

Причины мышечной дистрофии у женщин с направляющим диагнозом «мышечная дистрофия Дюшена/Беккера»

Щагина О.А., Полякова Д.А., Рыжкова О.П., Булах М.В.,
Забненкова В.В., Логинова А.Н., Поляков А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Медико-генетический научный центр

В статье представлены результаты исследования 38 пробандов женского пола с входящим диагнозом «мышечная дистрофия Дюшена/Беккера». С целью установления молекулярно-генетической причины болезни всем пробандам проведен поиск делеций/дупликаций гена *DMD*, исследование числа половых хромосом и их лайонизации, поиск мутаций в генах аутосомно-рецессивных поясно-конечностных мышечных дистрофий (ПКМД) имеющих пересекающийся спектр фенотипических проявлений с мышечной дистрофией Дюшена/Беккера: *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*. Причина мышечной дистрофии была установлена у 45% обследованных пробандов. Показана невозможность подтверждения диагноза мышечной дистрофии у женщин на основании выявления несбалансированной лайонизации X-хромосом. На основе результатов исследования генов саркогликанов разработана новая медицинская технология «Система детекции в одной пробирке частых мутаций при саркогликанопатиях».

Ключевые слова: прогрессирующая мышечная дистрофия, *DMD*, *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*, лайонизация, медицинская технология.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The muscular dystrophy causes in women with DMD-diagnosis

Shchagina O.A., Polyakova D.A., Ryzhkova O.P., Bulakh M.V.,
Zabnenkova V.V., Loginova A.N., Polyakov A.V.

Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics»

The results of a study of 38 female with a clinical diagnosis of «Duchenne/Becker muscular dystrophy». All probands searched for deletions / duplications *DMD* gene, number of sex chromosomes and X inactivation, mutations in autosomal recessive LGMD-genes: *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*. The cause of muscular dystrophy was established in 45% of the examined probands. It is shown that it is impossible to confirm the diagnosis of muscular dystrophy in women on the basis of detection of unbalanced X-chromosome inactivation. The medical technology «Single tube detection system for frequency sarcoglycans mutations» was introduced into the practical activity of the Research Centre for Medical Genetics.

Key words: Duchenne/Becker muscular dystrophy, X inactivation, LGMD, *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*.

Введение

Прогрессирующие мышечные дистрофии (ПМД) являются обширной группой наследственных нервно-мышечных болезней. Для ПМД характерна высокая аллельная и локусная гетерогенность. Поясно-конечностные мышечные дистрофии (ПКМД) — группа мышечных дистрофий, характеризующихся поражением проксимальных отделов верхних и нижних конечностей. Дебют заболевания чаще всего приходится на первые три декады жизни, однако бывает и более поздняя манифестация. Основными проявлениями ПКМД являются атрофии скелетных мышц. Частые признаки болезни — крыловидные лопатки, гиперлордозы отдельных отделов позвоночника, кардиомиопатии, псевдогипертрофии мышц. В большинстве случаев отмечается повышение уровня креатин-фосфокиназы [1]. Причиной болезни могут являться мутации различных генов, которые наследуются по аутосомно-доминантному, рецес-

сивному или X-сцепленному типу. У мужчин наиболее частой формой мышечных дистрофий являются мышечные дистрофии Дюшена и Беккера (МДД/Б), причиной которых являются мутации гена *DMD*, локализованного на X-хромосоме. Поскольку заболевание наследуется по рецессивному типу, сцепленному с X-хромосомой, болеют, в основном, лица мужского пола [2]. В крайне редких, исключительных случаях МДД/Б была зарегистрирована у женщин. Все описанные на сегодняшний день случаи мышечной дистрофии у женщин, обусловленные мутациями гена *DMD*, относятся к нескольким категориям. Первый вариант — наличие у фенотипической женщины лишь одной X-хромосомы. Такое возможно при синдроме Шерешевского-Тернера — хромосомном нарушении, связанном с моносомией по X-хромосоме (45X) [3] или при сочетании двух наследственных синдромов: МДД/Б и синдрома тестикулярной феминизации, при котором при кариотипе 46XY рождается ребенок с женским фенотипом [4]. Если единствен-

ная X-хромосома имеет мутацию в гене дистрофина, женщина будет больна МДД/Б. Второй вариант, при котором заболевание может проявляться у женщины-носительницы мутаций дистрофина — неравная lyonизация X-хромосомы (разница метилирования X-хромосом превышает 70:30) [5, 6].

