

Модифицирующие факторы, оказывающие влияние на тяжесть течения спинальных мышечных атрофий I—IV типов

Забненкова В.В., Дадали Е.Л., Поляков А.В.

Учреждение Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр РАМН, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1; e-mail: V_Zabnenkova@dnalab.ru

Спинальная мышечная атрофия I—IV типа — аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся дегенеративными изменениями в моторных нейронах передних рогов спинного мозга, с частотой носительства мутантного гена 1/40—1/50 и частотой встречаемости 1 на 6000 — 10 000 новорожденных. Заболевание проявляется слабостью проксимальной мускулатуры, парезами, дыхательной недостаточностью и ранней детской смертностью. Спинальная мышечная атрофия (СМА) обусловлена мутациями в гене *SMN*, который располагается в области дупликации на хромосоме 5 и имеет центромерную и теломерную копии. Функциональной активностью обладает теломерная копия гена. На тяжесть течения заболевания модифицирующее влияние оказывают число центромерных копий гена *SMN*, протяженность делеций в области дупликации, захватывающих гены *NAIP*, *SERF1A(H4F5)* и *GTF2H2*, а также гендерный фактор.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия, ген *SMN*, модифицирующие факторы, число центромерных копий *SMNc*

Введение

СМА — клинически и генетически гетерогенная группа нейромышечных заболеваний, вызываемых дегенерацией моторных нейронов передних рогов спинного мозга, а в некоторых случаях и двигательных нейронов ствола головного мозга.

Самой распространенной группой являются проксимальные СМА I—IV типа. Это одно из наиболее частых аутосомно-рецессивных заболеваний. Приблизительно один из 6000 — 10 000 чел. страдает СМА различной степени тяжести. Частота носительства гена данного заболевания составляет 1/40 — 1/50 в популяции.

Классификация

В зависимости от времени начала и клинического течения заболевания СМА подразделяют на 4 типа [18, 22, 26, 28].

Спинальная мышечная атрофия I типа, острая СМА, или болезнь Верднига—Гоффмана, возникает в возрасте до 6 мес. и характеризуется мышечной слабостью. Пораженные дети не способны держать голову, переворачиваться, сидеть без поддержки. Проксимальная, симметричная мышечная слабость, отсутствие моторного развития и мышечная гипотония являются основными клиническими признаками СМА I типа. Большинство пораженных детей со СМА I погибает в возрасте до двух лет. Ряд авторов выделяет среди больных СМА I типа наиболее тяжелый вариант течения — врожденную форму с послеродовой асфиксией [6]. На 30—34-й неделе беременности отмечают малоподвижность плода. После рождения движения практически отсутствуют, наличие контрактур, трудности с глотанием и дыханием — без обеспечения дыхательной поддер-

жки ребенок погибает. Такой вариант СМА классифицируют как СМА 0 типа.

СМА II типа, или хроническая СМА (болезнь Дубовица), имеет более позднее начало в возрасте 6—18 мес. и менее тяжелое течение. Дети сохраняют способность сидеть самостоятельно. Продолжительность жизни таких пациентов в среднем составляет 10—14 лет.

Начало СМА III типа (юношеская форма), или болезни Кугельберга—Веландер, варьирует в возрасте между 18 мес. и первым, вторым десятилетием жизни. Больные со СМА III сохраняют способность передвигаться самостоятельно, но могут часто падать или испытывать трудности при подъеме и спуске по лестнице, беге, наклоне, подъеме из положения сидя. Нижние конечности при данном типе заболевания поражены сильнее, чем верхние. В литературе встречается разделение СМА III типа на два подтипа — IIIa и IIIb — в зависимости от времени начала заболевания: до трех лет и после трех лет соответственно [31].

Также выделяют СМА IV типа. Данное заболевание возникает на третьей декаде жизни и характеризуется скрытым началом и медленно прогрессирующим течением [28].

Молекулярная генетика

Все клинические формы заболевания картированы на коротком плече хромосомы 5 в «горячей» области 5q12.2-13.3. Так называемый локус СМА представляет собой большой инвертированный повтор размером 500 т.п.н., содержащий, по крайней мере, 4 гена, мутации в которых могут приводить к развитию СМА или оказывать модифицирующее влияние на тяжесть течения данного заболевания: *SMN*, *NAIP*, *SERF1A(H4F5)* и *GTF2H2(BTF2p44)*. Каждый из этих генов представлен

теломерной и центромерной копиями [5] (рисунок). Показано, что теломерная составляющая дупликаона 5q13, содержащая функциональные копии генов, демонстрирует компактную генную организацию размером 200 т.п., тогда как центромерная часть состоит из мозаичного комплекса ранее дублированных геномных сегментов. Однако в литературе до сих пор не представлено точное строение локуса СМА, поскольку основной ошибкой при обобщении данных является объединение схожих дублированных последовательностей в единый кластер.

