

Masterarbeit

**Molekulargenetische Diagnostik und Therapieansätze der
5q-assoziierten Spinalen Muskelatrophie (SMA)
Retrospektive Analyse des PatientInnenkollektivs
der SMA-Diagnostik
am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der
Medizinischen Universität Graz**

eingereicht von

Tamara Krenn, B.Sc.

zur Erlangung des akademischen Grades

**Master of Science
(M.Sc.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt im

Universitätslehrgang Medizinische Genetik

unter der Anleitung von Dr.scient.med. Julie Waldispühl-Geigl

Bad Ischl, am 30.06.2025

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Bad Ischl, am 30.06.2025

Tamara Krenn eh.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich für die Möglichkeit, meine Masterarbeit im Fachgebiet der Medizinischen Genetik am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz anfertigen zu dürfen, aufrichtig bedanken.

Mein besonderer Dank gilt hierbei meiner Betreuerin und ersten Ansprechperson, Frau Dr.scient.med. Julie Waldispühl-Geigl, für die gute Zusammenarbeit während des gesamten Projekts.

In gleicher Weise möchte ich mich an dieser Stelle bei der Lehrgangsführung des Universitätslehrgangs Medizinische Genetik, allen voran bei Frau Monika Artl MSc MSc und Herrn Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr. Dr. Erwin Petek bedanken.

Auch Sie standen bei allen Anliegen und Fragen im Laufe des gesamten Studiums jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Durch die aufschlussreichen Gespräche und den regen Wissensaustausch, sowohl in theoretischen als auch praktischen Angelegenheiten, konnte ich im Rahmen des Studiums spezifisches Fachwissen aus den verschiedensten Bereichen sammeln.

Da meine ganze Leidenschaft und mein Herzblut im Bereich der Medizinischen Genetik liegt, empfinde ich dieses Studium als enorme fachliche, als auch persönliche Bereicherung.

Ich durfte großartige Menschen kennenlernen und neue Freundschaften knüpfen.

*„Jeder kann über sich hinauswachsen und etwas erreichen,
wenn er es mit Hingabe und Leidenschaft tut.“*

[Nelson Mandela, 1918-2013]

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinem Freund Alexander für die immerwährende Unterstützung, seine unendliche Geduld und die unermüdlichen Ermutigungen während meines gesamten Studiums bedanken.

Zusammenfassung

Hintergrund

Die 5q-assoziierte Spinale Muskelatrophie zählt zu den häufigsten autosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen und stellte bis vor wenigen Jahren noch eine der häufigsten genetischen Ursache für das Versterben von Kindern im Säuglingsalter dar.

Seit der Entdeckung der zugrunde liegenden genetischen Veränderungen im SMA-Locus auf Chromosom 5q13 vor rund 30 Jahren wurden erhebliche Anstrengungen im Bereich der Diagnostik als auch möglicher Therapieoptionen unternommen.

Die Masterarbeit soll im Allgemeinen dazu beitragen, ein vertieftes Verständnis der diagnostischen und therapeutischen Landschaft der 5q-SMA zu entwickeln und im Rahmen einer retrospektiven Analyse des PatientInnenkollektivs der SMA-Diagnostik am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz epidemiologische Erkenntnisse im untersuchten PatientInnenkollektiv zu gewinnen.

Methoden

Die allgemeine Übersicht der 5q-SMA basiert auf relevanten Leitlinien sowie aktuellen Publikationen. Eine ausführliche, dem aktuellen Wissensstand entsprechende Literaturrecherche erfolgte über PubMed.

Das zu analysierende PatientInnenkollektiv umfasst Personen, welche in den Jahren 2021 bis Ende Juli 2024 am D&F Institut für Humangenetik Graz einer SMA-Diagnostik unterzogen wurden.

Die Analyse der bereits am Institut vorliegenden diagnostisch erhobenen Daten erfolgt mittels deskriptiver Statistik.

Die Fallzahl beläuft sich auf 77 postnatal analysierte Personen.

Ergebnisse & Schlussfolgerung

Im angegebenen Zeitraum wurden 42 weibliche sowie 35 männliche Personen analysiert (davon neun Personen aufgrund eines positiven Neugeborenen Screenings).

43 % aller Befunde waren unauffällig, 21 % auffällig und 36 % nachgewiesene Anlageträgerschaften.

0 *SMN1* / 3 *SMN2* (37,5 %), 1 *SMN1* / 2 *SMN2* (rund 43 %) und 2 *SMN1* / 2 *SMN2* (rund 61 %) stellen die häufigsten *SMN*-Genkopien-Kombinationen in diesen Kategorien dar.

Unter allen auffälligen Befunden konnte anhand des Abgleichs der Genotypen mit der Literatur in 25 % der Fälle eine 5q-SMA Typ I sowie in jeweils 37,5 % Typ II sowie Typ III/IV gestellt werden.

Ein positives Neugeborenencreening konnte in 8 von 9 Fällen durch ein auffälliges Ergebnis bestätigt werden.

Die molekulargenetische SMA-Diagnostik der 5q-SMA steht immer noch vor Herausforderungen.

Um wesentliche Limitationen herkömmlicher Methoden zu umgehen wird das diagnostische Potential der Long-read Sequenzierung als alternative Methode in mehreren Studien bekräftigt.

Die 5q-SMA kann trotz vielversprechender Therapieoptionen, deren Einfluss auf den Langzeitverlauf sich derzeit noch unzureichend beurteilen lässt, noch nicht als vollständig behandelbare Erkrankung angesehen werden.

Zur Reduktion der Erkrankungsfälle in der Bevölkerung kann dem präkonzeptionellen Trägerscreening mitunter eine besondere Bedeutung zugeschrieben werden.

Abstract

Background

The 5q-associated spinal muscular atrophy is one of the most common autosomal recessive diseases. Until a few years ago, the disease was one of the most common genetic causes of infant mortality.

Since the discovery of the underlying genetic changes in the SMA-locus on chromosome 5q13, about 30 years ago, significant efforts have been made in both diagnostics and potential therapy options.

This master's thesis aims to contribute to a deeper understanding of the diagnostic and therapeutic landscape of 5q-SMA and to gain epidemiological insights into the patient population studied through a retrospective analysis of the SMA diagnostic at the Diagnostic & Research Institute for Human Genetics at the Medical University of Graz.

Methods

The general overview of 5q-SMA is based on relevant guidelines and current publications. A thorough literature search, reflecting the current state of knowledge, was conducted via PubMed.

The patient population to be analyzed includes individuals who underwent SMA diagnostics at the Diagnostic & Research Institute for Human Genetics in Graz between 2021 and the end of July 2024.

The analysis of the diagnostic data already collected at the institute is performed using descriptive statistics.

The sample size consists of 77 postnatally analyzed individuals.

Results & Conclusion

During the specified period, 42 female and 35 male individuals were analyzed (nine of them due to a positive newborn screening).

43 % of all findings were normal, 21 % were abnormal, and 36 % showed confirmed carrier statuses.

The most common *SMN* gene combinations in these categories were 0 *SMN1* / 3 *SMN2* (37,5 %), 1 *SMN1* / 2 *SMN2* (approximately 43 %), and 2 *SMN1* / 2 *SMN2* (approximately 61 %).

Among all abnormal findings, a comparison of the genotypes with the literature revealed that in 25 %, 5q-SMA Type I, and in 37,5 % each, Types II and III/IV were diagnosed.

A positive newborn screening was confirmed in 8 out of 9 cases by an abnormal result.

The molecular genetic diagnostics of 5q-SMA still faces challenges. To minimize existing limitations of conventional methods, the diagnostic potential of long-read sequencing as an alternative method has been confirmed in several studies.

Despite promising treatment options, whose impact on long-term outcomes is still insufficiently assessed, 5q-SMA cannot yet be considered a fully treatable disease. To prevent 5q-SMA in the population, preconception carrier screening offer an effective way to reduce the number of cases of the disease.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	II
Danksagung	III
Zusammenfassung	IV
Abstract	VI
Inhaltsverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	XI
Abbildungsverzeichnis	XIV
Tabellenverzeichnis	XVI
1 Einleitung	1
2 Grundlagen	1
2.1 5q-assoziierte proximale Spinale Muskelatrophie (SMA).....	2
2.1.1 Allgemeine Informationen.....	2
2.1.2 Klinische Beschreibung.....	4
2.1.3 Klassifikation.....	5
2.1.3.1 Ursprüngliche Klassifikation.....	6
2.1.3.2 Neue Klassifikation.....	8
2.2 Genetische Grundlage der 5q-SMA.....	9
2.2.1 Allgemeine Informationen.....	9
2.2.2 Die Rolle des <i>SMN2</i> -Gens.....	11
2.2.3 Silent Carrier.....	13
2.2.4 Erbgang & Familienkonstellationen.....	13
2.2.5 Lokalisation und Struktur des humanen SMA-Locus.....	17
2.2.6 SMN-Protein.....	18
2.3 Diagnostik der 5q-SMA.....	20
2.3.1 Allgemeine Informationen.....	20
2.3.2 Neugeborenencreening der 5q-SMA in Österreich.....	20
2.3.2.1 Allgemeine Informationen.....	20
2.3.2.2 Maßnahmen bei einem positiven.....	
Neugeborenencreeningbefund.....	22
2.3.3 Molekulargenetische Diagnostik.....	22
2.3.3.1 Molekulargenetische Testung der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -.....	
Kopienzahl.....	23

2.3.3.2	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®).....	23
2.3.3.3	Workflow am D&F Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz.....	27
2.4	Therapieansätze der 5q-SMA.....	29
2.4.1	Allgemeine Informationen.....	30
2.4.2	Medikamentöse Therapieansätze.....	30
2.4.2.1	Spleißmodifikatoren.....	31
2.4.2.2	Gentherapie.....	32
2.4.2.3	Weitere Therapieansätze.....	33
2.4.2.4	Prognose.....	33
2.5	Vorgehen bei molekulargenetisch gesicherter Diagnose einer 5q-SMA.....	34
2.5.1	PatientInnen- und Familienmanagement.....	34
2.5.2	Genetische Beratung.....	34
3	Materialien und Methoden.....	37
3.1	PatientInnenkollektiv.....	37
3.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien.....	37
3.1.2	Fallzahl.....	37
3.1.3	Variablen.....	37
3.2	Risikoevaluierung.....	38
3.3	Speicherung/Aufbereitung des Datenmaterials und Datenschutz....	38
3.4	Statistische Auswertung des Datenmaterials.....	39
4	Ergebnisse.....	40
4.1	Indikationen der molekulargenetischen SMA-Abklärung.....	40
4.2	Anzahl an PatientInnen im analysierten Kollektiv.....	40
4.3	Geschlechterverteilung.....	41
4.4	Altersstruktur.....	41
4.5	Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung.....	43
4.6	SMA-Typen.....	47
4.7	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien.....	49
4.7.1	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im gesamten PatientInnenkollektiv.....	49

4.7.2	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv..... auffällige Ergebnisse.....	50
4.7.3	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv..... Anlageträger.....	51
4.7.4	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv..... unauffällige Ergebnisse.....	52
4.8	Alter und <i>SMN2</i> -Genkopien.....	53
4.9	Gesonderte Betrachtung der PatientInnen mit positivem..... Neugeborenenenscreeningbefund.....	54
4.9.1	Geschlechterverteilung.....	54
4.9.2	Altersstruktur.....	54
4.9.3	Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung.....	56
4.9.4	SMA-Typen.....	57
4.9.5	Anzahl der <i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien.....	58
5	Diskussion.....	59
5.1	Diskussion der Methoden.....	59
5.2	Diskussion der Ergebnisse.....	61
6	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	64
	Literaturverzeichnis.....	XVII

Abkürzungsverzeichnis

AAV	Adenovirus-assoziiertes Vektor
Abb.	Abbildung
ASO	Antisense-Oligonukleotid
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
c.	codierende Sequenz
ca.	circa
CB	Cajal body
CNV	Copy number variation
d	Tag
DNA	Desoxyribonucleic acid
Dr.	Doktor
D&F Institut	Diagnostik- & Forschungsinstitut
ebd.	ebenda
ESE	Exonic splicing enhancer
et al.	et alii
FL SMN	full-length SMN protein
g.	genomische Sequenz
Gems	Gemini of Cajal bodies
<i>GTF2H2</i>	General Transcription Factor IIH Subunit 2 - Gene
i. d. R.	in der Regel
kb	Kilobase
kDA	Kilodalton
LOF	Loss-of-function
LPO	Left Probe Oligonucleotide
LRS	Long-read sequencing
Max.	Maximum
MeSH-Terms	Medical Subject Headings
Min.	Minimum
mind.	mindestens

MLPA	Multiplex Ligation-dependent probe amplification
mRNA	messenger ribonucleic acid
<i>NAIP</i>	NLR Family Apoptosis Inhibitory Protein - Gene
NGS	Next-generation sequencing
NTC	No Template Control
o. J.	ohne Jahr
PCR	Polymerase chain reaction
PID	Präimplantationsdiagnostik
PubMed	<i>Literaturdatenbank</i>
q-Arm	langer Arm
qPCR	quantitative PCR
Q1	erstes Quartil
Q3	drittes Quartil
RPO	Right Probe Oligonucleotide
S.	Seite
<i>SERF1A</i>	Small EDRK-Rich Factor 1A - Gene
<i>SERF1B</i>	Small EDRK-Rich Factor 1B - Gene
SMA	Spinale Muskelatrophie
<i>SMN</i>	Survival of motor neuron - Gene
<i>SMNc</i>	centromeric <i>SMN</i>
<i>SMNt</i>	telomeric <i>SMN</i>
<i>SMN1</i>	Survival of motor neuron 1 - Gene
<i>SMN2</i>	Survival of motor neuron 2 - Gene
snRNPs	small nuclear ribonucleoproteins
SNV	Single nucleotide variant
sog.	sogenannt
srNGS	Short-read sequencing
T	Thymidin
Tab.	Tabelle
TR SMN	truncated SMN protein
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
z. B.	zum Beispiel

z. T.	zum Teil
ΨGTF2H2B	<i>Pseudogen</i>
ΨNAIPΔ5	<i>Pseudogen</i>
5q-SMA	5q-assoziierte Spinale Muskelatrophie
%	Prozent