Третьим вариантом, может быть ситуация, когда на обеих X-хромосомах есть повреждения гена *DMD*. Такое сочетание возможно у дочерей больных мышечной дистрофией Беккера или носительниц мутаций в гене *DMD*. Наиболее вероятно сочетание унаследованного патогенного варианта с мутацией *de novo* на второй хромосоме (мутации *de novo* встречаются не менее чем у 25% больных МДД/Б) [7, 8].

Клиническими фенотипами МДД/МДБ являются некоторые формы аутосомно-рецессивных мышечных дистрофий. Частота заболеваемости ПКМД с аутосомным типом наследования составляет 1:14500 — 1:31500 чел. При этом на долю рецессивных форм приходится 85%, тогда как доминантные формы составляют около 15% от всех ПКМД [9, 10].

Наиболее частыми формами аутосомно-рецессивных ПКМД, сходными по клинической картине с МДД/Б являются кальпаинопатии (ПКМД 2А, ген *CAPN3*), саркогликанопатии (ПКМД 2D — *SGCA*, ПКМД 2E — *SGCB*, ПКМД 2C-*SGCG*, ПКМД 2F-*SGCD*) и ПКМД2I (ген *FKRP*). Показано, что в большинстве европейских популяций наиболее распространенным генетическим вариантом ПКМД с аутосомно-рецессивным типом наследования является 2А тип, обусловленный мутациями в гене кальпаина 3 (*CAPN3*), на долю которого приходится от 30% до 40% всех случаев этой группы заболеваний. Показано, что у жителей РФ с ПКМД 2А наиболее часто встречаются мутации с.598_612del и с.550delA — обе или одна из которых встречается хотя бы на одной из хромосом в 81% случаев ПКМД2А (56% хромосом с мутациями) [11]. Причиной ПКМД2I являются мутации гена *FKRP*. У российских больных до 10% случаев ПКМД приходится именно на эту форму [12].

Саркогликанопатии — аутосомно-рецессивные мышечные дистрофии. К клинике саркогликанопатий приводят генетические дефекты генов четырех трансмембранных гликопротеинов: альфа-, бета-, гамма- и дельта-саркогликанов. Саркогликаны — четыре субъединицы трансмембранного саркогликанового комплекса, который формируется на мембранах скелетной и сердечной мышцы. Саркогликановый комплекс является частью большого дистрофин-ассоциированного комплекса, расположенного на клеточной мембране. Мутации в генах отдельных саркогликанов приводят к соответствующим типам ПКМД: ПКМД 2С (гамма-саркогликан), ПКМД 2D (альфа-саркогликан), ПКМД 2E (бета-саркогликан), ПКМД 2F (дельта-саркогликан). На долю саркогликанопатий приходится от 15% до 67% всех ПКМД в зависимости от региона (США — 15%,

Франция — 67%, Индия — 53,8%, Бразилия — 49%) [13, 14]. Исследований распространенности и причин саркогликанопатий у российских больных не проводилось до настоящего времени.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из периферической крови 38 неродственных больных женского пола из разных регионов РФ в возрасте от 1,5 до 27 лет, с направляющими диагнозами «мышечная дистрофия Дюшенна» и «мышечная дистрофия Беккера».

Клиническая диагностика проводилась на основании критериев: преимущественное поражение мышц тазового и плечевого поясов; повышение уровня креатинфосфокиназы; первично-мышечный характер поражения при электронной миографической обследовании (проведено не всем больным).