Локус 5q13, состоящий из большого числа повторяющихся последовательностей, псевдогенов, ретротранспозонных элементов, является крайне нестабильным регионом и часто подвергается неравным перестройкам между высокоомологичными элементами, результатом чего являются делеции, дубликации и генные конверсии [25].

У 95% больных с СМА выявляют делецию экзонов 7 и/или 8 гена *SMN1* (теломерная копия) в гомозиготном состоянии. Оставшиеся 5% имеют внутригенные точковые мутации как минимум в одном из аллелей. Такие больные, как правило, являются компаунд-гетерозиготами, т.е. имеют одну хромосому 5 с делецией гена *SMN1* и другую — с точковой мутацией в гене *SMN1* [8, 15].

Как указано выше, у больных СМА может наблюдаться делеция только одного экзона — экзона 7 или экзона 8 — гена *SMN1*, что объясняется формированием химерного гена между генами *SMN1* и *SMNc*. В различных работах частота встречаемости химерного гена у больных СМА варьирует от 3 до 12%, что говорит о том, что данное явление нередко. Полагают, что в основе образования химерного гена лежат три основных механизма: неравный кроссинговер, внутрихромосомная делеция и генная конверсия [3, 16].

Эти же механизмы отвечают за мутации *de novo* в гене *SMN*. Известно, что только 98% родителей больных СМА являются носителями гена данного заболевания, т.е. в большинстве случаев несут на одной из хромосом 5 одну поврежденную копию гена *SMN1*, а на другой — одну интактную копию гена *SMN1* [32]. Особо стоит отметить лиц, имеющих одну хромосому 5 с делетированным геном *SMN1*, а другую — с двумя копиями гена *SMN1*. Дан-

ный генотип встречается у 2% носителей заболевания и представляет собой проблему для идентификации статуса носителя СМА.

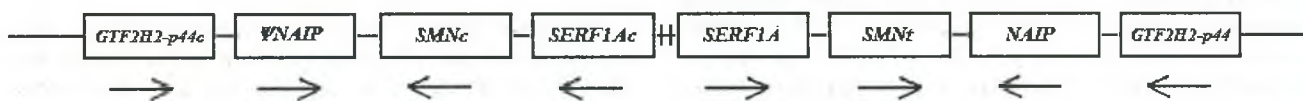
Однако остается недостаточно ясной природа клинического полиморфизма СМА. Клиническое разнообразие может объясняться наличием модифицирующих факторов.

Ген *SMN1* и его центромерная копия *SMNc* демонстрируют беспрецедентный уровень гомологии. Они состоят из девяти экзонов (1, 2a, 2b, 3–8) и различаются всего лишь пятью нуклеотидами: тремя в интронах 6 и 7, двумя в экзонах 7 и 8. Критической точкой является замена цитозина на тимин в экзоне 7 гена *SMNc* (с.840C>T) [12, 14]. Замена в экзоне 7 не приводит к замене аминокислоты, изменения в экзоне 8 лежат в 3'-нетранслируемой области. На уровне аминокислотного состава наблюдается полная гомология между центромерной и теломерной копиями гена *SMN*. Вследствие различия в нуклеотидной последовательности основной транскрипт гена *SMN1* является полноценным (full-length SMN, FL-SMN) и состоит из всех девяти экзонов, в то время, как транскрипт гена *SMNc* не содержит экзона 7 (*SMN Δ7*). Полагают, что замена с. 840C>T в экзоне 7 приводит к нарушению строения экзонного энхансера, активирующего расположенные рядом сайты сплайсинга или, как альтернативный вариант создает сайт связывания для репрессора сплайсинга. Однако ген *SMNc* также продуцирует FL-SMN транскрипт, но в относительно малых количествах (20–30%) [11].