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Prozess der Signalweiterleitung im menschlichen Körper (eigene Darstellung, 2024 nach Novartis, 2024).....	3
Abb. 2 Familienkonstellation 1 – beide Elternteile sind Anlageträger..... (dgm.org, o. J.a).....	14
Abb. 3 Familienkonstellation 2 – ein Elternteil ist Anlageträger, ein Elternteil ist..... nicht betroffen (dgm.org, o. J.a).....	15
Abb. 4 Familienkonstellation 3 – ein Elternteil ist betroffen, ein Elternteil ist nicht... betroffen (dgm.org, o. J.a).....	15
Abb. 5 Familienkonstellation 4 – ein Elternteil ist Anlageträger, ein Elternteil ist..... betroffen (dgm.org, o. J.a).....	16
Abb. 6 Familienkonstellation 5 – beide Elternteile sind betroffen (dgm.org,..... o. J.a).....	16
Abb. 7 Schematische Darstellung von Chromosom 5 - ISCN 2020 (McGowan-..... Jordan et al., 2020).....	17
Abb. 8 Schematische Darstellung des SMA-Locus und der Proteinmengen bei..... gesunden Individuen (eigene Darstellung, 2024).....	17
Abb. 9 Strukturmodell des SMN-Proteins (Singh et al., 2017).....	18
Abb. 10 MLPA-Reaktion – Übersicht (MRC Holland, 2022).....	26
Abb. 11 Schematische Darstellung von MLPA-Sonden (mrcholland.com, o. J.)...26	
Abb. 12 Historische Meilensteine in der Geschichte der SMA (eigene Darstellung,.. 2025 nach Königshofer, 2018).....	30
Abb. 13 Geschlechterverteilung im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung,..... 2025).....	41
Abb. 14 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv gesamt – Frauen und Männer. (eigene Darstellung, 2025).....	42
Abb. 15 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz (eigene Darstellung, 2025).....	43
Abb. 16 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung,..... 2025).....	43
Abb. 17 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv auffällige Ergebnisse –..... Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	44
Abb. 18 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv Anlageträger – Frauen und.... Männer (eigene Darstellung, 2025).....	45
Abb. 19 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv unauffällige Ergebnisse –..... Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	46
Abb. 20 SMA-Typen im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung, 2025).....	47

Abb. 21	SMA-Typen im PatientInnenkollektiv – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	48
Abb. 22	Box-Plot (Alter [d]) Darstellung nach SMA-Typ (eigene Darstellung, 2025).....	48
Abb. 23	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung, 2025).....	49
Abb. 24	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – auffällige Ergebnisse (eigene Darstellung, 2025).....	50
Abb. 25	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – auffällige Ergebnisse – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	50
Abb. 26	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – Anlageträger (eigene Darstellung, 2025).....	51
Abb. 27	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – Anlageträger – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	51
Abb. 28	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – unauffällige Ergebnisse (eigene Darstellung, 2025).....	52
Abb. 29	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien im PatientInnenkollektiv – unauffällige Ergebnisse – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	52
Abb. 30	Punktdiagramm – Alter [d] und <i>SMN2</i> -Genkopienzahl (eigene Darstellung, 2025).....	53
Abb. 31	Geschlechterverteilung – positive Neugeborenen Screenings (eigene Darstellung, 2025).....	54
Abb. 32	Box-Plot (Alter [d]) positive Neugeborenen Screenings – weibliche und männliche Personen (eigene Darstellung, 2025).....	55
Abb. 33	Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – positive Neugeborenen Screenings (eigene Darstellung, 2025).....	56
Abb. 34	Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – positive Neugeborenen Screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	56
Abb. 35	SMA-Typen – positive Neugeborenen Screenings (eigene Darstellung, 2025).....	57
Abb. 36	SMA-Typen – positive Neugeborenen Screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	57
Abb. 37	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien – positive Neugeborenen Screenings (eigene Darstellung, 2025).....	58
Abb. 38	<i>SMN1</i> - und <i>SMN2</i> -Genkopien – positive Neugeborenen Screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025).....	58

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 MRC-Holland MLPA-Kits am D&F Institut für Humangenetik Graz (eigene... Darstellung, 2025).....	27
Tab. 2 Berücksichtigte Variablen bei der deskriptiven Analyse (eigene Darstellung, 2025).....	38
Tab. 3 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv gesamt –..... Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	42
Tab. 4 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv auffällige..... Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	44
Tab. 5 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv Anlageträger –..... Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	45
Tab. 6 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv unauffällige..... Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025).....	46
Tab. 7 Genotyp-Phänotyp-Korrelation (nach Prior et al., 2000).....	47
Tab. 8 Darstellung der Daten (Alter [d]) – positive Neugeborenen Screenings –..... weibliche und männliche Personen (eigene Darstellung, 2025).....	55

1 Einleitung

Das Ziel dieser Masterarbeit ist, eine umfassende Übersicht der 5q-assoziierten proximalen Spinalen Muskelatrophie, im Nachfolgenden auch als 5q-SMA bezeichnet, deren molekulargenetische Diagnostik sowie mögliche Therapieansätze zu geben (Kapitel 2).

Diese Übersicht basiert auf relevanten Leitlinien sowie aktuellen Publikationen. Eine ausführliche, dem aktuellen Wissensstand entsprechende Literaturrecherche erfolgte über PubMed.

Zudem erfolgt im Rahmen dieser Masterarbeit eine retrospektive Analyse des PatientInnenkollektivs der SMA-Diagnostik am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz, nachfolgend als D&F Institut für Humangenetik Graz bezeichnet (Kapitel 3 und 4).

Das PatientInnenkollektiv umfasst Personen, welche seit Beginn der SMA-Diagnostik im Jahr 2021 bis Ende Juli 2024 am D&F Institut für Humangenetik Graz einer molekulargenetischen SMA-Diagnostik unterzogen wurden.

Die Analyse erfolgt mittels deskriptiver Statistik, bei der diagnostisch erhobene Daten, welche bereits am Institut vorliegen, verwendet werden.

Die Fallzahl beläuft sich auf 77 postnatal erfasste Personen.

Die Masterarbeit soll im Allgemeinen dazu beitragen, ein vertieftes Verständnis der diagnostischen und therapeutischen Landschaft der 5q-SMA zu entwickeln und wichtige epidemiologische Erkenntnisse im untersuchten PatientInnenkollektiv zu gewinnen.

2 Grundlagen

In den folgenden Kapiteln wird auf die, dieser wissenschaftlichen Arbeit zugrunde liegende Theorie eingegangen.

Wie bereits eingangs erwähnt, wird in diesem Kapitel eine umfassende Übersicht der 5q-SMA gegeben.

Als Quellen wurden sämtliche Leitlinien und Internetseiten sowie Studien aus der Datenbank PubMed herangezogen.

Für die Literaturrecherche in der Datenbank PubMed wurden neben MeSH-Begriffen, wie bspw. „Spinal Muscular Atrophy“, auch sämtliche weitere Begriffe, welche nicht als MeSH-Begriffe verfügbar sind, verwendet.

Die Suchfunktionen „Article Type“ und „Publication Date“ wurden u. a. zur weiteren Eingrenzung der Ergebnisse verwendet.

Außerdem wurden die in wichtigen Publikationen häufig zitierten Studien auf ihre Relevanz überprüft und als Quellen für diese Arbeit herangezogen.

Es wurde ausschließlich Literatur in englischer und deutscher Sprache verwendet.

2.1 5q-assoziierte proximale Spinale Muskelatrophie (SMA)

2.1.1 Allgemeine Informationen

Der Begriff „Spinale Muskelatrophie (SMA)“ beschreibt im weitesten Sinne eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe neuromuskulärer Erkrankungen, welche durch eine fortschreitende Degeneration der Alpha-Motoneuronen im Vorderhorn des Rückenmarks und z. T. auch motorischer Hirnnervenkerne gekennzeichnet ist. Die Denervierung führt in der Folge zu einer progredienten Schwäche und Atrophie der Skelettmuskulatur, wobei die proximale Muskulatur oft stärker betroffen ist als die distale (Burr & Reddivari, 2023; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017).

Zusammen mit einer ungestörten Sensibilität stellen diese klinischen Zeichen die Kardinalsymptome der SMA dar (gelbe-liste.de, 2021b).

Nachfolgend wird in Abb. 1 der Prozess der Signalweiterleitung im menschlichen Körper vereinfacht schematisch dargestellt.

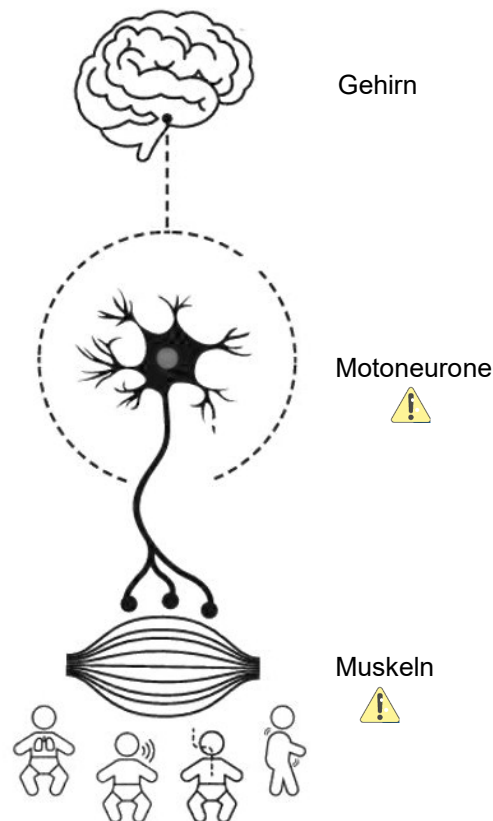


Abb. 1 Prozess der Signalweiterleitung im menschlichen Körper
 (eigene Darstellung, 2024 nach Novartis, 2024)
 Im Gehirn entstehen Signale für die einzelnen Muskelbewegungen.
 Spezialisierte motorische Nervenzellen (Motoneurone) leiten diese vom Gehirn weiter zu den Muskeln.
 Durch diese Signale wird das An- und Entspannen der Muskeln ausgelöst,
 wodurch spezifische Bewegungen und Funktionen des menschlichen Körpers,
 wie bspw. die Atmung, das Sprechen, das Schlucken und das Gehen, entstehen.
 Bei PatientInnen mit SMA verkümmern Motoneurone aufgrund einer genetischen Veränderung
 und werden funktionsunfähig.
 Bewegungssignale können folglich nicht mehr weitergeleitet werden,
 wodurch es zu einer Degeneration und Atrophie der Muskulatur kommt
 (Novartis, 2024).

Laut Rudnik-Schöneborn & Zerres (2017) werden, je nach anatomischer Lokalisation des Manifestationsschwerpunktes, proximale und distale Spinale Muskelatrophien sowie Spinale Muskelatrophien mit speziellen Verteilungsmustern unterschieden.

Die SMA ist genetisch bedingt, größtenteils autosomal-rezessiv vererbt oder auch sporadisch entstanden (gelbe-liste.de, 2021b).

Die häufigste Form einer frühmanifestierenden proximalen SMA im Neugeborenen- und Kindesalter ist die, einem autosomal-rezessiven Erbgang folgende, „Spinale Muskelatrophie 5q“, assoziiert mit genetischen Veränderungen auf dem q-Arm von Chromosom 5 (Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017).

Mit einer geschätzten Häufigkeit von Neuerkrankungen von rund 1:10.000 unter Neugeborenen weltweit und einer geschätzten Anlageträgerfrequenz (Heterozygotenfrequenz) von 1:50 weltweit, zählt die den seltenen Erkrankungen zugeordnete 5q-SMA neben der Cystischen Fibrose zu den häufigsten autosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen und stellte bis vor wenigen Jahren noch eine der häufigsten genetischen Ursache für das Versterben von Kindern im Säuglingsalter dar (Burr & Reddivari, 2023; Groen et al., 2018; Lunn & Wang, 2008; Monani et al., 1999; Verhaart et al., 2017; Wirth et al., 2020).

Es wird angenommen, dass die Gesamtprävalenz zwischen 1 und 2:100.000 Menschen liegt, wobei die Studienlage begrenzt ist (Verhaart et al., 2017).

Im Rahmen dieser Arbeit wird in den folgenden Kapiteln detaillierter auf die 5q-assoziierte proximale Spinale Muskelatrophie eingegangen.

2.1.2 Klinische Beschreibung

Das klinische Bild einer 5q-SMA ist äußerst variabel und umfasst unbehandelt ein breites Spektrum, von schwersten Formen bei Neugeborenen mit drastisch herabgesetzter Lebenserwartung bis zu mildereren Formen im Erwachsenenalter.

Zu den Hauptcharakteristika zählen eine fortschreitende Muskelschwäche und -atrophie bei ungestörter Sensibilität sowie Kognition (gelbe-liste.de, 2021b; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017).

Die Muskelschwäche äußert sich zumeist in symmetrischer Form, wobei die rumpfnah, proximale Muskulatur meist stärker betroffen ist als die rumpferne, distale Muskulatur. Zur proximalen Muskulatur zählen die Rumpf-, Rücken-, Hüft- sowie Schultermuskulatur (dgm.org, o. J.b; Roche Austria GmbH, 2022).

Da bei der 5q-SMA der Verlust der Motoneurone stetig fortschreitet, nimmt die Muskelkraft im Verlauf immer weiter ab. Zudem können im Rahmen eines Wachstumsschubes bereits erreichte motorische Fähigkeiten wieder verloren gehen (dgm.org, o. J.b).

Auch die Funktion anderer Organe kann im Rahmen dieser Erkrankungsgruppe beeinträchtigt sein (roche.de, o. J.).