ДНК была выделена из цельной крови, забранной в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА с использованием набора реактивов для выделения Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA) по протоколу производителя.

Для поиска делеций/дупликаций гена дистрофина были использованы наборы SALSA MLPA P034 DMD mix 1 probemix и SALSA MLPA P035 DMD mix 2 probemix (MRC-Holland, Нидерланды). Для поиска протяженных делеций/дупликаций генов *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD* использовался набор SALSA MLPA P116 SGC probemix (MRC-Holland, Нидерланды). Реакции проводились по протоколам фирмы-производителя. Для точного количественного анализа данные обрабатывали с использованием программного обеспечения Coffalyser V8 предоставляемого компанией-разработчиком MLPA (<http://mrc-holland.com>).

Для исследования паттерна lyonизации проводили анализ, предложенный Allen с соавт. в 1992 г. [15], заключающийся в определении паттерна метилирования X-сцепленного полиморфного повтора HUMARA — (CAG)_n в экзоне 1 гена *AR* — методом метилчувствительной количественной флуоресцентной ПЦР (QF-PCR) с последующим фрагментным анализом на генетическом анализаторе 3130 ABI genetic analyzer (Applied Biosystems, США). Далее определяли процентное соотношение количества клеток, несущих инактивированную хромосому материнского либо отцовского происхождения (XCI ratio) по формуле, предложенной V. Volduc с соавт. [16].

Число X-хромосом определяли по результатам типирования методом полиморфизма длин амплификационных фрагментов по высокоинформативному STR-маркеру HUMARA — CAG-повтору в экзоне 1 гена *AR*, локализованному в регионе Xq12.

Поиск мутаций в генах *CAPN3* и *FKRP* проводился методом прямого автоматического секвенирования по Сенгеру [11, 12].

Поиск делеций гена *SMN1* проводили методом количественной мультиплексной лигазной реакции [17].

Поиск мутаций в генах *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD* проводили методом прямого автоматического секвенирования по Сенгеру, на приборе для капиллярного электрофореза 3130 ABI genetic analyzer (Applied Biosystems, США). Для исследования были выбраны олигонуклеотидные праймеры, комплементарные последовательностям, фланкирующим экзоны 1–10 гена *SGCA* (NM_000023.3), 1–6 гена *SGCB* (NM_000232), 1–8 гена *SGCG* (NM_000231), 1–10 гена *SGCD* (NM_000337.5).

Для детекции, двух повторяющихся мутаций гена *SGCA* с.229C>T (p.R77C) и с.271G>A (p.G91S), ответственных за ПКМД типа 2D была разработана система, в основе которой лежит мультиплексная проба-зависимая лигазная реакция с последующей амплификацией (Multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA).

Дизайн олигонуклеотидных проб для лигирования, универсальных праймеров осуществлен в лаборатории ДНК-диагностики «МГНЦ», синтез — в ЗАО «Евроген», Москва.

Последовательности проб, входящих в реакцию, выбирали согласно базе данных GeneBank. Используются последовательности гена *SGCA* (NM_000023.3), фланкирующие области мутаций с.229C>T (p.R77C) и с.271G>A (p.G91S) (табл. 1).

Длина амплифицированных фрагментов составляет от 81 до 90 п.н.

Лигазную реакцию проводили на программируемом термоциклере Терцик (ДНК-технология, Россия) с использованием ДНК-лигазы Pfu («Stratagene»).

Лигирование проводили в 5 мкл реакционной смеси, содержащей 1х реакционный буфер (20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 20 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 0,1% Igepal, 0,01 mM rATP, 1 mM DTT), 6 специфичных проб,

0,04 единицы активности термофильной ДНК-лигазы, 0,1–1 мкг геномной ДНК.

Лигазную реакцию осуществляли в следующем режиме: первоначальная денатурация при 95°C — 5 минут, затем лигирование при 62°C — 1 час.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на программируемом термоциклере Терцик (ДНК-технология, Россия) с использованием ДНК-полимеразы Biotaq («БиоМастер») и пары универсальных праймеров (табл. 2).