Продуктом гена *SMN* является белок, состоящий из 294 аминокислот, с молекулярным весом 38 кДа. Белок экспрессируется как в ядрах, так и в цитоплазме. В ядрах белок SMN локализуется в сфероподобных структурах, называемых гемами, ассоциированных с тельцами Кахаля, вовлеченных в метаболизм РНК. Показано, что роль белка SMN связана с двумя важнейшими клеточными процессами, такими, как биогенез сплайсомальных малых ядерных рибонуклеопротеинов и сплайсинг пре-мРНК. Кроме того, белок SMN участвует в сплайсинге пре-рРНК и биогенезе малых ядрышковых рибонуклеопротеинов (мя-РНП), в генной экспрессии на уровне транскрипции. Существует два контрастных взгляда на роль белка SMN в развитии СМА. Ряд авто-

Центромера

Теломера



Гены локуса 5q13.

Локус 5q13 представляет собой инвертированный повтор размером 500 т.п., содержит четыре гена, мутации в которых могут приводить к развитию СМА или оказывать модифицирующее влияние на тяжесть течения данного заболевания: *SMN*, *NAIP*, *SERF1A*(*H4F5*) и *GTF2H2*(*BTF2p44*). Каждый из этих генов представлен теломерной и центромерной копиями. Перестройки, происходящие в этом районе в результате неравного кроссинговера между повторяющимися элементами в процессе мейоза, ведут к возникновению делеций разной протяженности, дубликаций и генным конверсиям.

ров полагает, что СМА является прямым следствием нарушения роли гена *SMN* как гена «домашнего хозяйства» в биогенезе мя-РПП и сплайсинге пре-мРНК. Другие авторы полагают, что заболевание ассоциировано с нарушением функции белка *SMN*, специфичной именно для двигательных нейронов передних рогов спинного мозга [15, 25].

У пациентов с СМА, имеющих делецию гена *SMN1*, всегда представлена, по крайней мере, одна копия гена *SMNc*.

Ген *SMNc* только частично функционален и поэтому не может полностью компенсировать отсутствие гена *SMN1*. У больных с делецией экзонов 7–8 гена *SMN1* в

гомозиготном состоянии экспрессируется малая часть функционального FL-*SMN* белка с гена *SMNc*, тогда как неполноценная форма мРНК, *SMN Δ7* крайне нестабильна и быстро разрушается. Низкий уровень белка *SMN* недостаточен для выживания мотонейронов, что отражается на фенотипе больного.

Благодаря нестабильности региона, в котором лежат гены *SMN*, ген *SMNc* может иметь несколько копий. Приблизительно у 80% людей в популяции, в целом, наблюдается 1–2 копии. Для 5–10% здоровых людей описаны случаи делеции гена *SMNc* в гомозиготном состоянии. У пациентов со СМА разнообразие числа копий гена *SMNc* гораздо больше и может варьировать от 1 до 6 ко-

Таблица 1

Характеристика групп больных СМА по клинической форме заболевания и числу копий гена *SMNc*

Тип СМА, количество пациентов	Число копий <i>SMNc</i>				
	1	2	3	4	5
М. Feldkotter с соавторами (2002) (n=375)					
СМА I (n=188)	n=13 (6,9%)	n=138 (73,4%)	n=37 (19,7%)	0	0
СМА II (n=110)	0	n=12 (10,9%)	n=90 (81,8%)	n=8 (7,3%)	0
СМА III (n=77)	0	n=3 (3,9%)	n=39 (50,6%)	n=35 (45,5%)	0
О. Scarciolla с соавторами (2006) (n=19)					
СМА I (n=4)	0	n=3 (75%)	n=1 (25%)	0	0
СМА II (n=2)	0	n=1 (50%)	n=1 (50%)	0	0
СМА III (n=13)	0	n=1 (7,7%)	n=4 (30,8%)	n=8 (61,5%)	0
Е. Zapletalova с соавторами (2007) (n=70)					
СМА I (n=10)	0	n=7 (70%)	n=3 (30%)	0	0
СМА II (n=40)	0	n=1 (2,5%)	n=36 (90%)	n=3 (7,7%)	0
СМА III (n=20)	0	n=1 (5%)	n=10 (50%)	n=8 (40%)	n=1 (5%)
М. Jedrzejowska с соавторами (2009) (n=241)					
СМА I (n=87)	n=3 (3,4%)	n=48 (55,2%)	n=36 (41,4%)	0	0
СМА II (n=68)	n=1 (1,5%)	n=3 (4,4%)	n=57 (83,8%)	n=7 (10,3%)	0
СМА III (n=85)	0	0	n=38 (44,7%)	n=45 (52,9%)	n=2 (2,4%)
СМА IV (n=1)	0	0	0	n=1 (100%)	0

