4,55%. Первый случай – 42-летняя пациентка со СМА типа IIIb, имеющая гомозиготную замену с.859G>C в двух копиях *SMN2*. У 31-летней женщины с верифицированным диагнозом СМА типа IIIa подтверждены 2 копии *SMN2* и носительство варианта в гетерозиготном состоянии. У третьего пациента мужского пола 29 лет со СМА типа IIIb было показано наличие 3 копий *SMN2*, в одной из которых выявлен изучаемый вариант.

Таблица 1. Генотипы и возраст пациентов при обращении за генетическим тестированием на СМА

Table 1. Genotypes and age of patients when applying for genetic testing for SMA

Количество обратившихся	Число копий <i>SMN1</i>	Число копий <i>SMN2</i>	Возраст поступления на диагностику	Медиана возраста обращения
2 чел.	0	1	6 дней – 3 мес. 8 дней	1 мес. 22 дня
101 чел.	0	2	2 дня – 36 лет	5 мес. 17 дней
300 чел.	0	3	4 месяца – 42 года	8 лет 5 мес.
84 чел.	0	4	12 дней – 53 года	17 лет 5 мес.
1 чел.	0	5	38 лет	–

Таблица 2. Последовательности олигонуклеотидных проб и условия лигирования для MLPA

Table 2. Oligonucleotide sample sequences and ligation conditions for MLPA

Название	Последовательность олигонуклеотидов	t° лиги-рования
MSMNMOD_FG	GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC GCTTTTTAACATCCATAT AAAGCTATCTATATATAGCTATCTATG	62
MSMNMOD_FA	GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC AAAATGCTTTTTAACATC CATATAAAGCTATCTATATATAGCTATCTATA	62
MSMNMOD_RG	GGAAGGTGCTCACATTCCTTAAATTAAG TTTTATTTTCGA TGCGATCCGATGCCTTCATG	62
MSMNMOD_RC	CGAAGGTGCTCACATTCCTTAAATTAAG GATGCGATCCGAT GCCTTCATG	62
MSMNMOD_L	TCTATATAGCTATTTTTTTAACTTCCTTTATTTTCCTTACAG GGTTTCAGACAAAATCAAAAAGAA	62

Таблица 3. Последовательности универсальных праймеров для второго этапа реакций MLPA

Table 3. Sequences of universal primers for the second stage of MLPA reactions

Название	Последовательность олигонуклеотидов
UniSH	GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC
UniRMY	CATGAAGGCATCGGATCGCATC

Таблица 4. Частота варианта с.859G>C у пациентов со СМА 5q в разных странах

Table 4. Variant с.859G>C frequency in patients with СМА 5q in different countries

Страна	Испания [18]	Франция [12]	США [9,15]	Россия, собственные данные
Аллельная частота, %	1,04%	1,6%	0,7% [9] и 4,55% [15]	0,2%

Такое различие в частотах может быть связано с наличием эффекта основателя в тех популяциях, где данный вариант является распространенным, что не противоречит предположению о том, что он является результатом гомологичной рекомбинации [14]. Так, у 11 пациентов со СМА испанского, итальянского, датского и чилийского происхождения углубленный анализ всей области *SMN2* позволил идентифицировать специфическую последовательность, названную Smn2-859C.1, имеющуюся у всех пациентов в неравновесном сцеплении с вариантом с.859G>C. Также установлен гаплотип Smn2-859C.2 в цис-конфигурации по отношению к Smn2-859C.1, создающий комплексный аллель. Данные гаплотипы различаются, но идентичный блок не менее 8848 п.н. вокруг с.859G>C присутствует в обоих. Этот факт указывает на возможное происхождение комплексного аллеля в результате гомологичной рекомбинации, что подразумевает событие двойного кроссинговера. Ни у одного пациента не было обнаружено варианта с.859G>C в ассоциации с каким-либо другим гаплотипом, независимо от их этнической принадлежности, что может указывать на общее происхождение.

Характеристика гаплотипов в работе S. Bernal с соавт. (2010), показала, что 10 неродственных пациентов из Испании с изучаемым вариантом имеют общий аллель в многокопийном маркере C272. Анализ маркера C212 позволил выявить минимальную разницу в размере двух аллелей, редко ассоциированных с *SMN2* у пациентов со СМА без с.859G>C, что авторы объясняют проскальзыванием при репликации в предыдущем поколении. Таким образом, неравновесие сцепления варианта с.859G>C с данными аллелями свидетельствует о том, что причиной распространенности данного варианта является эффект основателя у пациентов испанского, итальянского, датского и чилийского происхождения [16].