ПЦР проводили по следующей схеме: в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 1х реакционный буфер (67 mM Tris-HCl, 16,6 mM (NH₄)₂SO₄, 0,01% Twin-20), 0,25 мкМ каждого олигопраймера, 250 мкМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата, 1,5 единицы термофильной ДНК-полимеразы, добавляли 5 мкл лигата.

ПЦР проводили в следующем режиме: первоначальная денатурация при 95°C — 5 минут, затем 32 цикла смены температур: 94°C — 2 секунды, температура отжига праймеров 66°C — 2 секунды, элонгация цепи 72°C — 2 секунды; заключительная элонгация 72°C — 7 минут. Для проведения ПЦР использовали режим точной регуляции.

Продукт реакции детектировался методом вертикального электрофореза в 8% ПААГ (соотношение акриламида/бисакриламида 19/1). Результаты электрофореза визуализировали после окрашивания геля раствором бромистого этидия на документирующей системе GelDoc фирмы BIO-RAD (США) в УФ-излучении с длиной волны 312 нм. Электрофореграмма представляет собой паттерн полос, соответствующих различным нормальным или мутантным аллелям гена (рисунок).

По наличию/отсутствию полос с длинами, соответствующих нормальной/мутантной последовательности судят о наличии/отсутствии конкретной мутации в генотипе пробанда (табл. 3).

Пробы, применявшиеся для детекции мутаций гена *SGCA*

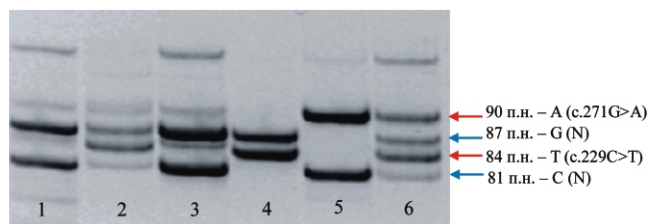
Таблица 1

Ген и детектируемая мутация	Последовательность олигонуклеотидов (5' → 3')
<i>SGCA</i> Exon 3 с.229C>T	FN: GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC GACCTGCCCCGGTGGCTCC
	FM: GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC T CAGACCTGCCCCGGTGGCTCT
	R: GCTACACCCAGCGCAGCC GATGCGATCCGATGCCTTCATG
<i>SGCA</i> Exon 3 с.271G>A	FN: GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC CACCCTGGCTTCCTCTACG
	FM: GTTCGTACGTGAATCGCGGTAC T CACCACCTGGCTTCCTCTACA
	R: GCTCTGCCACCCAGAAAGATCTTCGATGCGATCCGATGCCTTCATG

Праймеры и условия амплификации применявшиеся для ПЦР-реакции в методе MLPA

Таблица 2

Последовательность праймеров, 5' → 3'	t отжига
F: CTCCATGCCAACAGTCGACATC R: catgaaggcatcgatcgatc	66°C



Электрофореграмма результатов детекции двух частей мутаций с.229С>Т и с.271G>А гена *SGCA* методом MLPA:

дорожки 1, 3 — пробанды без мутаций;
 дорожка 2 — пробанд с мутацией с.229С>Т в гетерозиготном состоянии;
 дорожка 4 — пробанд с мутацией с.229С>Т в гомозиготном состоянии;
 дорожка 5 — пробанд с мутацией с.271G>А в гомозиготном состоянии;
 дорожка 6 — пробанд с мутациями с.229С>Т и с.271G>А в компаунд-гетерозиготном состоянии.