Таблица 2

Характеристика групп пациентов с СМА, включенных в исследовательскую работу В. Wirth с соавторами, по числу копий гена *SMNc*

Тип СМА, количество пациентов	Число копий <i>SMNc</i>				
	2	3	4	5	6
СМА III (n=111)	n=9 (8,1%)	n=46 (41,4%)	n=54 (48,7%)	n=2 (1,8%)	0
СМА IV (n=4)	0	0	n=3 (75%)	0	n=1 (25%)

Таблица 3

Характеристика группы пациентов с СМА I, включенных в исследовательскую работу S. Rudnik-Schoneborn с соавторами, по числу копий гена *SMNc*

Тип СМА, количество пациентов	Число копий <i>SMNc</i>			
	1	2	3	4
СМА I (n=66)	n=4 (6,1%)	n=57 (86,3%)	n=5 (7,6%)	0

пий. Следовательно, можно предположить: чем больше число копий гена *SMNc*, тем выше экспрессия полноценного белка SMN с центромерных копий гена на геном и тем мягче фенотип заболевания [7, 9, 13, 23, 30].

Показано, что пациенты с тяжелой формой СМА I типа имеют от 1 до 2 копий гена *SMNc*, у большинства пациентов со СМА II типа ген *SMNc* представлен 2—3 копиями, а большая часть больных СМА III типа имеет от 3—4 до 5—6 копий гена *SMNc* (табл. 1).

В. With с соавторами исследовали гено-фенотипические корреляции у 115 больных с мягкой формой течения СМА (СМА III и IV типа) (табл. 2) Результаты данной работы позволяют предположить наличие прогностического эффекта четырех и более копий гена *SMNc* у больных СМА [31].

В ряде работ показано, что наличие 5—6 копий гена *SMNc* компенсирует потерю обеих копий гена *SMNt* и может обуславливать редкие случаи бессимптомного течения СМА. Так, на сегодняшний день, по данным литературы, известно 26 случаев бессимптомного течения СМА в 22 семьях [10, 19]. Примером могут служить клинические случаи, описанные в работе Prior et al. (2004).

Случай 1. Больной СМА III типа в возрасте 42 мес. Сохраняет способность передвигаться самостоятельно, однако никогда не мог подняться из положения сидя без поддержки. Максимальная активность двигательных нейронов сохранялась до 12 мес. В 14 мес. был отмечен симптом Говера при попытке подняться с пола. При проведении молекулярно-генетического анализа у больного выявлена делеция экзонов 7, 8 гена *SMNt* в гомозиготном состоянии, зарегистрировано три копии гена *SMNc*. При определении статуса носителя заболевания у отца ребенка также была зарегистрирована делеция экзонов 7, 8 гена *SMNt* в гомозиготном состоянии, но он имел 5 копий гена *SMNc*. При этом никаких клинических признаков СМА у него не выявлено. Отсутствует фасцикуляция языка, глубокие сухожильные рефлексы в норме. Ведет активный образ жизни, хорошо физически развит.

Случай 2. Для анализа статуса носителя заболевания обратился клинически здоровый мужчина в возрасте 40 лет. Обратившийся имеет брата, больного СМА III. При осмотре: обследуемый хорошо развит, признаки мышечной слабости, атрофии и других неврологических отклонений отсутствуют. Молекулярно-генетический анализ выявил делецию экзонов 7,8 гена *SMNt* в гомозиготном состоянии и 5 копий гена *SMNc*. Диагноз брату обратившегося был поставлен в возрасте 14 лет, когда было отмечено первое проявление мышечной слабости. Он активно занимался спортом: играл в футбол, бейсбол и теннис. На момент написания статьи возраст больного СМА мужчины составил 42 года, он по-прежнему сохраняет способность передвигаться самостоятельно, трость использует только для поддержания равновесия. У него также зарегистрирована делеция экзонов 7, 8 гена *SMNt* в гомозиготном состоянии и 5 копий гена *SMNc*.

Хотя случаи бессимптомного течения СМА достаточно редки, можно предположить, что число копий гена *SMNc* оказывает влияние на пенетрантность данного заболевания.

Полагают, что существует гено-фенотипическая корреляция не только между типами заболевания, но и в пределах одной клинической формы.