Dass nicht nur die Skelettmuskulatur, und somit die Mobilität, betroffen sind, sondern auch andere Bereiche des Körpers, wie die Atmung, die Verdauung und

das Herz-Kreislaufsystem, resultiert aus dem bei der Erkrankung betroffenen SMN-Protein. Dieses wird ubiquitär exprimiert und ist in grundlegende Zellfunktionen involviert (ebd.).

Aufgrund von Kontrakturen und Skoliose treten häufig orthopädische Probleme auf (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Symptome wie Muskelschwäche, verminderte Ausdauer, Müdigkeit und Schmerzen erschweren es den PatientInnen alltägliche Aufgaben, wie bspw. das Kauen und Schlucken von Nahrung, auszuführen. Durch diese Beeinträchtigung grundlegender körperlicher Funktionen sowie alltäglicher Aufgaben und Aktivitäten ist die Selbstständigkeit und somit das Leben von Betroffenen häufig stark beeinträchtigt. Diese Herausforderungen stellen PatientInnen und ihre Familien vor körperliche, psychische, soziale und finanzielle Belastungen (hirnstiftung.org, o. J.; Kölbel & Müller-Felber, 2020; roche.de, o. J.; Roche Pharma AG, 2021).

2.1.3 Klassifikation

Anhand des Zeitpunktes des Auftretens der ersten Krankheitssymptome und den maximal erlangten motorischen Fähigkeiten wurden ursprünglich fünf Typen der 5q-SMA, SMA Typ 0 bis IV, unterschieden (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Infolge neuer Therapiemöglichkeiten und der dadurch wandelnden Phänotypen wurde eine neue Klassifikation erforderlich, mit dem Ziel das daraus resultierende dynamische klinische Bild der Erkrankung besser abzubilden (Finkel et al., 2018; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Mercuri et al., 2018a).

Die in diesem Kapitel dargestellten Unterformen der 5q-SMA variieren hinsichtlich des Schweregrades und des Verlaufs. Die Übergänge der einzelnen Formen sind fließend, sodass eine diagnostische Zuordnung häufig erst im Verlauf möglich ist (gelbe-liste.de, 2021b; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Müller-Felber et al., 2024).

Der variable Krankheitsverlauf erlaubt demnach keine eindeutige Vorhersage der individuellen Prognose (Roche Pharma AG, 2021).

In den folgenden Abschnitten wird auf die ursprüngliche sowie neue pragmatische Klassifikation der 5q-SMA näher eingegangen.

2.1.3.1 Ursprüngliche Klassifikation

Die ursprüngliche Klassifikation des internationalen SMA-Konsortiums orientierte sich an Kriterien, wie dem Erkrankungsbeginn und den erreichten motorischen Meilensteinen. Die 5q-SMA wird hierbei in die Typen 0 bis IV eingeteilt (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Prior et al., 2000; Wirth et al., 2020).

„Je später die Erkrankung ausbricht, desto mehr motorische Fähigkeiten kann ein Kind entwickeln, und umso höher ist die Lebenserwartung.“ (Nennstiel et al., 2019)

SMA Typ 0

PatientInnen mit bereits bei der Geburt vorhandener erheblicher Muskelschwäche und Atemnot werden dem Typ 0, auch als pränatale SMA bezeichnet, zugeordnet. Intrauterin können in diesen Fällen bereits eingeschränkte fetale Bewegungen festgestellt werden (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Nennstiel et al., 2019; Prior et al., 2000).

Betroffene Säuglinge versterben zumeist innerhalb von sechs Lebensmonaten an einer Ateminsuffizienz (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Hassan et al., 2022; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Prior et al., 2000; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

SMA Typ I

Bei der SMA Typ I, auch genannt als infantile akute SMA bzw. nach den Erstbeschreibenden als Werdnig-Hoffmann-Krankheit bezeichnet, beginnen die Symptome i. d. R. innerhalb der ersten sechs Lebensmonate.

Das freie Sitzen wird zu keinem Zeitpunkt der Erkrankung erlernt (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Prior et al., 2000; Tizzano & Zafeiriou, 2018; Zierz & Jerusalem, 2003).

Laut Zierz & Jerusalem (2003) äußert sich die Erkrankung postnatal in geminderter Spontanbewegung, Trinkschwäche und schwachem Schreien.

Zudem stehen eine generalisierte proximale Muskelschwäche, Areflexie und Muskelhypotonie („floppy infant“) im Vordergrund. Die sog. Froschstellung der Beine ist charakteristisch. Die psychische Wachheit der betroffenen Kinder steht in Kontrast zur motorischen Immobilität (Zichner, 2003; Zierz & Jerusalem, 2003).

Der Gesundheitszustand der PatientInnen verschlechtert sich rasch und führt, bedingt durch eine zunehmende Schwäche der Atemmuskulatur, in einem Großteil der Fälle innerhalb der ersten zwei Lebensjahre zum Tod (Burr & Reddivari, 2023; Emmady & Bodle, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Hassan et al., 2022; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Tizzano & Zafeiriou, 2018; Zichner, 2003; Zierz & Jerusalem, 2003).

SMA Typ II

Die SMA Typ II, bezeichnet als infantile chronische bzw. intermediäre SMA, manifestiert sich nach dem sechsten bis zum 18. Lebensmonat. Die motorische Entwicklung der Kinder ist deutlich retardiert, das freie Sitzen wird erlernt, das freie Stehen oder Gehen ohne fremde Hilfe ist zumeist jedoch nicht möglich (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; hirnstiftung.org, o. J.; Prior et al., 2000; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017; Tizzano & Zafeiriou, 2018; Zichner, 2003).

Dank verbesserter Gesundheitsversorgungsstandards ist ein Überleben bis ins Erwachsenenalter möglich (Burr & Reddivari, 2023; Cancès et al., 2020; gelbe-liste.de, 2021b; Hassan et al., 2022; hirnstiftung.org, o. J.; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

SMA Typ III

Bei der SMA Typ III, als juvenile SMA bzw. Kugelberg-Welander-Krankheit bezeichnet, treten die Symptome in der Regel ab dem 18. Lebensmonat oder in der frühen Kindheit auf (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Prior et al., 2000; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

Die Muskelschwäche beginnt zumeist schleichend, weshalb eine genaue Bestimmung des Erkrankungsalters oftmals nicht möglich ist.

Die PatientInnen können zumeist selbstständig sitzen und gehen. Im Verlauf der Erkrankung kommt es häufig jedoch zum Verlust der Gehfähigkeit.

Gehstörungen, Schwierigkeiten beim Treppensteigen und Aufrichten aus der Hocke stellen hierbei die häufigsten Klagen dar (gelbe-liste.de, 2021b; Hassan et al., 2022; hirnstiftung.org, o. J.; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Salort-Campana & Quijano-Roy, 2020; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

Von SMA Typ III betroffene PatientInnen haben im Allgemeinen eine nahezu normale Lebenserwartung (Burr & Reddivari, 2023; hirnstiftung.org, o. J.; Kölbel & Müller-Felber, 2020).

SMA Typ IV

Um einen sehr seltenen Typ handelt es sich bei der SMA von Typ IV, die sog. adulte SMA. Diese beginnt normalerweise im jungen Erwachsenenalter und führt zu einer leichten motorischen Beeinträchtigung, wobei es zu keiner Einschränkung der Lebenserwartung kommt (Burr & Reddivari, 2023; gelbe-liste.de, 2021b; Hassan et al., 2022; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Prior et al., 2000; Souza et al., 2021; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

2.1.3.2 Neue Klassifikation

Durch die ursprüngliche Klassifikation wurden die, durch neuartige Therapiemöglichkeiten, modifizierten Phänotypen nicht berücksichtigt. Um diesen Veränderungen gerecht zu werden, wurde die Erstellung einer neuen Klassifikation notwendig. Dem aktuellen Konsens zufolge erfolgt die Einteilung nun in „Non-Sitter“, „Sitter“ und „Walker“. Bei bestimmten Entscheidungsfindungen kann der aktuelle Funktionsstatus mitunter eine höhere Relevanz besitzen. Für die nun pragmatische Einteilung ist daher der aktuelle Funktionsstatus dem maximal erreichten motorischen Funktionsniveau vorzuziehen (Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Müller-Felber et al., 2024; Tizzano & Finkel, 2017; Wirth et al., 2020).

Non-Sitter

Erlernen PatientInnen das freie Sitzen nicht oder es wurde wieder verloren, werden die Betroffenen der Gruppe der sog. Non-Sitter zugeordnet. Es handelt sich überwiegend um SMA Typ 0 und I PatientInnen, seltener um SMA Typ II PatientInnen im fortgeschrittenen Stadium (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth et al., 2020).

Sitter

Ist ein eigenständiges aufrechtes Sitzen ohne Unterstützung oder Verwendung der Arme für mind. zehn Sekunden möglich, werden PatientInnen der Gruppe der sog. Sitter zugeordnet. Zumeist handelt es sich um SMA Typ II und III PatientInnen.

Bedingt durch die neuen Therapiemöglichkeiten können vermehrt behandelte SMA Typ I PatientInnen in diese Gruppe eingeordnet werden (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth et al., 2020).

Walker

Besitzen PatientInnen die Fähigkeit über mind. zehn Meter aufrecht zu gehen, mit gerader Wirbelsäule ohne Unterstützung, werden diese in die Gruppe der sog. Walker eingeordnet. Zumeist handelt es sich hierbei um SMA Typ III und IV PatientInnen sowie bei rechtzeitigem Therapiebeginn auch behandelte präsymptomatische SMA-PatientInnen (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth et al., 2020).

2.2 Genetische Grundlage der 5q-SMA

2.2.1 Allgemeine Informationen

Durch bahnbrechende Studien in den 1990er Jahren ließen sich trotz der Heterogenität im Krankheitsbild die unterschiedlichen SMA-Typen auf genetische Veränderungen auf dem q-Arm von Chromosom 5, im Bereich 5q13, eingrenzen. Bei dieser chromosomalen Region handelt es sich um eine, ausschließlich beim Menschen vorkommende, genomisch sehr instabile invertierte Duplikation, welche sich über ca. 500 kb erstreckt und sich in der Bevölkerung als hochpolymorph darstellt (Brzustowicz et al., 1990; Butchbach, 2021; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Gilliam et al., 1990; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Lefebvre et al., 1995; Rochette et al., 2001).

Im Jahr 1995 wurde von Lefebvre et al. mit dem *SMN*-Gen das krankheitsverursachende Gen für SMA in diesem Bereich identifiziert und als sog. *survival of motor neuron gene* bezeichnet (Aasdev et al., 2024).

SMN1, *NAIP*, *GTF2H2* und *SERF1A* stellen die vier proteincodierenden Hauptgene in diesem oben genannten genomischen Bereich 5q13 dar.

Durch die Duplikation liegen die Gene beim Menschen in zwei Kopien vor. Die duplizierten Gene sind entweder identisch mit ihrem Partnergen (*SERF1B*), unterscheiden sich lediglich durch eine geringe Anzahl an Nukleotiden (*SMN2*) oder sind Pseudogene (*ΨGTF2H2B* und *ΨNAIPΔ5*) (Butchbach, 2021; Hassan et al., 2022).

Im Rahmen der 5q-SMA spielen die beiden hochhomologen *SMN*-Gene, das telomernahe *SMN*-Gen (*SMNt*, *SMN1*) und das zentromernahe *SMN*-Gen (*SMNc*, *SMN2*) eine bedeutende Rolle (Aasdev et al., 2024; Burr & Reddivari, 2023; Butchbach, 2016; Hassan et al., 2022; Monani et al., 1999; Rochette et al., 2001; Roy et al., 1995; Zhang et al., 2020).

Beide Gene, *SMN1* sowie *SMN2* bestehen aus neun Exons (Exons 1, 2a, 2b und 3-8), sind nahezu identisch und kodieren für dasselbe Protein (Lorson & Androphy, 2000).

Es gibt nur wenige Einzelnukleotidvarianten (SNVs), die das *SMN1*- und *SMN2*-Gen voneinander unterscheiden (Biros & Forrest, 1999).

Der wichtigste klinisch relevante Sequenzunterschied, eine Cytosin zu Thymin-Transition (*SMN2* c.840C>T), liegt in der codierenden Sequenz, in Exon 7 (SNV c.840C ist *SMN1*- und c.840T *SMN2*-spezifisch).

Bei *SMN1* fördert das C an dieser Position den Einbau von Exon 7 in von *SMN1* abgeleitete mRNAs. Die Transkription des *SMN1*-Gens führt zur Bildung einer korrekten mRNA und folglich in 100 % zur Bildung eines funktionsfähigen SMN-Proteins (full-length SMN, FL SMN).

Bei *SMN2* führt das T an besagter Position aufgrund eines alternativen Spleiß-Prozesses bei rund 90 % der *SMN2*-Transkripte zum Ausschluss von Exon 7 und somit zu verkürzten Genprodukten (truncated SMN, TR SMN, *SMN*ΔEx7). Lediglich 10 % der *SMN2*-Transkripte sind korrekt gespleißt und demnach funktionsfähig (Burr & Reddivari, 2023; Butchbach, 2021; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Hassan et al., 2022; Monani et al., 1999; Tizzano & Zafeiriou, 2018; Wirth et al., 2020).

Die betroffene Position in Exon 7 befindet sich in einer sog. Exonic-Splicing-Enhancer-Sequenz (ESE), welche den Einschluss von Exon 7 in *SMN1*-Transkripte reguliert. Eine Veränderung in diesem Element führt zum alternativen Spleißen und folglich zum Exon-Ausschluss (*SMN*ΔEx7) aus der Mehrheit der von *SMN2* abgeleiteten mRNAs (Butchbach, 2021; Cartegni & Krainer, 2002; Cartegni et al., 2006; DiDonato et al., 2001; Hassan et al., 2022; Kashima & Manley, 2003; Kashima et al., 2007; Lorson et al., 1999; Lorson & Androphy, 2000; Monani et al., 1999; Singh et al., 2004; Tizzano & Zafeiriou, 2018).

Die meisten Individuen haben jeweils zwei funktionsfähige Kopien des *SMN1*- und *SMN2*-Gens, jeweils eine *SMN1*- und eine *SMN2*-Genkopie auf jedem Allel. Aufgrund der Instabilität des SMA-Locus kommt es häufig zu Deletionen/Duplikationen und Genkonversionen. Dies führt zu unterschiedlichen Kopienzahlen eines jeden Gens (Costa-Roger et al., 2021; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024).