Результаты и обсуждение

Поскольку наиболее частой причиной мышечной дистрофии являются протяженные делеции и дупликации гена *DMD*, в первую очередь у всех пробандов проведен поиск этих патогенных вариантов методом количественной MLPA. Ни у одной из обследованных женщин делеций и дупликаций выявлено не было. Так как исключить наличие точковых мутаций и малых делеций/инсерций методом количественной мультиплексной лигазной реакции не представлялось возможным, допуская, что причиной ПКМД все-таки могут быть малые мутации гена *DMD*, мы провели анализ паттерна метилирования X-хромосомы (лайонизации) и определили количество X-хромосом у всех 38 неродственных больных для исключения синдрома Шерешевского-Тернера.

При типировании методом полиморфизма длин амплификационных фрагментов по STR-маркеру — CAG-повтору в экзоне 1 гена *AR* — у всех пробандов были выявлены два аллеля, что свидетельствует о наличии двух X-хромосом. Анализ метилирования (лайонизации) X-хромосомы показал неравную лайонизацию X-хромосомы (100:0, 100:0, 83:17, 85:15, 85:15, 80:20) у 6 больных.

Параллельно с исследованием X-сцепленных форм мышечных дистрофий, мы провели поиск мутаций в генах ПКМД с аутосомно-рецессивным типом наследования, клинический фенотип при которых совпадает с фенотипом МДД/Б: *CAPN3*, *FKRP*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*. Результаты типирования представлены в табл. 4. Кроме того, так как одним из самых распространенных нервно-мышечных заболеваний с манифестацией в детском возрасте является спинальная мышечная атрофия, а для некоторых больных с делецией гена *SMN1* характерны псевдогипертрофии икроножных мышц и повышение уровня сывороточной КФК, мы провели поиск делеций локуса *SMN* всем пробандам.

Как видно из табл. 4, исследование рецессивных форм нервно-мышечных болезней позволило установить причину патологии (выявить две мутации) у 45% обследованных пробандов женского пола с направляющим диагнозом «мышечная дистрофия Дюшена-Беккера». Интересно отметить, что у одной из больных была выявлена делеция экзонов 7–8 гена *SMN1* в гомозиготном состоянии, что свидетельствует о сложности дифференциальной диагностики тяжелой нервно-мышечной патологии на клиническом этапе обследования из-за перекрытия спектров

Таблица 3

Интерпретация результатов

Ген	Мутация	Аллель	Длина	Статус точки
SGCA	с.229С>Т	с.229С	81	Норма
		с.229Т	84	Мутация
	с.271G>А	с.271G	87	Норма
		с.271А	90	Мутация

Таблица 4

Результаты исследования генов с аутосомно-рецессивным типом наследования

Название гена	Число больных с двумя мутациями в исследованном гене
<i>SGCA</i>	5
<i>SGCB</i>	1
<i>SGCG</i>	0
<i>SGCD</i>	0
<i>CAPN3</i>	5
<i>FKRP</i>	5
<i>SMN1</i>	1
Итого	17 (45%)

неврологической симптоматики при поражении мышц, вызванном патологиями самого мышечного волокна, периферической нервной системы и спинного мозга.

В гене *CAPN3* преобладала мутация с.550delA (p.Thr184ArgfsX36), встретившаяся на 7 хромосомах у 5 неродственных пробандов: в двух случаях в гомозиготном состоянии и в трех в компаунд-гетерозиготном с другими мутациями гена *CAPN3*.

Среди пяти пробандов с мутациями в гене *FKRP* трое были гомозиготами по мутации с.826C>A (p.Leu276Ile), еще у двух пробандов эта мутация встретилась в компаунд-гетерозиготном состоянии с мутациями с.229C>T (p.Gln77X) и с.1078G>C (p.Asp360His).

Мутации в гене *SGCA* встретились у пяти больных (табл. 5).