Так, в работе S. Rudnik-Schoneborn с соавторами было проанализировано влияние числа копий гена *SMNc* на тяжесть течения заболевания внутри одной клинической формы СМА — СМА I типа (табл. 3) [21].

В исследуемую выборку было включено 66 больных СМА I, 10 из них получали терапию вальпроевой кислотой (valproic acid, VPA).

Пациенты с одной копией гена *SMNc* представляли наиболее тяжелую группу больных СМА с пренатальным началом заболевания (врожденные мышечная слабость и контрактуры, дыхательная недостаточность с рождения). Продолжительность жизни этих больных не превышала нескольких месяцев и поддерживалась только благодаря искусственной вентиляции легких.

Средний возраст начала заболевания у пациентов с двумя копиями гена *SMNc* составил 1,3 мес., средний возраст смерти — 7,8 мес. После исключения из данной группы пациентов, получавших терапию VPA, средняя продолжительность жизни составила 6,7 мес. Тяжесть течения заболевания у больных с двумя копиями гена *SMNc* была представлена спектром всех фенотипов СМА I, включая как больных с внутриутробным началом заболевания, дыхательными нарушениями с рождения и ранней смертью, так и тех больных, которые имели стабильное течение СМА I и более длительную продолжительность жизни, соответствующую таковой пациентов с тремя копиями гена *SMNc*.

Пять пациентов с тремя копиями гена *SMNc* имели начало заболевания в возрасте 2—4,5 мес. и более благоприятный прогноз. Средняя продолжительность жизни больных данной группы составила 31,4 мес. Из них один больной был переведен на искусственную вентиляцию легких с 19 мес., а с 21-го по 47-й месяц получал терапию VPA. Другой пациент начал получать ночную неинвазивную дыхательную поддержку с 15 мес., зондовое питание — с 3 лет, терапию VPA — с 34 мес. Оставшиеся три пациента не нуждались в дыхательной поддержке и зондовом питании до 10, 19 и 41 мес. соответственно (один из пациентов получал терапию VPA с 26 мес.).

Таким образом, было показано, что наличие трех копий гена *SMNc* ассоциировано с лучшим моторным развитием и более длительной продолжительностью жизни независимо от приема VPA.

Таким образом, следует предполагать, что число копий гена *SMNc* является основным модификатором фенотипа СМА.

Однако описаны случаи, когда число копий гена *SMNc* не коррелирует с тяжестью течения заболевания. Детекция гена *SMNc* и определение числа его копий

основываются на различиях последовательностей в экзонах 7 и 8, и, таким образом, выявляется наличие только 3'-конца гена *SMNc*. При этом необязательно, что оставшаяся часть гена является неповрежденной. Анализ полиморфного маркера Ag1-CA (C272), который располагается с 5'-конца генов *SMN*, показал наличие корреляции числа копий Ag1-CA и числа копий гена *SMNc* у больных СМА, что говорит о том, что большинство генов *SMNc* интактно. Как бы то ни было, полагают, что отсутствие полной корреляции может свидетельствовать о том, что поврежденные гены *SMNc* всё-таки существуют. Кроме того, отсутствие корреляции может объясняться и высокой степенью вариабельности размеров генов и последовательности их расположения в регионе СМА среди индивидуумов [5]. Полагают, что положение генов в локусе СМА, как и гены, лежащие вне области дупликации, могут оказывать влияние на паттерн сплайсинга гена *SMNc*, таким образом изменяя уровень экспрессии белков FL-SMN и SMN $\Delta 7$ каждым геном *SMNc*. Итак, главным модификатором фенотипа СМА является ген *SMNc*, а критический параметр — количество белка SMN, которое он может продуцировать [11].

Показано, что увеличение числа копий других генов, лежащих в области дупликации — *NAIP*, *SERF1A(H4F5)* и *GTF2H2*, — не коррелирует с тяжестью течения СМА [1].

Однако полагают, что большие делеции, включающие соседние с геном *SMN* гены, такие, как *NAIP*, могут вызывать тяжелые формы течения заболевания [10].

Ген *NAIP* состоит из 17 экзонов и представлен функциональной теломерной копией, центромерной копией, несколькими дефектными копиями в локусе СМА. Продукт гена *NAIP* относится к семейству белков — ингибиторов апоптоза. Предполагается, что мутации в гене *NAIP* приводят к нарушению клеточной дифференцировки и супрессии фермента каспазы, что, в свою очередь, приводит к дисфункции и смерти мотонейронов. Было показано, что при СМА I типа у 45% обследованных больных наблюдалась частичная или полная делеция гена *NAIP*, при СМА II и III типа — у 18% [20].