Частота встречаемости варианта с.859G>C *SMN2* в популяционной базе данных gnomAD различается в различных этнических когортах и колеблется от 0,005% в азиатских популяциях до 0,82% среди южных европейцев [17]. При картировании и выравнивании на референсный геном последовательностей генов локуса *SMN*, полученных в результате NGS-секвенирования, возможны ошибки, связанные с наличием множества гомологичных последовательностей в данном локусе. Поэтому мы изучили прямую частоту варианта в контрольной группе из 200 человек, имеющих 2 копии *SMN1* и 2 копии *SMN2*. В итоге были выявлены 3 носителя с.859G>C *SMN2* в гетерозиготном состоя-

нии. Таким образом аллельная частота варианта у жителей РФ с двумя копиями генов *SMN1* и *SMN2* составила 0,75% и соответствует частоте у жителей Европы и белого населения Америки.

Также интересно отметить, что частота данного варианта не имеет достоверных различий на хромосомах с делецией ex7 *SMN1* (2 хромосомы из 976) и хромосомах без делеции (3 из 400) $\chi^2 = 2,328$ $p=0,127$ Это подтверждает факт, что возникновение данного варианта и делеция ex7 гена *SMN1* являются независимыми мутационными событиями.

Результат исследования показал, что оценить влияние с.859G>C гена *SMN2* в качестве фактора, модифицирующего фенотип СМА, не представляется возможным из-за крайне низкой частоты встречаемости данного варианта в выборке российских пациентов со СМА 5q.

Литература

1. Brzustowicz L.M., Lehner T., Castilla et al. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2 – q13.3. *Nature*. 1990; 344: 540–541.
2. Sumner C.J. Molecular mechanisms of spinal muscular atrophy. *J Child Neurol*. 2007;22(8):979–89. doi: 10.1177/0883073807305787.
3. Российские клинические рекомендации «Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q», 2023. [Электронный ресурс]. Режим доступа https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/593_3 Дата обращения: 01.04.2024.
4. Sugarman E.A., Nagan N., Zhu H. et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: Clinical laboratory analysis of >72400 specimens. *Eur J Hum Genet* 2012;20:27–32. DOI: 10.1038/ejhg.2011.134
5. Mikhailchuk K., Shchagina O., Chukhrova A., et al. Pilot Program of Newborn Screening for 5q Spinal Muscular Atrophy in the Russian Federation. *Int J Neonatal Screen*. 2023;9(2):29. doi: 10.3390/ijns9020029.
6. Воронин С.В., Захарова Е.Ю., Байдакова Г.В., и др. Расширенный неонатальный скрининг на наследственные заболевания в России: первые итоги и перспективы. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2024; 103 (1): 16–29. DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-1-16-29
7. Lorson C.L., Hahnen E., Androphy E.J., Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(11):6307–11. doi: 10.1073/pnas.96.11.6307.
8. Ахьямова М.А., Шагина О.А., Поляков А.В. Факторы, модифицирующие течение спинальной мышечной атрофии 5q. *Нервно-мышечные болезни*. 2023;13(4):62–73.
9. Ruhno C., McGovern V.L., Avenarius M.R., et al. Complete sequencing of the SMN2 gene in SMA patients detects SMN gene deletion junctions and variants in SMN2 that modify the SMA phenotype. *Hum Genet*. 2019;138(3):241–256. doi: 10.1007/s00439-019-01983-0.
10. Wadman R.I., Jansen M.D., Curial C.A.D., et al. Analysis of FUS, PFN2, TDP-43, and PLS3 as potential disease severity modifiers in spinal muscular atrophy. *Neurol Genet*. 2019;6(1):e386. doi: 10.1212/NXG.000000000000386.