Die 5q-SMA wird dadurch verursacht, dass keine funktionsfähigen *SMN1*-Genkopien vorhanden sind (loss-of-function (LOF)-Ereignisse), hervorgerufen durch Deletionen oder Mutationen, zumeist Punktmutationen. Bei Deletionen sind partielle Deletionen oder auch eine Deletion des gesamten *SMN1*-Gens möglich (Prior et al., 2000; Wirth et al., 2020).

In rund 96 % der Fälle resultiert die Erkrankung aus einer homozygoten Deletion des Exons 7 oder der Exons 7 und 8 des *SMN1*-Gens auf Chromosom 5q, aufgrund einer Gendeletion oder einer *SMN1*-zu-*SMN2*-Genkonversion (c.840C>T) (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth, 2021; Wirth et al., 2020).

Bei ca. 4 % der 5q-SMA PatientInnen liegt eine Compound-Heterozygotie vor. In diesen Fällen tritt die häufige Deletion oder Genkonversionsmutation auf einem Allel und eine pathogene *SMN1*-Sequenzvariante auf dem zweiten Allel auf (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

In seltenen Fällen, bei etwa 2 % der betroffenen Personen kommt eine de novo *SMN1*-Variante auf einem Allel vor. In diesen Fällen ist nur ein Elternteil Träger der Erkrankung (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth, 2021; Wirth et al., 2020).

Durch zahlreiche Studien konnte gezeigt werden, dass *SMN2* das primär krankheitsmodifizierende Gen ist (Butchbach, 2016; Hassan et al., 2022; Wirth, 2021).

2.2.2 Die Rolle des *SMN2*-Gens

Ist das *SMN1*-Gen funktionsunfähig, wie es bei Menschen mit 5q-SMA der Fall ist, steht lediglich das *SMN2*-Gen für die Produktion des SMN-Proteins zur Verfügung. Die Anzahl der Kopien des *SMN2*-Gens beeinflusst hierbei maßgeblich die Menge des SMN-Proteins, welche in einem derartigen Fall gebildet werden kann (dgm.org, 2023; roche.at, o. J.).

Die Erklärung für die phänotypische Heterogenität der Erkrankung liegt demnach im Vorhandensein des *SMN2*-Gens (Burr & Reddivari, 2023).

Zahlreiche Studien zeigen einen umgekehrten Zusammenhang zwischen der Anzahl der *SMN2*-Genkopien und dem Schweregrad der Erkrankung, wonach dieser umgekehrt mit dem SMN-Proteinspiegel korreliert (Butchbach, 2016; Butchbach, 2021; Calucho et al., 2018; Crawford et al., 2012; Elsheikh et al., 2009; Köbel & Müller-Felber, 2020; Lefebvre et al., 1997; Sun et al., 2020; Wirth et al., 2020).

Bei betroffenen Personen, die keine funktionsfähigen Kopien des *SMN1*-Gens verfügen, können Krankheitssymptome demnach möglicherweise umso milder ausfallen, je höher die Anzahl der vorhandenen Kopien des *SMN2*-Gens ist (Burr & Reddivari, 2023; dgm.org, 2023; Wirth et al., 2020).

Laut Singh et al. (2017) und Wirth et al. (2020) können seltene Varianten im *SMN2*-Gen sowie *SMN*-unabhängige genetische Modifier (wie bspw. *NAIP* und *Plastin 3*) zusätzlich den Phänotyp beeinflussen.

Während der umgekehrte Zusammenhang zwischen der *SMN2*-Genkopienzahl und dem Schweregrad des Phänotyps i. d. R. gilt, gibt es auch einige Ausnahmen. Beispielsweise wurden Fälle beschrieben, die entgegen der ursprünglich erwarteten Anzahl an *SMN2*-Genkopien eine geringere Anzahl aufweisen.

Die Sequenzierung des *SMN2*-Gens ergab in diesen Fällen das Vorhandensein einer seltenen Variante (*SMN2*: c.859G>C) in Exon 7.

Diese Variante reguliert das Spleißen von *SMN2*-prä-mRNAs, sodass in einem größeren Anteil der *SMN2*-Transkripte das Exon 7 enthalten ist (Bernal et al., 2010; Butchbach, 2016; Calucho et al., 2018; Prior et al., 2009; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017; Vezain et al., 2010; Wirth et al. 2020).

Die Anzahl vorhandener *SMN2*-Kopien wird nach auffälligem Screening bei der Bestätigungsdiagnostik ermittelt und ist maßgeblich für die Entscheidung über ein Therapie- oder Beobachtungs-Regime.

Eine eindeutige Prognose des Krankheitsverlaufs lässt sich aus der Anzahl der *SMN2*-Kopien jedoch nicht ableiten. (Nennstiel et al., 2019)

2.2.3 Silent Carrier

Als „Silent Carrier“, „stiller Träger“ oder auch „2 + 0-Träger“ werden Personen bezeichnet, welche zwei *SMN1*-Genkopien besitzen, diese jedoch auf dem gleichen Allel auf einem Chromosom liegen, sodass auf dem anderen Allel eine *SMN1*-Deletion vorliegt. „2 + 0“ bezieht sich hierbei auf die Anordnung der *SMN1*-Gene auf den beiden Chromosomen. Somit besitzen diese Menschen zwei funktionsfähige Kopien des *SMN1*-Gens auf einem Chromosom und null *SMN1*-Genkopien auf dem anderen Chromosom. Auch wenn diese Personen im Allgemeinen gesund sind und die Kopienzahl der *SMN1*-Gene unauffällig erscheint, macht sie diese Anordnung der Gene dennoch zu Anlageträgern (Azad et al., 2020; Brandsema et al., 2020; Chen et al., 2020; Milligan et al., 2022).

Der Nachweis der Polymorphismen g.27134T>G und g.27706-27707delAT gilt als Risikofaktor für einen "Silent Carrier"-Status (Chen et al., 2020).

2.2.4 Erbgang & Familienkonstellationen

Die 5q-SMA ist größtenteils erblich bedingt und folgt einem autosomal-rezessiven Erbgang (Burr & Reddivari, 2023; Lunn & Wang, 2008).

Dem Erbgang zufolge entwickeln Personen, mit mindestens zwei funktionsfähigen *SMN1*-Genkopien, mindestens einer auf jedem Chromosom, die Krankheit nicht.

Bei betroffenen PatientInnen liegen keine funktionsfähigen Kopien des *SMN1*-Gens, auf keinem der beiden Allele, vor.

Menschen mit einer einzelnen funktionsfähigen *SMN1*-Genkopie auf einem einzigen Chromosom stellen asymptotische Anlageträger dar.

Etwa 1:50 Menschen weltweit ist Anlageträger der Erkrankung (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Lunn & Wang, 2008; Wirth et al., 2020).

Auch Personen mit zwei funktionsfähigen *SMN1*-Genkopien auf dem gleichen Allel, sog. Silent Carrier, werden den asymptotischen Anlageträgern zugeordnet (Azad et al., 2020; Brandsema et al., 2020; Chen et al., 2020; Milligan et al., 2022).

In den folgenden Abbildungen sind die für verschiedene Familienkonstellationen geltenden Wahrscheinlichkeiten, dass ein Kind an einer 5q-SMA leidet, dargestellt.

Diese Wahrscheinlichkeiten gelten für jede Schwangerschaft. Aufgrund des autosomal-rezessiven Erbgangs spielen die Geschlechter weder bei den Eltern noch bei den Kindern eine relevante Rolle.

Bei jeder Schwangerschaft eines Paares, bestehend aus zwei Anlageträgern besteht eine Wahrscheinlichkeit von etwa 25 %, ein betroffenes Kind zu bekommen, eine Wahrscheinlichkeit von etwa 50 %, dass das Kind ein asymptomatischer Träger ist, und eine Wahrscheinlichkeit von etwa 25 %, ein nicht betroffenes Kind zu bekommen (Abb. 2) (dgm.org, o. J.a).

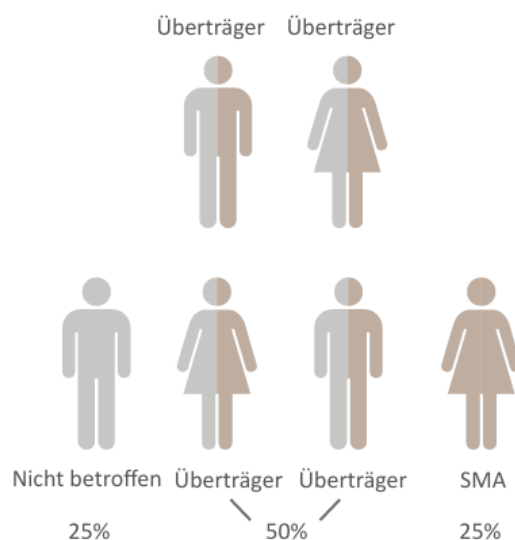


Abb. 2 Familienkonstellation 1 – beide Elternteile sind Anlageträger (dgm.org, o. J.a)
Betroffenes Kind (Wahrscheinlichkeit von 25 %), Anlageträger (Wahrscheinlichkeit von 50 %),
nicht betroffenes Kind (Wahrscheinlichkeit von 25 %) (dgm.org, o. J.a).

In den nachfolgenden Abbildungen werden weitere Konstellationen gezeigt.

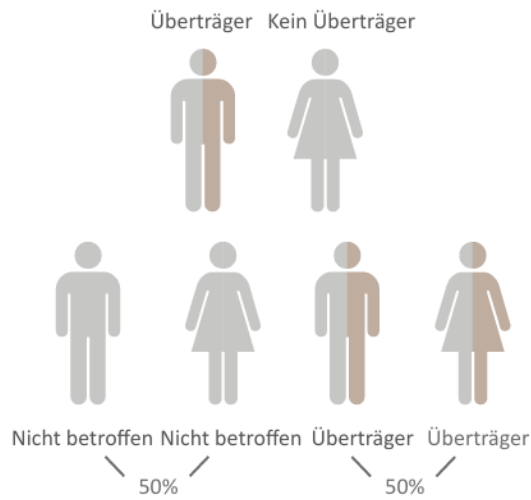


Abb. 3 Familienkonstellation 2 – ein Elternteil ist Anlageträger, ein Elternteil ist nicht betroffen
 (dgm.org, o. J.a)
 Anlageträger (Wahrscheinlichkeit von 50 %), nicht betroffenes Kind (Wahrscheinlichkeit von 50 %)
 (dgm.org, o. J.a).

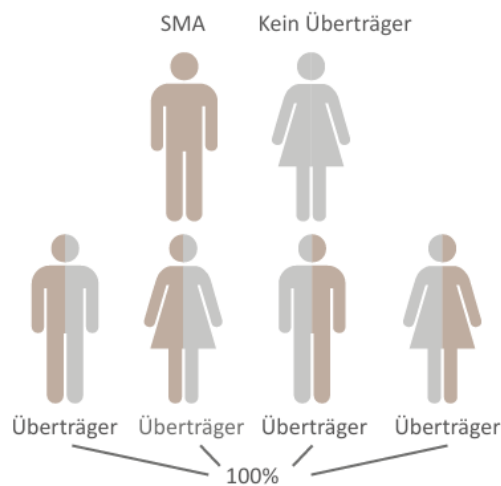
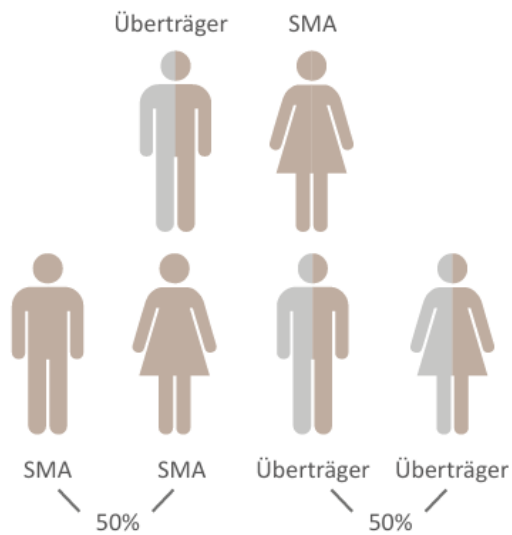
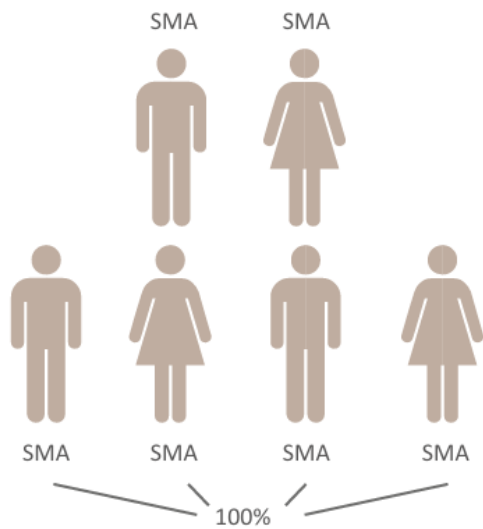


Abb. 4 Familienkonstellation 3 – ein Elternteil ist betroffen, ein Elternteil ist nicht betroffen
 (dgm.org, o. J.a)
 Anlageträger (Wahrscheinlichkeit von 100 %) (dgm.org, o. J.a).



**Abb. 5 Familienkonstellation 4 – ein Elternteil ist Anlageträger, ein Elternteil ist betroffen (dgm.org, o. J.a)
Anlageträger (Wahrscheinlichkeit von 50 %), betroffenes Kind (Wahrscheinlichkeit von 50 %) (dgm.org, o. J.a).**



**Abb. 6 Familienkonstellation 5 – beide Elternteile sind betroffen (dgm.org, o. J.a)
Betroffenes Kind (Wahrscheinlichkeit von 100 %) (dgm.org, o. J.a).**

2.2.5 Lokalisation und Struktur des humanen SMA-Locus

Die genomische Organisation des SMA-Locus auf dem Chromosom 5, sowie die daraus resultierenden Proteinmengen werden nachfolgend in den Abb. 7 und 8 dargestellt.