Ген *SERF1A (SMAM1)*, модификатор СМА, *H4F5* располагается к гену *SMN1* ближе всех остальных генов из области дупликации. Продукт *SERF1A* имеет две изоформы, экспрессируется в сердце, мозге, скелетной мускулатуре и спинном мозге. У 90% больных СМА I была выявлена делеция гена *SERF1A* [24].

Продукт гена *GTF2H2-44p* (General Transcription Factor III) представляет собой субъединицу комплекса РНК-полимеразы II, участвующего в транскрипции и репарации ДНК. Делеция гена *GTF2H2-44p* наблюдается у 15% больных с СМА (68% из них составляют больные с СМА I) [2, 4].

Повреждения только в каком-либо из данных генов не приводят к фенотипическим проявлениям СМА. Заболевание, в основе патогенеза которых лежат мутации

в генах *NAIP*, *SERF1A (H4F5)* и *GTF2H2*, в литературе не описаны.

Ряд авторов предполагает, что протективным свойством обладают гены, локализованные на X-хромосоме. В частности, описаны случаи бессимптомного течения СМА у женщин, имеющих повышенную экспрессию продукта гена *PLS3 (Plastin 3)* [17]. В данной работе было изучено 6 семей, отягощенных СМА, выявлено 8 женщин без каких-либо проявлений заболевания, имеющих те же аллели генов *SMN*, что и их пораженные сибсы. Для выявления генов-модификаторов СМА был проведен анализ экспрессии всей РНК, полученной из лимфобластных клеток четырех сибсов с делецией гена *SMN1* из одной из обследуемых семей. Только ген *PLS3* продемонстрировал статистически значимое различие уровней экспрессии в клетках больных СМА и их сибсов без клинических проявлений. У женщин без признаков СМА уровень белка PLS3 был значительно выше по сравнению с пораженными данным заболеванием. Прямого взаимодействия между белками SMN и PLS3 не показано. PLS3 не влияет на уровень экспрессии белка SMN и его локализацию. Пластин 3 участвует в формировании актинового волокна: мономерные глобулярные субъединицы G-актина объединяет в нитевидный полимерный F-актин. Полагают, что у женщин с делецией гена *SMN1* в гомозиготном состоянии он стабилизирует растущие нервные волокна вследствие увеличения уровня F-актина, что необходимо для аксоногенеза. Авторы предполагают, что недостаток белка SMN негативно влияет на рост и длину аксонов, а сверхэкспрессия белка пластин 3 компенсирует данный эффект.

Кроме того, в литературе представлены данные для СМА типа I с наиболее тяжелым генотипом (делеция генов *SMN1* и *NAIP*, наличие всего двух копий гена *SMNc*), при которой наблюдалось значительное преобладание пораженных девочек по отношению к мальчикам. Авторы данных работ полагают, что ген *NAIP* является необходимым фактором для активации протективного фактора, зависящего от пола [10].

Заключение

Таким образом, основным модифицирующим фактором, оказывающим влияние на тяжесть течения СМА, является число копий центромерного гена *SMN*, а главным образом, количество белка SMN, которое он может продуцировать. Влияние увеличения числа копий генов *NAIP*, *SERF1A(H4F5)* и *GTF2H2* на фенотип СМА не выявлено, однако отсутствие данных генов может служить маркером протяженности делеции в локусе СМА, что является индикатором тяжести течения заболевания. Также возможно, что и гендерный фактор в ряде случаев может служить модифицирующим фактором в отношении тяжести течения спинальной мышечной атрофии.