Все выявленные миссенс-мутации были ранее неоднократно описаны в выборках больных из разных стран. Мутация с.271G>A приводит к замене глицина на аргинин (физические свойства этих аминокислот различны: глицин — незаряженная аминокислота; аргинин — положительно-заряженная; кроме того, в составе аргинина две аминокислотные группы, а в составе глицина только одна). Мутация с.229C>T приводит к замене аргинина на цистеин (цистеин — незаряженная аминокислота; аргинин — положительно-заряженная; кроме того, в составе аргинина две аминокислотные группы, а в составе цистеина SH-группа), мутация с.518T>C приводит к замене лейцина на пролин (и лейцин и пролин — неполярные аминокислоты, однако их строение серьезно отличается: лейцин — моноаминомонокарбоновая кислота, а пролин — гетероциклическая). Эти различия в свойствах аминокислот влияют на структурную организацию белка и его физические свойства в целом. Именно поэтому такие аминокислотные замены приводят к снижению или отсутствию функциональности белков. Ранее не описанная мутация с.585-1G>C приводит к исчезновению канонического акцепторного сайта сплайсинга.

При исследовании спектра мутаций гена *SGCA* (табл. 5) было установлено, что у 4 из 5 (80%) больных ПКМД2D встретились всего лишь две мутации с.229C>T и с.271G>A в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии с другими мутациями.

В целях оптимизации ДНК-диагностики саркогликонопатий и проведения дальнейших исследований структуры молекулярных причин ПМД у российских больных, для детекции двух этих мутаций была создана

эффективная система на основе метода МЛРА и в практическую деятельность ФГБНУ «МГНЦ» была внедрена медицинская технология «Система детекции в одной пробирке частых мутаций при саркогликонопатиях».

У одной больной причиной ПКМД являлись компаунд-гетерозиготные мутации с.2T>C и с.-10_7dup17 гена *SGCB*. Ранее описанная миссенс-мутация с.2T>C (p.Met1Trp) произошла в иницирующем кодоне (ATG) кДНК гена саркогликана-бета [18]. Данная замена скорее всего приводит к использованию следующего метионинового кодона. В данном конкретном случае рамка считывания мРНК будет поддерживаться, однако белковый продукт будет короче на первые 99 аминокислот. Дупликация 17 нуклеотидов (с.-10_7dup17) в экзоне 1 гена *SGCB* ранее не была описана, она приводит к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона через 23 аминокислоты от стартового ATG: p.Ala3GlyfsX21.

В генах, кодирующих саркогликаны γ - и δ -, мутаций выявлено не было. Протяженных делеций генов *SGCA*, *SGCB*, *SGCG*, *SGCD*, на долю которых согласно базам данных Human Genetic Mutatin Database (HGMD: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) и Leiden Open Variation Database (LOVD: <http://www.lovd.org>) приходится до 5% всех известных мутаций в генах саркогликанов, в исследованной выборке не обнаружено.

Интересно отметить, что мутации на обеих хромосомах в генах с аутосомно-рецессивным наследованием были выявлены у двух из шести пробандов с несбалансированной лайонизацией. Одна больная являлась компаунд-гетерозиготой по мутациям с.229C>T и с.271G>A гена *SGCA*, другая — гомозиготой по мутации с.550delA гена *CAPN3*. Данный факт показывает невозможность подтверждения диагноза мышечной дистрофии у женщин на основании выявления несбалансированной лайонизации X-хромосом.

Выявление у 45% пробандов женского пола с диагнозом «мышечная дистрофия Дюшена/Беккера» мутаций в генах распространенных форм ПКМД с аутосомно-рецессивным типом наследования и отсутствие у 38 обследованных пробандов наиболее частых мутаций гена дистрофина — делеций и дупликаций, на долю которых приходится до 70% всех мутаций этого гена, доказывает эксклюзивную редкость *DMD*-обусловленной прогрессирующей мышечной дистрофии у женщин и обуславливает первоочередную необходимость поиска мутаций в генах ПКМД, локализованных на аутосомах.