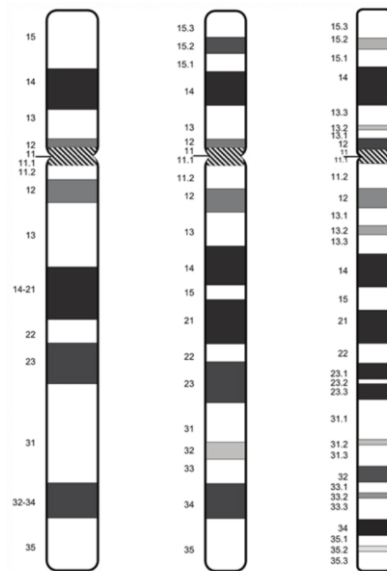


Abb. 7 Schematische Darstellung von Chromosom 5 - ISCN 2020 (McGowan-Jordan et al., 2020)

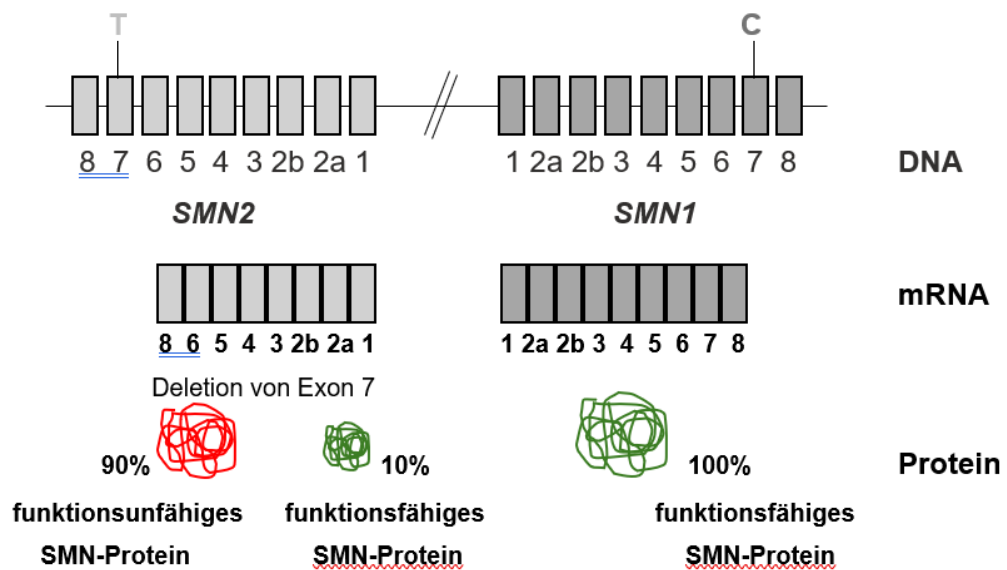


Abb. 8 Schematische Darstellung des SMA-Locus und der Proteinmengen bei gesunden Individuen (eigene Darstellung, 2024)

2.2.6 SMN-Protein

Die Degeneration von Motoneuronen im Rahmen der SMA-Erkrankung wird durch einen Mangel an SMN-Protein verursacht (Crawford et al., 2012; Lefebvre et al., 1997; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017).

Das vom *SMN*-Gen kodierte sog. survival motor neuron Protein ist ca. 38-kDa groß, besteht aus 294 Aminosäuren und ist hoch konserviert (Singh et al., 2017).

Das Protein besteht aus mehreren Domänen, darunter der N-terminalen lysinreichen Domäne (Exon 2a und 2b), einer zentralen Tudor-Domäne (Exon 3) und am C-terminalen Ende einer prolinreichen (Exons 4, 5 und 6) sowie einer YG-Domäne (Exon 6) (Abb. 9) (ebd.).

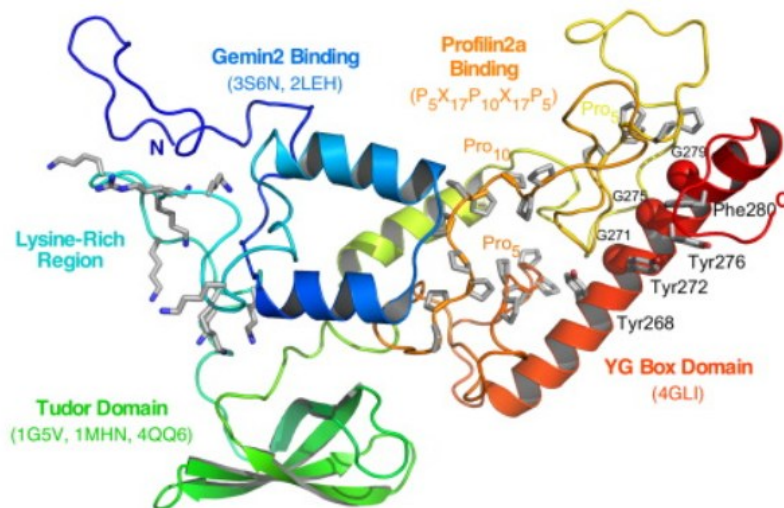


Abb. 9 Strukturmodell des SMN-Proteins (Singh et al., 2017)

Es handelt sich um ein sog. „Haushaltsgen“ und wird ubiquitär in allen somatischen Geweben im Körper exprimiert (Burr & Reddivari, 2023; Lefebvre et al., 1997; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017; Wirth, 2000; Wirth et al., 2020).

Das SMN-Protein ist sowohl im Zytoplasma als auch im Zellkern lokalisiert. Im Zellkern befindet sich das Protein in den sog. Gems (Gemini of Cajal bodies), die den Cajal bodies (CB) benachbart sind, als auch in diesen selbst (Burghes & Beattie, 2009; Carvalho et al., 1999; Giavazzi et al., 2006; Liu & Dreyfuss, 1996; Liu et al., 1997; Malatesta et al., 2004; Pellizzoni, 2007; Singh et al., 2017; Young et al., 2000).

Seitdem das SMN-Protein als direkte Ursache der 5q-SMA identifiziert wurde, wurden erhebliche Anstrengungen unternommen, um die Funktionen dieses ubiquitär exprimierten Proteins aufzudecken.

Die daraus resultierende Forschung zeigte, dass das SMN-Protein an einer Vielzahl grundlegender zellulärer Prozesse beteiligt ist (roche.at, o. J.).

Das SMN-Protein spielt eine bedeutende Rolle bei der Biogenese kleiner nukleärer Ribonukleoproteine (snRNPs) und der Zusammensetzung des Spleißosoms, einem entscheidenden Prozess für die allermeisten Gene (Fischer et al., 1997; Giavazzi et al., 2006; Liu et al., 1997; Pellizzoni et al., 1998; Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017; Singh et al., 2017; Wirth et al., 2020).

Das SMN-Protein bildet zusammen mit mehreren Gemin-Proteinen einen SMN-Komplex, dessen Chaperon-Funktion die Zusammensetzung von spleißosomalen snRNP-Partikeln erleichtert, die wesentliche Bestandteile des Spleißosomkomplexes sind, und spielt daher eine entscheidende Rolle beim Spleißen zellulärer prä-mRNA. Eine reduzierte Menge an SMN-Protein behindert in den Zellen die Fähigkeit zur Bildung von snRNPs. Dies führt zu veränderten Mengen an spleißosomalen Komponenten und folglich zu Defekten beim Spleißen (Burghes & Beattie, 2009; Lorson et al., 1998; Pellizzoni, 2007; Wan et al., 2005; Workman et al., 2012).

Mehrere Studien haben gezeigt, dass SMN auch an einer Vielzahl weiterer zellulärer Funktionen beteiligt ist, einschließlich der Transkription, dem mRNA-Transport und der Translation, der Zytoskelettdynamik, der Signaltransduktion, Endozytose, Autophagie und Apoptose, Regulierung mitochondrialer Aktivität und des Ubiquitin-Proteasom-Systems. Zudem ist es an der zellulären Homöostase, der Entwicklung, Reifung und Erhaltung neuromuskulärer Verbindungen, sowie der DNA-Reparatur und Rekombination beteiligt (Burr & Reddivari, 2023; Kölbl & Müller-Felber, 2020; Lefebvre et al., 2002; Singh et al., 2017; Strasswimmer et al., 1999; Wirth et al., 2020).

Weitere Studien deuten auf eine Funktion des SMN-Proteins beim axonalen Wachstum sowie Transport axonaler Proteine hin (Rudnik-Schöneborn & Zerres, 2017).

Die Rolle des SMN-Proteins bei der SMA-Pathogenese ist aktuell jedoch noch nicht vollständig geklärt. Für ein besseres Verständnis, v. a. in Bezug auf die spezielle Anfälligkeit der Motoneuronen, gibt es zahlreiche Bereiche, in denen noch weitere Untersuchungen erforderlich sind (Chaytow et al., 2018; Monani et al., 2000).

2.3 Diagnostik der 5q-SMA

2.3.1 Allgemeine Informationen

Durch nun verfügbare Therapien hat die Bedeutung einer frühzeitigen Diagnose der 5q-SMA in den vergangenen Jahren immer mehr zugenommen.

Ein früher Therapiebeginn und das Einhalten der „International Standards of Care for SMA“ können einen erheblichen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung haben und die Lebensqualität Betroffener wesentlich verbessern (Roche Pharma AG, 2021).

„[Die 5q-] SMA ist eine seltene [...] Erkrankung. Je nach Verlaufsform sind die Symptome zunächst nicht immer eindeutig und der Weg zur Diagnose ist häufig lang.“ (Roche Austria GmbH, 2022)

Als Basis einer jeden SMA-Diagnostik obligat anzusehen sind, sofern möglich, eine Anamnese, aktuelle Beschwerdeschilderung und klinische Untersuchung. Besteht der Verdacht auf SMA, so wird heutzutage primär eine molekulargenetische Diagnostik herangezogen (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Im folgenden Kapitel wird näher auf die molekulargenetische Diagnostik, und in diesem Rahmen auf das Neugeborenencreening eingegangen.

2.3.2 Neugeborenencreening der 5q-SMA in Österreich

2.3.2.1 Allgemeine Informationen

Das Neugeborenencreening stellt in Österreich eine Erfolgsgeschichte dar.

Es handelt sich um eine bevölkerungsmedizinische Präventionsmaßnahme, deren oberstes Ziel die frühzeitige Erkennung und dadurch mögliche Therapie von Neugeborenen mit einer schweren angeborenen, aber behandelbaren, Krankheit ist (meduniwien.ac.at, 2022; Nennstiel et al., 2019).

Sowohl die Diagnostik als auch die Behandlung der 5q-SMA haben sich seit der Entdeckung des zugrunde liegenden genetischen Defekts vor rund 30 Jahren verbessert (Eggermann et al., 2020).

Angesichts der Verfügbarkeit von Behandlungsmöglichkeiten, die am wirksamsten sind, wenn in einem präsymptomatischen Stadium begonnen wird, ist ein Neugeborenencreening unverzichtbar (Chien et al., 2017; Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Seit wenigen Jahren sind für die 5q-SMA als kausale Therapieansätze Medikamente für die *SMN2*-Genmodifikation oder den Ersatz des *SMN1*-Gens verfügbar. Da lange Zeit ausschließlich supportive Therapiemöglichkeiten zur Verfügung standen, stellen diese medikamentösen Behandlungsoptionen einen Meilenstein in der Geschichte der 5q-SMA dar.

Dies unterstützte die Einführung der Indikation in das österreichische Neugeborenencreening im Jahr 2021 (Kölbel & Müller-Felber, 2020; meduniwien.ac.at, 2022; muskelforschung.at, o. J.; Nennstiel et al., 2019).

Die Diagnostik beim Neugeborenencreening auf die 5q-SMA basiert primär auf der qPCR, wobei auf eine homozygote Deletion von Exon 7 des *SMN1*-Gens gescreent wird. Proben, welche positiv identifiziert werden, müssen mit einer weiteren unabhängigen Methode bestätigt werden.

Im Rahmen dieser Bestätigungsdiagnostik mit der Bestimmung der *SMN2*-Kopienanzahl ist eine Einschätzung des Schweregrads und Entscheidung über die Therapie möglich (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Nennstiel et al., 2019).

„Im Neugeborenencreening kann lediglich ein [weiter abzuklärender] Erkrankungsverdacht gestellt werden [...].

[...] Sowohl falsch negative als auch falsch positive Ergebnisse [sind methodenbedingt] möglich.“ (Nennstiel et al., 2019)

Da bspw. in rund 4 % der Fälle eine Compound-Heterozygotie vorliegen könnte, die aus methodischen Gründen nicht erkannt werden kann, schließt ein unauffälliger Befund beim Neugeborenencreening das Vorliegen von selteneren Sonderformen einer 5q-SMA deshalb nicht gänzlich aus (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Nennstiel et al., 2019).

2.3.2.2 Maßnahmen bei einem positiven Neugeborenencreeningbefund

Wird im Rahmen des Neugeborenencreenings eine homozygote Deletion im *SMN1*-Gen detektiert, demnach ein positiver Screeningbefund erstellt, wird der Kontakt zwischen der Familie und einer erfahrenen neuropädiatrischen Einrichtung hergestellt und die Familie über die Erkrankung und Abnahme einer Bestätigungsdiagnostik informiert. Nach Erhalt des Analyseergebnisses wird zeitnah zusammen mit der Familie das weitere Vorgehen festgelegt (Kölbel & Müller-Felber, 2020; Nennstiel et al., 2019).

Die Entscheidung, wann eine zielgerichtete Therapie eingeleitet werden soll, hängt laut Glascock et al. (2018) vom Genotyp und dem Vorhandensein von Symptomen ab.

Laut Kölbel & Müller-Felber (2020) sollten Kinder mit zwei und drei *SMN2*-Kopien möglichst rasch mit einer kausal orientierten Therapie behandelt werden.