Список литературы

1. Arkblad E., Tulinius M., Kroksmark A.K., Henricsson M. A population-based study of genotypic and phenotypic variability in children with spinal muscular atrophy // *Acta Paediatr.* 2009. — May. — Vol. 98(5). — P. 865–872.
2. Burglen L., Seroz T., Miniou P., Lefebvre S., Burlet P., Munnich A., Pequignot E.V., Egly J.M., Melki J. The gene encoding p44, a subunit of the transcription factor TFIIH, is involved in large-scale deletions associated with Werdnig–Hoffmann disease // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — Jan. — Vol. 60(1). — P. 72–79.
3. Burghes A.H. When is a deletion not a deletion? When it is converted // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — Jul. — Vol. 61(1). — P. 9–15.
4. Carter A.T., Bonnemann C.G., Wang C.H., Obici S., Parano E., Bonaldo M., Ross B.M., Penchaszadeh G.K., Mackenzie A., Soares M.B., Kunkel L.M., Gilliam T.C. A multicopy transcription-repair gene, *Btf2p44*, maps to the SMA region and demonstrates SMA associated deletions // *Human Molecular Genetics.* — 1997. — Vol. 6, №2.
5. Courseaux A., Richard F., Grosgeorge J., Ortola C., Viale A., Turc-Carel C., Dutrillaux B., Gaudray P., Nahon J.L. Segmental duplications in euchromatic regions of human chromosome 5: A source of evolutionary instability and transcriptional innovation // *Genome Res.* — 2003. — Vol. 13. — P. 369–381.
6. Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* — 1999. — Vol. 3(2). — P. 49–51.
7. Feldkotter M., Schwarzer V., Wirth R., Wienker T.F., Wirth B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time LightCycler PCR: Fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 70. — P. 358–368.
8. Hahnen E., Schonling J., Rudnik-Schoneborn S., Zerres K., Wirth B. Hybrid Survival Motor Neuron Genes in Patients with Autosomal Recessive Spinal Muscular Atrophy: New Insights into Molecular Mechanisms Responsible for the Disease // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 59. — P. 1057–1065.
9. Harada Y., Sutomo R., Sadewa A.H., Akutsu T., Takeshima Y., Wada H., Matsuo M., Nishio H. Correlation between SMN2 copy number and clinical phenotype of spinal muscular atrophy: three SMN2 copies fail to rescue some patients from the disease severity // *J. Neurol.* — 2002. — Sep. — Vol. 249(9). — P. 1211–1219.
10. Jedrzejska M., Milewski M., Zimowski J., Borkowska J., Kostera-Pruszyk A., Sielska D., Jurek M., Hausmanowa-Petrusewicz I. 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 Biochimica Polonica.* — 2009. — Vol. 56, №1. — P. 103–108.
11. Le T.T., Pham L.T., Butchbach M.E., Zhang H.L., Monani U.R., Covert D.D., Gavrilina T.O., Xing L., Bassell G.J., Burghes A.H. SMN Delta7, the major product of the centromeric survival motor neuron (SMN2) gene, extends survival in mice with spinal muscular atrophy and associates with full-length SMN // *Hum. Mol. Genet.* — Vol. 14. — P. 845–857.
12. 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. USA.* — 1999. — Vol. 96. — P. 6307–6311.
13. Mailman M.D., Heinz J.W., Papp A.C., Snyder P.J., Sedra M.S., Wirth B., Burghes A.H., Prior T.W. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2 // *Genet. Med.* — 2002. — Vol. 4. — P. 20–26.
14. Monani U.R. et al. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2 // *Hum. Mol. Genet.* — 1999. — Vol. 8. — P. 1177–1183.
15. Ogino S., Wilson R.B. Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics // *Expert Rev. Mol. Diagn.* — 2004. — Jan. — Vol. 4(1). — P. 15–29.
16. Ogino S., Gao S., Leonard D.G., Paessler M., Wilson R.B. Inverse correlation between SMN1 and SMN2 copy numbers: Evidence for gene conversion from SMN2 to SMN1 // *Eur. J. Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 11. — P. 275–277.
17. Oprea G.E., Krober S., McWhorter M.L., Rossoll W., Muller S., Krawczak M., Bassell G.J., Beattie C.E., Wirth B. Plastin 3 Is a Protective Modifier of Autosomal Recessive Spinal Muscular Atrophy // *Science.* — 2008. — April. — Vol. 320, №5875. — P. 524–527.
18. Prior T.W., Russman B.S. Spinal muscular atrophy // *Gene Review.* — 2003.
19. Prior T.W., Swoboda K.J., Scott H.D., Hejmanowski A.Q. Homozygous SMN1 deletions in unaffected family members and modification of the phenotype by SMN2 // *Am. J. Med. Genet.* — 2004. — Vol. 130A. — P. 307–310.