Спектр мутаций гена *SGCA*

Таблица 5

Ген	Мутация	Число хромосом
<i>SGCA</i>	с.229C>T (p.Arg277Cys)	5
	с.271G>A (p.Gly91Ser)	3
	с.518T>C (p.Leu173Pro)	1
	с.585-1G>C (акцепторный сайт сплайсинга)	1

Список литературы

1. Дадали ЕЛ, Шагина ОА, Тибуркова ТБ и др. Особенности клинических проявлений и алгоритмы молекулярно-генетической диагностики генетически гетерогенных вариантов наследственных прогрессирующих мышечных дистрофий. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. 2010;13:174-183
2. Lovering RM, Porter NC, Bloch RJ. The muscular dystrophies: from genes to therapies. *Physical therapy*. 2005; 85(12):1372-1388
3. Kaczorowska E, Zimowski J, Cichoc-Kotek M et al. Co-occurrence of Turner syndrome and Duchenne muscular dystrophy — an important problem for the clinician. *Dev Period Med*. 2016;20(4):273-278.
4. Katayama Y, Tran VK, Hoan NT et al. Co-occurrence of mutations in both dystrophin- and androgen-receptor genes is a novel cause of female Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet*. 2006 Jun;119(5):516-9.
5. Viggiano E, Ergoli M, Picillo E, Politano L. Determining the role of skewed X-chromosome inactivation in developing muscle symptoms in carriers of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet*. 2016 Jul;135(7):685-98.
6. Viggiano E, Picillo E, Ergoli M et al. Skewed X-chromosome inactivation plays a crucial role in the onset of symptoms in carriers of Becker muscular dystrophy. *J Gene Med*. 2017 Apr;19(4).
7. Nozoe KT, Akamine RT, Mazzotti DR et al. Phenotypic contrasts of Duchenne Muscular Dystrophy in women: Two case reports. *Sleep Sci*. 2016 Jul-Sep;9(3):129-133.
8. Takeshita E, Minami N, Minami K et al. Duchenne muscular dystrophy in a female with compound heterozygous contiguous exon deletions. *Neuromuscul Disord*. 2017 Jun;27(6):569-573.
9. Bushby KM. Diagnostic criteria for the limb-girdle muscular dystrophies: report of the ENMC Consortium on Limb-Girdle Dystrophies. *Neuromuscul Disord*. 1995 Jan;5(1):71-4.
10. Vissing J. Limb girdle muscular dystrophies: classification, clinical spectrum and emerging therapies. *Curr Opin Neurol*. 2016 Oct;29(5):635-41.
11. Рыжкова ОП, Билева ДС, Дадали ЕЛ и др. Клинико-генетические характеристики поясно-конечностной прогрессирующей мышечной дистрофии типа 2А. *Медицинская генетика*. 2010; 9 (11):3-10
12. Рыжкова ОП, Шаркова ИВ, Дадали ЕЛ и др. Клинико-генетический анализ поясно-конечностной мышечной дистрофии 2I типа. *Журнал неврологии и психиатрии им. Корсакова*. 2012;112(6): 55-59
13. Hack AA, Groh ME, Mc Nally EM Sarcoglycans in muscular dystrophy. *Microsc. Res. Tech*. 2000; 48(3-4):167-180.
14. Trabelsi M, Kaviani N, Daoud F et al. Revised spectrum of mutations in sarcoglycanopathies. *European journal of human genetics*. 2008, 16(7):793-803
15. Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB et al. Methylation of Hpa II and Hha I sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet*. 1992; 51 (6): 1229-39
16. Bolduc V, Chagnon P, Provost S et al. No evidence that skewing of X chromosome inactivation patterns is transmitted to offspring in humans. *J Clin Invest*. 2008; 118 (1): 333-41
17. Забненкова ВВ, Шагина ОА, Поляков АВ Результаты анализа носительства спинальной мышечной атрофии с использованием новой медицинской технологии «Количественный метод детекции числа копий генов локуса СМА». *Медицинская генетика*. 2016; 15(2):18-23.
18. Moreira ES, Vainzof M, Suzuki OT et al. Genotype-phenotype correlations in 35 Brazilian families with sarcoglycanopathies including the description of three novel mutations. *J Med Genet*. 2003; Feb;40(2):E12.