Bei Kindern mit weniger als zwei *SMN2*-Kopien, mit bereits zum Zeitpunkt der Geburt bestehender Notwendigkeit einer Beatmung, soll im Konsens mit den Eltern in Abhängigkeit vom klinischen Zustand entschieden werden, ob eine kausal orientierte Therapie begonnen oder primär ein palliativer Weg gewählt wird (ebd.).

Die Indikation einer präsymptomatischen Therapie wird bei Kindern mit vier *SMN2*-Kopien diskutiert, wobei ein Therapiebeginn, basierend auf der Studienlage, innerhalb der ersten sechs Monate sinnvoll erscheint. Ein konservatives Vorgehen unter strikter Überwachung, mit Therapiebeginn bei Auftreten erster klinischer Hinweise auf die Erkrankung, kann diskutiert werden (ebd.).

Im Rahmen der Familienanamnese ist in diesen Fällen eine Analyse älterer, möglicherweise asymptomatischer Geschwister bzw. deren Untersuchung auf Vorliegen milder Symptomatik, in Hinblick auf eine mögliche rasche Therapieoption, anzuraten (ebd.).

2.3.3 Molekulargenetische Diagnostik

Entsprechend der Leitlinie von Kölbel & Müller-Felber (2020) ist bei klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer 5q-SMA eine molekulargenetische Diagnostik zu veranlassen.

Traditionell basiert diese auf Basis des derzeitigen Goldstandards, der Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®) (Kleinle et al., 2023).

Auch bei einem positiven Neugeborenenenscreening, bei einer positiven Familienanamnese oder im Zuge einer Carrier-Analyse wird diese durchgeführt.

2.3.3.1 Molekulargenetische Testung der *SMN1*- und *SMN2*-Kopienzahl

Laut Kölbel & Müller-Felber (2020) sollte bei Verdacht auf das Vorliegen einer 5q-SMA in einem ersten Schritt eine Bestimmung der *SMN1*- und *SMN2*-Kopienzahl (Exon 7 und 8) durchgeführt werden.

„Biallelische Mutationen im *SMN1*[-]Gen (homozygote Deletionen von Exon 7 und 8 oder nur Exon 7) oder [eine] Compound-Heterozygotie im *SMN1*[-Gen] bestätigen eine 5q-SMA.“ (ebd.)

Als Basis für die Wahl der Therapie wird i. d. R. die Anzahl der *SMN2*-Genkopien herangezogen, obgleich keine exakte prognostische Abschätzung möglich ist.

Ein bis zwei *SMN2*-Genkopien sind mit einem schweren SMA-Verlauf, vier *SMN2*-Kopien mit einem milden Verlauf assoziiert. Drei *SMN2*-Kopien sind bei allen SMA-Typen zu finden (Feldkötter et al., 2002; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Wirth et al., 2006; Wirth et al., 2020).

2.3.3.2 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®)

Die erstmals im Jahr 2002 beschriebene Methode zur Detektion von Kopienzahlveränderungen ermöglicht eine zuverlässige Bestimmung von Gendosisunterschieden, wie Deletionen und Duplikationen von Genen oder einzelnen Genabschnitten (humangenetik-regensburg.de, o. J.; Schouten et al., 2002).

Bei einer Vielzahl an Erkrankungen, so auch bei der 5q-SMA, spielen sog. Kopienzahlvariationen, bekannt als „copy number variations“ (CNVs), eine wesentliche Rolle (Fu et al., 2022).

Mithilfe der MLPA®, einer semiquantitativen Technik, kann die relative Kopienzahl von mehreren DNA-Sequenzen in einer einzelnen PCR-basierenden Multiplex-Reaktion ermittelt werden (Fu et al., 2022; MRC Holland, 2022).

Beschreibung der Methode

Nachfolgend wird die Methode der MLPA näher beschrieben. Die Informationen wurden überwiegend aus der Quelle MRC Holland (2022) entnommen.

Die MLPA-Reaktion wird im Wesentlichen in vier Schritte eingeteilt (humangenetik.uk-erlangen.de, o. J.).

Zu Beginn erfolgt die Denaturierung der aufgereinigten Proben-DNA (Template-DNA). In einem weiteren Schritt erfolgt die Hybridisierung der MLPA-Sondenpaare an die Template-DNA, gefolgt von deren Ligation und der Amplifikation der ligierten MLPA-Sonden mit der anschließenden Auftrennung der Amplifikationsprodukte durch eine Kapillarelektrophorese (MRC Holland, 2022).

Nach der anfänglichen Denaturierung der Template-DNA wird dieser eine Mischung an MLPA-Sondenpaare zugefügt.

MLPA-Sonden zielen auf eine bestimmte Genomsequenz ab und bestehen aus zwei Teilen, einem linken (LPO) sowie einem rechten Sondenoligonukleotid (RPO). Diese enthalten PCR-Primer und DNA-Hybridisierungssequenzen.

Eine zusätzliche für jede Sonde unterschiedlich lange Stuffersequenz im RPO verleiht jeder Sonde eine spezifische Länge.

Die Hybridisierungssequenzen der Sondenpaare sind so gewählt, dass sie an unmittelbar benachbarte Zielsequenzen hybridisieren, daher direkt nebeneinander zu liegen kommen und in einem folgenden Schritt von einer Ligase verknüpft werden können (ebd.).

Anschließend werden die ligierten MLPA-Sonden in einer Multiplex-PCR unter Verwendung eines einzigen universellen fluoreszenzmarkierten Primerpaares amplifiziert.

Nur ligierte MLPA-Sonden werden exponentiell amplifiziert, wodurch die Entfernung ungebundener und nicht ligierter Sonden zu vernachlässigen ist (ebd.).

In einem weiteren Schritt erfolgt die Fragmentauftrennung der Amplifikationsprodukte durch ein Kapillarelektrophoresegerät.

Die Fragmentseparation ergibt ein probenspezifisches Elektropherogramm, das Sonden-Peakmuster (ebd.).

Die Anzahl der Sonden-Ligationsprodukte ist ein Maß für die Anzahl der Zielsequenzen in der Probe.

Das Mengenverhältnis der entstandenen Sondenpaare zueinander bleibt während der PCR gleich, wird über eine Kapillarelektrophorese für jede Sonde bestimmt und kann anschließend mit den erhaltenen Werten einer mitgeführten Kontrolle mit bekanntem Genotyp computergestützt verglichen werden (ebd.).

Die durch eine Kapillarelektrophorese für jede MLPA-Sonde gemessene absolute Fluoreszenz wird von vielen Variablen beeinflusst.

Die Fluoreszenz der MLPA-Sonden kann daher nicht direkt verwendet werden und muss innerhalb einer MLPA-Reaktion vorerst normalisiert werden.

Relative SONDensignale von jeder DNA-Probe werden mit denen, die durch Referenz-DNA-Proben erhalten werden, verglichen (ebd.).

Referenz-DNA-Proben sind DNA-Proben, die von gesunden Individuen mit einer normalen Kopienzahl (für die von den Ziel- und Referenz-MLPA-Sonden erfassten Sequenzen) erhalten wurden.

Dieser Vergleich der relativen Sondenpeakhöhen ermöglicht dann die Bestimmung der relativen Kopienzahl der Zielsequenzen in einer DNA-Probe.

Die Einbeziehung von Referenzproben im gleichen Durchlauf ist daher unerlässlich. Diese stammt idealerweise aus der gleichen Primärprobe wie die PatientInnenproben. Die DNA sollte zudem mit der gleichen Isoliermethode isoliert werden (ebd.).

Die Deletion einer oder mehrerer Zielsequenzen wird als relative Abnahme der Peakhöhe sichtbar, während eine Zunahme eine Erhöhung der Kopienzahl darstellt (humangenetik.uk-erlangen.de, o. J.).

Die Methode hat sich in den vergangenen Jahren zu einer am weitesten verbreiteten Technik für die molekulare Diagnostik genetischer Erkrankungen entwickelt (Fu et al., 2022).

In der nachfolgenden Abb. 10 ist der Ablauf einer MLPA-Reaktion, in Abb. 11 die Struktur einer MLPA-Sonde schematisch dargestellt.

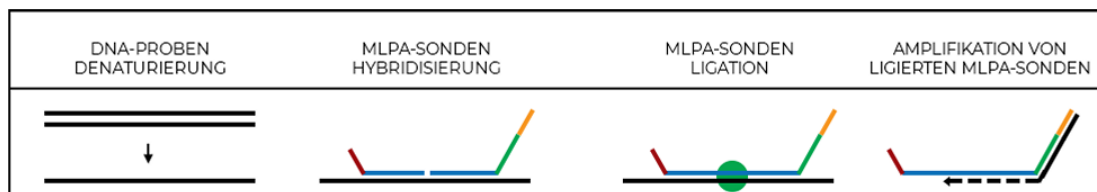


Abb. 10 MLPA-Reaktion – Übersicht (MRC Holland, 2022)

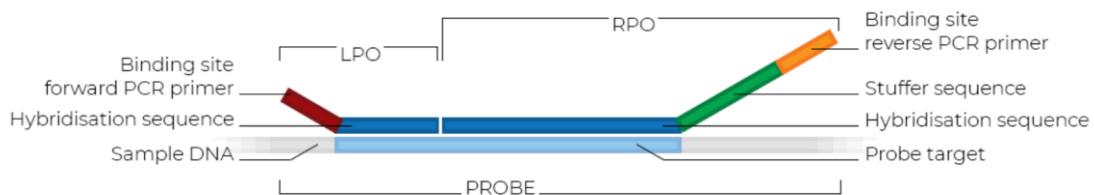


Abb. 11 Schematische Darstellung von MLPA-Sonden (mrcholland.com, o. J.)

Vorteile der Methode

Die breite Anwendung dieser Methode kann auf eine Vielzahl an Vorteilen zurückgeführt werden.

Erwähnenswert ist hierbei, dass die universelle Primersequenz die parallele Amplifikation verschiedener Sonden zulässt.

Zudem handelt es sich bei der MLPA um eine kostengünstige Hochdurchsatzanalyse, bei der eine Vielzahl an Proben gleichzeitig verarbeitet werden kann.

Zudem können Ergebnisse dieser Methode leicht interpretiert werden (Fu et al., 2022).

Zur Detektion von Gendosisveränderungen sind zahlreiche Kits kommerziell erhältlich.

Limitationen der Methode

Begrenzt wird die Aussagekraft dieser Methode vorrangig durch die verwendeten MLPA-Sondenpaare. Veränderungen außerhalb der Zielsequenzen können nicht erfasst werden (humangenetik-regensburg.de, o. J.).

Auch Sequenzveränderungen, wie kleine (Punkt-)Mutationen in den untersuchten Genen und Genabschnitten oder Abweichungen der Chromosomenstruktur, wie

bspw. kopienzahlneutrale Translokationen oder Inversionen, werden mit dieser Methodik nicht erkannt (humangenetik-regensburg.de, o. J.; MRC Holland, 2022). Sequenzänderungen, wie bspw. SNVs oder andere Polymorphismen in oder nahe einer Zielsequenz können zu falsch positiven Ergebnissen führen. Mutationen/SNVs können das Sondensignal reduzieren, indem sie die Bindung einer MLPA-Sonde an die Proben-DNA destabilisieren oder die Ligation der MLPA-Sonden verhindern (ebd.).

Zudem kann durch die MLPA-Methode nicht festgestellt werden, ob sich zwei *SMN1*-Kopien auf demselben oder auf verschiedenen Chromosomen befinden (Hassan et al., 2022).

2.3.3.3 Workflow am D&F Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz

Am D&F Institut für Humangenetik Graz wird die molekulargenetische Diagnostik der autosomal-rezessiven 5q-SMA als Bestätigung bei einem positiven Neugeborenencreening, bei allgemeinen Verdachtsfällen, bei Carrier-Analysen sowie bei positiver Familienanamnese angeboten.

Bei Therapierelevanz wird ein Zeitraum von fünf Werktagen anberaumt (D&F Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz, 2021).

Die Diagnostik umfasst die Detektion von Kopienzahlveränderungen der Gene *SMN1* und *SMN2* mittels MLPA.

Für die MLPA werden Kits der Firma MRC Holland verwendet.

Die Auswertung erfolgt mit der Coffalyser.Net Software der Firma MRC Holland (ebd.).

Tab. 1 zeigt die für die Diagnostik eingesetzten MLPA-Kits.

Kit	Einsatzbereich
SALSA Kit P021 (MRC-Holland)	- Bestätigung bei positivem Neugeborenencreening, - Diagnostik bei Verdacht auf SMA, - Anlageträgerschaft
SALSA Kit P060 (MRC-Holland)	- Anlageträgerschaft
SALSA Kit P460 (MRC-Holland)	- Anlageträgerschaft bei Verdacht auf "Silent Carrier"

Tab. 1 MRC-Holland MLPA-Kits am D&F Institut für Humangenetik Graz (eigene Darstellung, 2025)

Referenz-DNA

Aufgrund der untersuchten hochpolymorphen Genregion muss die eingesetzte Referenz-DNA eigens identifiziert werden. Hierzu wird eine unauffällige (*SMN1* 2x und *SMN2* 2x) DNA-Probe aus einem akkreditierten Befund aus Innsbruck verwendet.

Zum Identifizieren wird die "Reference Selection DNA SD082", welche in jedem SMA-MLPA-Kit mitgeliefert wird, herangezogen (ebd.).

Kontrollen

In jedem Analyselauf wird eine Positivkontrolle (bestätigte DNA mit einer homozygoten Deletion des *SMN1*-Gens), eine Negativkontrolle (bestätigte unauffällige DNA (*SMN1* 2x und *SMN2* 2x)), sowie eine NTC eingesetzt (ebd.).

Auswertung und Interpretation

Für die Interpretation der MLPA-Ergebnisse und die exakte Quantifizierung der *SMN1*- und *SMN2*-Kopienzahlen ist die genaue Kenntnis des Genotyps der Referenz-/Kontroll-DNA notwendig. Jede falsche Beurteilung führt zu einer falschen Interpretation der Ergebnisse und schadet dadurch PatientInnen und/oder Angehörigen (Eggermann et al., 2020).