11. Jedrzejowska M., Milewski M., Zimowski J., et al. Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of SMN2 gene copies, deletion in the NAIP gene and probably gender influence the course of the disease. *Acta Biochim Pol.* 2009;56(1):103-8.
12. Vezain M., Saugier-Verber P., Goïna E., et al. A rare SMN2 variant in a previously unrecognized composite splicing regulatory element induces exon 7 inclusion and reduces the clinical severity of spinal muscular atrophy. *Hum Mutat.* 2010;31(1):E1110-25. doi: 10.1002/humu.21173.
13. Odabaş S.P., Bal E., Yelgen G., et al. (2022). Exon7 Targeted CRISPR-Prime Editing Approaches for SMN2 Gene Editing in Spinal Muscular Atrophy (SMA) Disease Can Increase In Vitro SMN Expression. *bioRxiv* 2022.03.21.484406; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.03.21.484406>
14. Blasco-Pérez L., Costa-Roger M., Leno-Colorado J. Deep molecular characterization of milder spinal muscular atrophy patients carrying the c.859G>C variant in SMN2. *Int J Mol Sci* 2022;23(15):82–9. DOI: 10.3390/ijms23158289
15. Prior T.W., Krainer A.R., Hua Y., et al. A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene. *Am J Hum Genet.* 2009;85(3):408-13. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.08.002.
16. Bernal S., Alías L., Barceló M.J., et al. The c.859G>C variant in the SMN2 gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet.* 2010;47(9):640-2. doi: 10.1136/jmg.2010.079004.
17. Genome Aggregation Database (gnomAD). [Электронный ресурс]. *Режим доступа:* https://gnomad.broadinstitute.org/variant/5-69372372-G-C?dataset=gnomad_r2_1 Дата обращения: 01.05.2024
18. Calucho M., Bernal S., Alías L., et al. Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(3):208-215. doi: 10.1016/j.nmd.2018.01.003.
6. Voronin S.V., Zakharova E.Yu., Baydakova G.V., et al. Rasshirennyy neonatal'nyy skrining na nasledstvennyye zabolovaniya v Rossii: pervyye itogi i perspektivy [Advanced neonatal screening for hereditary diseases in Russia: first results and future prospects]. *Pediatriya im. G.N. Speranskogo* [Pediatrics n.a. G.N. Speransky]. 2024; 103 (1): 16-29. DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-1-16-29 (In Russ.)
7. Lorson C.L., Hahnen E., Androphy E.J., Wirth B. A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(11):6307-11. doi: 10.1073/pnas.96.11.6307.
8. Akhkiyomova M.A., Shchagina O.A., Polyakov A.V. Faktory, modifitsiruyushchiye techeniye spinal'noy myshechnoy atrofii 5q [Factors modifying the course of spinal muscular atrophy 5q]. *Nervno-myshechnyye bolezni* [Neuromuscular Diseases]. 2023;13(4):62-73. (In Russ.)
9. Ruhno C., McGovern V.L., Avenarius M.R., et al. Complete sequencing of the SMN2 gene in SMA patients detects SMN gene deletion junctions and variants in SMN2 that modify the SMA phenotype. *Hum Genet.* 2019;138(3):241-256. doi: 10.1007/s00439-019-01983-0.
10. Wadman R.I., Jansen M.D., Curial C.A.D., et al. Analysis of FUS, PFN2, TDP-43, and PLS3 as potential disease severity modifiers in spinal muscular atrophy. *Neurol Genet.* 2019;6(1):e386. doi: 10.1212/NXG.0000000000000386.
11. Jedrzejowska M., Milewski M., Zimowski J., et al. Phenotype modifiers of spinal muscular atrophy: the number of SMN2 gene copies, deletion in the NAIP gene and probably gender influence the course of the disease. *Acta Biochim Pol.* 2009;56(1):103-8.
12. Vezain M., Saugier-Verber P., Goïna E., et al. A rare SMN2 variant in a previously unrecognized composite splicing regulatory element induces exon 7 inclusion and reduces the clinical severity of spinal muscular atrophy. *Hum Mutat.* 2010;31(1):E1110-25. doi: 10.1002/humu.21173.
13. Odabaş S.P., Bal E., Yelgen G., et al. (2022). Exon7 Targeted CRISPR-Prime Editing Approaches for SMN2 Gene Editing in Spinal Muscular Atrophy (SMA) Disease Can Increase In Vitro SMN Expression. *bioRxiv* 2022.03.21.484406; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.03.21.484406>
14. Blasco-Pérez L., Costa-Roger M., Leno-Colorado J. Deep molecular characterization of milder spinal muscular atrophy patients carrying the c.859G>C variant in SMN2. *Int J Mol Sci* 2022;23(15):82–9. DOI: 10.3390/ijms23158289
15. Prior T.W., Krainer A.R., Hua Y., et al. A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene. *Am J Hum Genet.* 2009;85(3):408-13. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.08.002.
16. Bernal S., Alías L., Barceló M.J., et al. The c.859G>C variant in the SMN2 gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet.* 2010;47(9):640-2. doi: 10.1136/jmg.2010.079004.
17. Genome Aggregation Database (gnomAD). [Electronic resource]. *Access mode:* https://gnomad.broadinstitute.org/variant/5-69372372-G-C?dataset=gnomad_r2_1 Date of application: 01.05.2024
18. Calucho M., Bernal S., Alías L., et al. Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscul Disord.* 2018;28(3):208-215. doi: 10.1016/j.nmd.2018.01.003.

References

1. Brzustowicz L.M., Lehner T., Castilla et al. Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2 – q13.3. *Nature.* 1990; 344: 540-541.
2. Sumner C.J. Molecular mechanisms of spinal muscular atrophy. *J Child Neurol.* 2007;22(8):979-89. doi: 10.1177/0883073807305787.
3. Rossiyskiye klinicheskiye rekomendatsii «Proksimal'naya spinal'naya myshechnaya atrofiiya 5q», 2023. [Elektronnyy resurs] [Russian clinical guidelines “Proximal spinal muscular atrophy 5q”, 2023. [Electronic resource]. *Access mode* https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/593_3 Date of application: 04/01/2024. (In Russ.)
4. Sugarman E.A., Nagan N., Zhu H. et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: Clinical laboratory analysis of >72400 specimens. *Eur J Hum Genet* 2012;20:27–32. DOI: 10.1038/ejhg.2011.134
5. Mikhailchuk K., Shchagina O., Chukhrova A., et al. Pilot Program of Newborn Screening for 5q Spinal Muscular Atrophy in the Russian Federation. *Int J Neonatal Screen.* 2023;9(2):29. doi: 10.3390/ijns9020029.