20. Roy N. et al. The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP), a novel protein with homology to baculoviral inhibitors of apoptosis is partially deleted in individuals with type 1,2 and 3 spinal muscular atrophy (SMA) // *Cell.* — 1995. — Vol. 80. — P. 167–178.
21. Rudnik-Shoneborn S., Berg C., Zerres K., Betzler C., Grimm T., Eggermann T., Eggermann K., Wirth R., Wirth B., Heller R. Genotype-phenotype studies in infantile spinal muscular atrophy (SMA) type 1 in Germany: implications for clinical trials and genetic counselling // *Clin. Genet.* — 2009. — Vol. 76. — P. 168–178.
22. Russman B.S. Spinal muscular atrophy: clinical classification and disease heterogeneity // *Journal of child neurology.* — 09/2007. — Vol. 22(8). — P. 946–951.
23. Scarciolla O., Stuppia L., De Angelis M.V., Murru S., Palka C., Giuliani R., Pace M., Di Muzio A., Torrente I., Morella A., Grammatico P., Giacanelli M., Rosatelli M.C., Uncini A., Dallapiccola B. Spinal muscular atrophy genotyping by gene dosage using multiple ligation-dependent probe amplification // *Neurogenetics.* — 2006. — Jul. — 22.
24. Scharf J.M., Endrizzi M.G., Wetter A., Huang S., Thompson T.G., Zerres K., Dietrich W.F., Wirth B., Kunkel L.M. Identification of a candidate modifying gene for spinal muscular atrophy by comparative genomics // *Nat. Genet.* — 1998. — Sep. — Vol. 20(1). — P. 83–86.
25. Sumner C.J. Molecular mechanisms of spinal muscular atrophy // *J. Child Neurol.* — 2007. — Vol. 22. — P. 979.
26. Thomas O. Crawford. Spinal Muscular Atrophies. Neuro-muscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence: A Clinician's Approach by H. Royden Jones, Jr., Darryl C. De Vivo and Basil T. Darras. — 2003. — Chpt. 8. — P. 145–166.
27. Tizzano E., Baiget M. Molecular bases of spinal muscular atrophy: the survival motoneuron gene // *Contributions to Science.* — 2001. — Vol. 2. — P. 35–42.
28. Spinal muscular atrophy // *Emedicine.* — 2009. — January.
29. Vyas C., Bechade C., Riveau B. et al. Involvement of survival motor neuron (SMN) protein in cell death // *Hum. Mol. Genet.* — 2002. — Vol. 11. — P. 2751–2764.
30. Wirth B., Herz M., Wetter A., Moskau S., Hahnen E., Rudnik-Schoneborn S., Wienker T., Zerres K. Quantitative analysis of survival motor neuron copies: identification of subtle SMN1 mutations in patients with spinal muscular atrophy, genotype-phenotype correlation, and implications for genetic counseling // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — Vol. 64. — P. 1340–1356.
31. Wirth B., Brichta L., Schrank B., Lochmuller H., Blick S., Baasner A., Heller R. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number // *Hum. Genet.* — 2006. — Vol. 119. — P. 422–428.
32. Wirth B., Schmidt T., Hahnen E., Rudnik-Schoneborn, Krawczak M., Muller-Myhsok B., Schonling J., Zerres K. De Novo rearrangements found in 2% of index patients with spinal muscular atrophy: mutational mechanisms, parental origin, mutation rate, and implications for genetic counseling // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 61. — P. 1102–1111.

The modifying factors influenced on the severity of spinal muscular atrophy, type I—III

Zabnenkova V.V., Dadali E.L., Polyakov A.V.

Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia.

E-mail: V_Zabnenkova@dnlab.ru

Proximal spinal muscular atrophy, type I—III is autosomal recessive disorder, characterized by degenerative alteration of a-motor neurons in the spinal cord. With an incidence of 1 in 6000—10 000 live births and a carrier frequency of 1 in 40—50, SMA is the most frequent genetic cause of early infantile death. Spinal muscular atrophy of all types is caused by mutations in the Survival Motor Neuron gene (*SMN1*), located at the telomeric end of chromosome region 5q13. A large inverted repeat at the centromeric region of 15q13 consists of homologous gene *SMNc* (nonfunctional copy). The phenotypic variability of the disease is explained by modifying influence of *SMNc* gene copy number, by extent of deletion in locus SMA, involving *NAIP*, *SERF1A* (*H4F5*) and *GTF2H2* genes, located at SMA locus, and by gender factor.

Key words: spinal muscular atrophy, *SMN* gene, modifying factors, *SMNc* gene copy number