Werden zwei oder mehr *SMN1*-Kopien durch MLPA nachgewiesen, ist die Diagnose 5q-SMA nahezu ausgeschlossen und Differentialdiagnosen sollten in Betracht gezogen werden (ebd.).

Wird eine homozygote Deletion der *SMN1*-Exons 7 und 8 oder nur des Exons 7 nachgewiesen, ist die Diagnose 5q-SMA bestätigt (ebd.).

Zeigen PatientInnen mit Verdacht auf 5q-SMA nur eine *SMN1*-Kopie, könnte eine pathogene SNV auf dem zweiten Allel vorhanden sein. In diesem Fall ist die Sequenzierung des *SMN1*-Gens notwendig (ebd.).

In konsanguinen Familien kann Homozygotie für eine pathogene SNV in Betracht gezogen werden und eine Sequenzierung von *SMN1* ist angezeigt (ebd.).

Zur Analyse von Differentialdiagnosen sollten Strategien wie gezielte Paneldiagnostik oder die Exomsequenzierung in enger Zusammenarbeit zwischen Klinikern und Humangenetikern in Betracht gezogen werden (ebd.).

Etwa 5 % der Allgemeinbevölkerung tragen eine homozygote Deletion von *SMN2*, ohne klinischer Relevanz (ebd.).

Das *NAIP*-Gen liegt auf Chromosom 5q13.2, etwa 60 kb vom *SMN1*-Gen entfernt. Durch die MLPA wird Exon 5 detektiert. Eine homozygote Deletion wird häufig bei SMA-PatientInnen beobachtet (D&F Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz, 2021).

Sollte das Ergebnis bspw. zum Neugeborenencreening diskrepant ausfallen, wird ein Befund erstellt und gleichzeitig eine neue Blutprobe angefordert (ebd.).

2.4 Therapieansätze der 5q-SMA

Bis zur Entdeckung der für SMA ursächlichen genetischen Veränderung Mitte der 1990er Jahre handelte es sich um eine neuromuskuläre Erkrankung, deren Ursache völlig im Dunkeln lag. Der Nachweis der genetischen Ursache setzte eine rasante Entwicklung in Gang. In dieser darauffolgenden Phase wuchs das Wissen stetig an und es wurde an ersten Therapiemöglichkeiten gearbeitet, bis im Jahr 2017 das erste Medikament in Europa vorhanden war (Roche Austria GmbH, 2022).

Bis zu diesem Zeitpunkt war keine effektive medikamentöse Behandlung möglich, sodass sich die Therapie auf supportive und palliative Maßnahmen beschränkte (hirnstiftung.org, o. J.; muskelforschung.at, o. J.; Roche Austria GmbH, 2022).

„Entsprechend schlecht fiel die Prognose bei den schweren, akut lebensbedrohlichen Formen der Krankheit aus.“ (Roche Austria GmbH, 2022)

Seit wenigen Jahren existieren verschiedene medikamentöse Therapieverfahren, weshalb sich die Behandlung der Spinalen Muskelatrophie seither aus mehreren Bausteinen zusammensetzt (facesma.de, o. J.; hirnstiftung.org, o. J.; Roche Austria GmbH, 2022).

2.4.1 Allgemeine Informationen

Das Ziel einer SMA-Behandlung ist sehr individuell. Die „International Standards of Care for SMA“ geben Orientierung für die geforderte Betreuung und unterstreichen die Notwendigkeit eines multidisziplinären Behandlungsansatzes (facesma.de, o. J.; Finkel et al., 2018; Mercuri et al., 2018a; Wang et al., 2007).

Bei schweren Verlaufsformen [...] ist das vorrangige Ziel, ein längeres Überleben bei akzeptablem Sicherheitsprofil zu ermöglichen und die motorischen Fähigkeiten, die Atmung sowie die Schluckfunktion zu verbessern.

Bei mildereren Verlaufsformen [...] ist das vorrangige Ziel, die motorischen Fähigkeiten sowie den Gesundheitszustand zu stabilisieren oder sogar zu verbessern und somit die bestehende Selbstständigkeit zu erhalten. (facesma.de, o. J.)

2.4.2 Medikamentöse Therapieansätze

Derzeit gibt es zwei verschiedene Ansätze.

Zum einen Spleißmodifikatoren und zum anderen die Gentherapie.

Beide Therapieansätze verfolgen das Ziel, die Menge an funktionsfähigem SMN-Protein im Körper zu erhöhen und somit dem SMN-Proteinmangel und dessen Auswirkungen entgegenzuwirken (Eggermann et al., 2020; facesma.de, o. J.; Mercuri et al., 2020).

Für bessere klinische Ergebnisse ist eine frühe Intervention erforderlich (Yeo et al., 2024).

Nachfolgend werden in Abb. 12 historische Meilensteine in der Geschichte der SMA überblicksmäßig schematisch dargestellt.

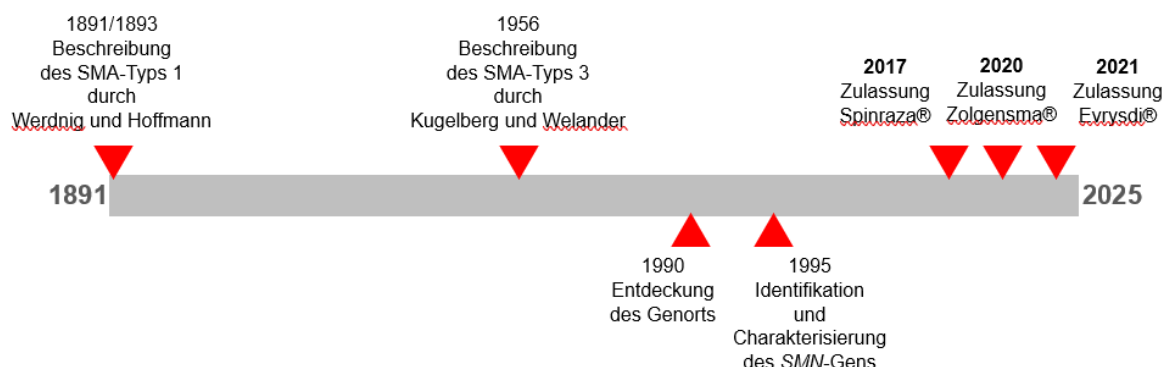


Abb. 12 Historische Meilensteine in der Geschichte der SMA (eigene Darstellung, 2025 nach Königshofer, 2018)

2.4.2.1 Spleißmodifikatoren

Diese Medikamente erhöhen durch verändertes Spleißen der prä-mRNA des *SMN2*-Gens die Menge an funktionsfähigem SMN-Protein (Aasdev et al., 2024; facesma.de, o. J.; Gowda et al., 2023; Hagenacker et al., 2020; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Mercuri et al., 2022; Nishio et al., 2023; Qiu et al., 2022; Roche Austria GmbH, 2022).

Spinraza® (Nusinersen)

Im Jahr 2017 wurde die erste medikamentöse Therapie mit dem Handelsnamen Spinraza® (Wirkstoff Nusinersen) der Firma Biogen für die Spinale Muskelatrophie in Österreich zugelassen (Eggermann et al., 2020; Hagenacker et al., 2019; Hagenacker et al., 2020; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Qiu et al., 2022).

Bei Spinraza® handelt es sich um ein Antisense-Oligonukleotid (ASO), ein synthetisches, einzelsträngiges Nukleinsäure-Oligomer, welches einen Splice-Silencer ISS-N1 im Intron 7 der *SMN2*-prä-mRNA blockiert und so den Einschluss von Exon 7 in die *SMN2*-mRNA erleichtert. Das veränderte Spleißen der prä-mRNA von *SMN2* führt dazu, dass ein höherer Spiegel an funktionsfähigem SMN-Protein erreicht wird (Aasdev et al., 2024; Eggermann et al., 2020; facesma.de, o. J.; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Gowda et al., 2023; Hagenacker et al., 2019; Hagenacker et al., 2020; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Mercuri et al., 2022; Nishio et al., 2023; Qiu et al., 2022).

Das Therapeutikum wird PatientInnen in regelmäßigen Abständen (vier Aufsättigungsdosen innerhalb der ersten zwei Monate, danach in viermonatigen Intervallen) intrathekal mittels einer Lumbalpunktion verabreicht, wobei der Erfolg der Therapie hauptsächlich durch den Zeitpunkt des Behandlungsbeginns, v. a. bei einer präsymptomatischen Behandlung bestimmt wird (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Die Datenlage für Adoleszente und Erwachsene ist, wie in diversen Studien beschrieben, limitiert (Arslan et al., 2023; De Vivo et al., 2019; Duong et al., 2021; Fainmesser et al., 2022; Finkel et al., 2017; Hagenacker et al., 2019; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Mercuri et al., 2018b; Vidovic et al., 2023; Walter et al., 2019).

Small Molecule – Risdiplam

Im Jahr 2021 wurde das erste oral einzunehmende Medikament Evrysdi® (Wirkstoff Risdiplam) für PatientInnen mit 5q-SMA zugelassen. Diese Therapie wirkt ebenfalls über den Ansatz der Spleißmodifikation und erhöht durch Modulierung des Spleißens der prä-mRNA des *SMN2*-Gens die Menge an funktionsfähigem SMN-Protein (Eggermann et al., 2020; facesma.de, o. J.; Gowda et al., 2023).

Das Medikament kann zu Hause verabreicht werden. Die Einnahme erfolgt täglich. Auf Basis der RAINBOWFISH-Studie kann das Medikament seit Mitte des Jahres 2023 direkt ab Geburt verabreicht werden (Eggermann et al., 2020; gelbe-liste.de, 2021a; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; Kölbel & Müller-Felber, 2020; muskelforschung.at, o. J.; Poirier et al., 2018).

2.4.2.2 Gentherapie

Im Jahr 2020 wurde in Österreich eine weitere Therapie zugelassen.

Bei diesem sog. gentherapeutischen Arzneimittel mit der Bezeichnung Zolgensma® (Wirkstoff Onasemnogen abeparvovec) wird eine funktionsfähige Kopie des *SMN1*-Gens mithilfe des sog. Adenovirus-assoziierten Vektors (AAV) in die Körperzellen der betroffenen PatientInnen eingeschleust, wodurch folglich ausreichend SMN-Protein hergestellt werden kann (Eggermann et al., 2020; facesma.de, o. J.; Gowda et al., 2023).

Die Verabreichung erfolgt einmalig intravenös (Eggermann et al., 2020; Novartis, 2024).

Da das Genkonstrukt laut Kölbel & Müller-Felber (2020) über den Blutstrom verteilt und in den ersten sechs Lebensmonaten die noch unreife Blut-Hirn-Schranke überwinden kann, ist ein früher Therapiebeginn induziert.

„Antikörper werden vom körpereigenen Immunsystem produziert, um es vor Erkrankungen zu schützen. Das Vorkommen [...] [sog.] AAV9-Antikörper, kann bei [...] [betroffenen PatientInnen] eine Immunreaktion auf Zolgensma® hervorrufen.“ (Novartis, 2024)

Laut Eggermann et al. (2020) ist Zolgensma® nur bei AAV9-negativen Personen bzw. bei Antikörper-Konzentrationen <1:50 wirksam.

Ähnlich den vorangehenden Therapieoptionen hängt der Erfolg der Therapie nach den bisherigen Erkenntnissen vom Zeitpunkt der Behandlung ab (Eggermann et al., 2020; Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024; gelbe-liste.de, 2021a; Kölbel & Müller-Felber, 2020; Ziegler et al., 2020).

2.4.2.3 Weitere Therapieansätze

Eine Reihe weiterer Therapieansätze, darunter weitere Studien zu den oben genannten Therapeutika, befinden sich in der Entwicklung (facesma.de, o. J.).

Auch *SMN*-unabhängige Ansätze, wie Myostatin-Inhibitoren zur Steigerung der Muskelkraft bei Personen mit SMA, werden untersucht (Prior et al., 2000).

Kombinationstherapien

Um das volle Potential einer Behandlung auszuschöpfen, kann es womöglich sinnvoll sein sog. Kombinationstherapien anzuwenden. Diese sind derzeit Teil vielversprechender Forschungsansätze.

Die Daten und Ergebnisse diesbezüglich bleiben abzuwarten (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

mRNA-Therapie

Wie in Aasdev et al. (2024) beschrieben hat der Erfolg von mRNA-Impfstoffen gegen SARS-CoV-2 das Interesse an der Verwendung von synthetischer mRNA, die das fehlende oder defekte Protein kodiert, als therapeutische Einheit gegen seltene genetische Erkrankungen neu entfacht.

Die mRNA-Therapie ist demnach eine vielversprechende Option. Es bedarf jedoch noch weiterer Analysen, um die langfristige Wirksamkeit und Sicherheit zu gewährleisten (ebd.).

2.4.2.4 Prognose

Wie in Nennstiel et al. (2019) beschrieben hat sich die Prognose für PatientInnen, v. a. bei frühzeitiger Diagnose und Beginn mittlerweile verfügbarer Therapien, stark verbessert.

Durch die genannten neuartigen Therapien treten bei behandelten Personen neue Phänotypen auf, der Einfluss auf den Langzeitverlauf lässt sich derzeit jedoch noch unzureichend beurteilen (ebd.).

2.5 Vorgehen bei molekulargenetisch gesicherter Diagnose einer 5q-SMA

Wurde die Diagnose 5q-SMA bei PatientInnen erstmals gestellt, treten viele Fragestellungen in Bezug auf das weitere Vorgehen auf.

2.5.1 PatientInnen- und Familienmanagement

SMA stellt eine komplexe Erkrankung dar. Gemäß Expertenempfehlung erfordert die optimale Behandlung von SMA-PatientInnen aufgrund der Komplexität eine umfassende, interdisziplinäre medizinische Versorgung unter Beteiligung diverser Fachrichtungen, um betroffene PatientInnen dabei zu helfen, den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen (Mercuri et al., 2018a).

Eine Anbindung an spezialisierte neuropädiatrische/neurologische Fachkliniken und entsprechende Therapie-Programme ist unabdingbar (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

Nicht zu vergessen ist, dass einer psychologischen Betreuung und emotionalen Unterstützung in der Phase der Diagnose sowie danach eine besondere Bedeutung zugeschrieben werden kann (facesma.de, o. J.).

2.5.2 Genetische Beratung

Es handelt sich um ein persönliches, nicht-direktives und streng vertrauliches Informationsgespräch für die Ratsuchenden, wobei die Aufklärung und verständliche Vermittlung medizinisch-genetischer Informationen im Vordergrund steht, sodass die Ratsuchenden in ihrer Entscheidungsfindung, u. a. für die weitere Lebens- und Familienplanung, optimal unterstützt werden (humangenetik.medunigraz.at, o. J.).

„Im Rahmen von humangenetischen Beratungen weiterer Familienangehöriger sind weitere [molekular]genetische Testungen [...] möglich.“ (Kölbel & Müller-Felber, 2020)

Im Falle des Nachweises einer biallelischen SMA-verursachenden Veränderung ist es sehr wahrscheinlich, dass beide Elternteile Anlageträger der Erkrankung sind.

Ist dies der Fall, so ist ein Geschwister mit zwei *SMN1*-Genkopien höchstwahrscheinlich nicht betroffen, ein Geschwister mit einer *SMN1*-Genkopie ein Anlageträger (Eggermann et al., 2020).

Nur in etwa 2 % der Fälle weisen Betroffene eine de novo *SMN1*-Variante auf einem Allel auf (Eggermann et al., 2020; Wirth et al., 1997).

In diesem Fall ist nur ein Elternteil Träger der Erkrankung und das Rezidivrisiko bei Geschwistern eines Betroffenen wird demnach als gering eingeschätzt.

Da die Möglichkeit besteht, dass der nicht betroffene Elternteil ein Gonadenmosaik für eine *SMN1*-Variante aufweist, sollten Geschwister dennoch als SMA-gefährdet gelten (Campbell et al., 1998).

Um im Falle eines positiven Ergebnisses frühzeitig krankheitsmodifizierende Behandlungen einleiten zu können, erscheint die Bestimmung des genetischen Status jüngerer, asymptomatischer Geschwister einer betroffenen Person sinnvoll (Prior et al., 2000).

In wenigen Fällen ergibt sich eine falsch negative Einordnung von Anlageträgern, wenn zwei *SMN1*-Kopien auf einem Chromosom liegen (Silent Carrier-Status) (Eggermann et al., 2020).

Bei etwa 1,7 % der Eltern finden sich pathogene Sequenzvarianten in *SMN1*-Gen, die nicht durch eine MLPA-Analyse, sondern nur mit einer Sequenzierung erkannt werden. Im Regelfall trägt der Indexpatient die gleiche Mutation und weist damit bereits auf diese Situation hin.

Liegt eine pathogene Sequenzvariante in *SMN1* vor, so ist bei Geschwistern mit zwei *SMN1*-Genkopien eine Sequenzierung des Gens anzuraten (ebd.).

Generell erfordert die molekulargenetische Untersuchung von Geschwistern und anderer Verwandter auf 5q-SMA die Kenntnis der Genotypen der PatientInnen und der Eltern.

Ohne diese Informationen ist die Interpretation nur eingeschränkt möglich (ebd.).

Die Nachkommen einer Person mit 5q-SMA sind obligat heterozygot (Träger) (Prior et al., 2000).

Aus reproduktiven Gründen steigt die Nachfrage bzw. der Wunsch bspw. eines 5q-SMA-Anlageträgers den Trägerstatus des Ehepartners zu kennen.

Dies steigert künftig im Rahmen einer präkonzeptionellen Beratung den Bedarf an Tests für die Allgemeinbevölkerung (Eggermann et al., 2020).

Weist der Partner mindestens zwei *SMN1*-Kopien auf, ist das Risiko eines Silent Carrier-Status und das geringe Risiko einer intragenen pathogenen *SMN1*-Variante zu berücksichtigen (Eggermann et al., 2020; Prior et al., 2000).

Im Rahmen einer genetischen Beratung kann die Sequenzierung des *SMN1*-Gens für Ehepartner mit zwei *SMN1*-Genkopien diskutiert werden (Eggermann et al., 2020).

Obwohl die aktuellen Therapieansätze sehr vielversprechend sind, kann die 5q-SMA noch nicht als vollständig behandelbare Erkrankung angesehen werden (Day et al., 2022).

Über die Langzeitwirkungen der verschiedenen Therapien liegen noch unzureichend Daten vor (Nennstiel et al., 2019).

Da die Therapien sowohl für die PatientInnen als auch ihre Familien und die behandelnden Ärzte eine Herausforderung darstellen sollte generell die Möglichkeit einer Pränataldiagnostik angeboten sowie einer Präimplantationsdiagnostik bei weiteren Schwangerschaften mit betroffenen Eltern besprochen werden (Kölbel & Müller-Felber, 2020).

3 Materialien und Methoden

Im Rahmen dieser Masterarbeit erfolgt in den nachfolgenden Kapiteln eine retrospektive Analyse des PatientInnenkollektivs der SMA-Diagnostik am D&F Institut für Humangenetik Graz.

Ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz wurde eingeholt (EK Nr: 1225/2024).

3.1 PatientInnenkollektiv

Diese retrospektive unizentrische Datenanalyse schließt alle PatientInnen ein, welche seit Beginn der SMA-Diagnostik im Jahr 2021 bis Ende Juli 2024 am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz postnatal einer molekulargenetischen SMA-Abklärung zugeführt wurden.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz (2021 – Ende Juli 2024)
- postnatale Untersuchung

Ausschlusskriterien:

- pränatale Untersuchung

3.1.2 Fallzahl

Die Fallzahl ergibt sich aus der Anzahl der PatientInnen, welche in den Jahren 2021 bis Ende Juli 2024 am D&F Institut für Humangenetik Graz einer molekulargenetischen SMA-Abklärung zugeführt wurden.

Auf eine formale Fallzahlplanung wurde verzichtet.

3.1.3 Variablen

Für die retrospektive PatientInnenkollektivanalyse wurden zahlreiche Variablen berücksichtigt.

Diese ergaben sich aus klinisch relevanten Daten sowie den Ergebnissen der molekulargenetischen SMA-Abklärung, welche für die deskriptive Analyse aus den elektronischen PatientInnenakten in tabellarischer Form zusammengeführt wurden.

In Tab. 2 sind die berücksichtigten Variablen mit den jeweiligen Ausprägungen dargestellt.

Variable	Kategorien/Einheiten
Geschlecht	weiblich, männlich
Geburtsdatum	[Tag/Monat/Jahr]
Alter	<i>in Tagen</i>
Datum der SMA-Abklärung	[Tag/Monat/Jahr]
SMN1-Genkopienzahl	0, 1, 2
SMN2-Genkopienzahl	1, 2, 3, 4, 5
Ergebnis	unauffällig, Anlageträgerschaft, auffällig

Tab. 2 Berücksichtigte Variablen bei der deskriptiven Analyse (eigene Darstellung, 2025)

3.2 Risikoevaluierung

Abgesehen von den potentiellen Risiken hinsichtlich des Datenschutzes, wurden die PatientInnen aufgrund des retrospektiven Charakters der Analyse keinen additiven Risiken ausgesetzt.

Es waren keine zusätzlichen Untersuchungen oder Interaktionen mit den PatientInnen notwendig.

3.3 Speicherung/Aufbereitung des Datenmaterials und Datenschutz

Die aus der molekulargenetischen SMA-Abklärung erhaltenen Ergebnisse und Befunde wurden am D&F Institut für Humangenetik Graz in das digitale medizinische Dokumentationssystem „Medira“ übertragen und gespeichert.

Der diagnostische Bereich des Instituts ist nach EN ISO 15189 akkreditiert.

Der Schutz der Daten und Proben vor dem Zugriff Unbefugter wird durch die Sicherheitsvorschriften des Instituts garantiert.

Die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes wurden eingehalten und sämtliche Belange des Datenschutzgesetzes berücksichtigt.

Die in der Datenbank gespeicherten Daten der genetischen Analysen wurden im Rahmen dieser Arbeit auf Vollständigkeit geprüft.

Die Daten wurden zusammengefasst und eindeutig personenidentifizierende Merkmale gemäß Datenschutzgesetz pseudonymisiert, sodass Rückschlüsse auf personenbezogene Daten nur durch die Projektverantwortlichen möglich sind.

Anschließend wurden die auszuwertenden Daten mit Hilfe des Programms Microsoft Excel digital tabellarisch erfasst, wodurch auf für diese Arbeit relevante Daten aller PatientInnen gleichzeitig zugegriffen werden konnte.

Die Speicherung erfolgte auf dafür eingerichteten Netzlaufwerken des Instituts. Diese sind durch personenbezogene Zugriffsbeschränkungen geschützt.

3.4 Statistische Auswertung des Datenmaterials

Für die Datenbearbeitung, sämtliche statistische Auswertungen und die Erstellung von Grafiken wurde das Programm Microsoft Excel verwendet.

Da die primäre Datenerhebung bereits vor der Studie stattgefunden hat, handelt es sich um eine retrospektive Analyse.

Diese erfolgt mittels deskriptiver Statistik, bei der diagnostisch erhobene Daten, welche bereits am Institut vorliegen, verwendet werden.

Deskriptive Daten wurden mittels absoluter und relativer Häufigkeit sowie arithmetischen Mittelwerts, Min., Max., ersten sowie dritten Quartils, Median und Standardabweichung dargestellt.

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse wurden Kreis-, Säulen- und Punktdiagramme sowie Boxplots erstellt.

4 Ergebnisse

4.1 Indikationen der molekulargenetischen SMA-Abklärung

Als Gründe für die molekulargenetische SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz können der Verdacht auf SMA, die Bestätigungsdiagnostik bei positivem Neugeborenenenscreening, das Carrierscreening sowie pränatale Testungen genannt werden.

Des Weiteren wurden PatientInnen vorstellig, die aufgrund positiver Familienanamnese eine Abklärung wünschten.

4.2 Anzahl an PatientInnen im analysierten Kollektiv

Im Zeitraum von 2021 (seit Beginn der SMA-Diagnostik am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz) bis Ende Juli 2024 wurden am Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz insgesamt ein/e PatientIn pränatal (aus Amnionflüssigkeit) und 77 PatientInnen postnatal einer molekulargenetischen SMA-Abklärung zugeführt.

Die in dieser Arbeit ins Kollektiv aufgenommenen PatientInnen stellen die Gesamtheit aller im genannten Betrachtungszeitraum am Institut postnatal untersuchten PatientInnen dar.

4.3 Geschlechterverteilung

Von den insgesamt 77 PatientInnen, die innerhalb eines Zeitraums von etwa drei Jahren postnatal erfasst wurden, waren 42 (54,55 %) weiblichen und 35 (45,45 %) männlichen Geschlechts (Abb. 13).

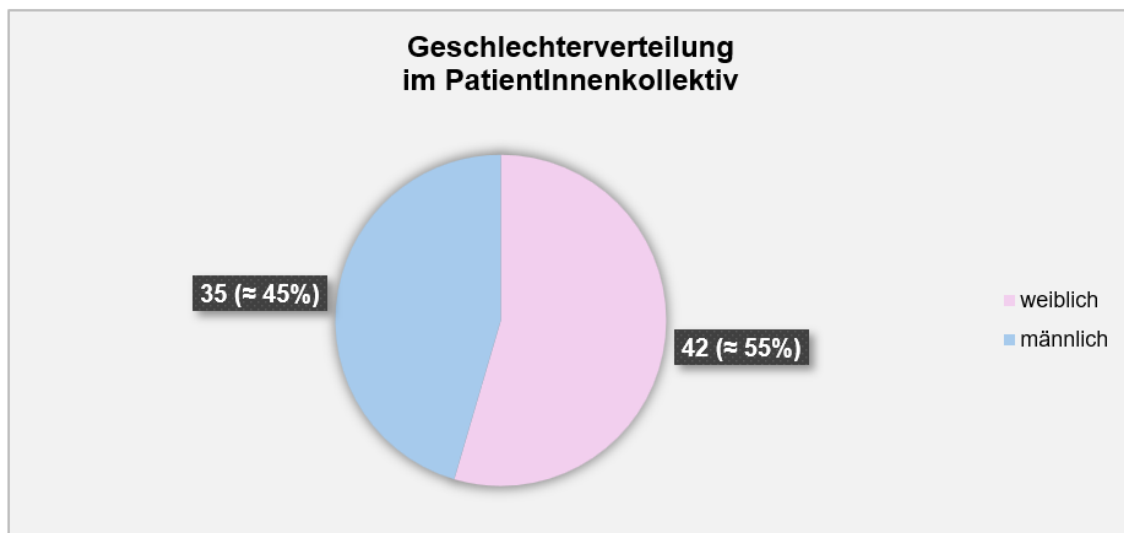


Abb. 13 Geschlechterverteilung im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung, 2025)

4.4 Altersstruktur

Das Alter der PatientInnen zum Zeitpunkt der molekulargenetischen Analyse reichte bei den Frauen von 5 bis 23696 Tagen (64,92 Jahre) (Mittelwert: 7491,57 Tage (20,52 Jahre), Median: 8311 Tage (22,77 Jahre), Standardabweichung: 6852,15 Tage (18,77 Jahre)) und bei den Männern von 12 bis 24689 Tagen (67,64 Jahre) (Mittelwert: 9013,17 Tage (24,69 Jahre), Median: 10228 Tage (28,02 Jahre), Standardabweichung: 7390,47 Tage (20,25 Jahre)).

Die das Alter im PatientInnenkollektiv betreffenden statistischen Kennzahlen sind nachfolgend dargestellt (Tab. 3 und Abb. 14).

	PatientInnenkollektiv - Alter [d]	
	weiblich	männlich
Min	5	12
Q1	190,5	519
Median	8311	10228
Q3	11687,5	14252,5
Max	23696	24689
Mittelwert	7491,57	9013,17
Standardabweichung	6852,15	7390,47

Tab. 3 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv gesamt – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

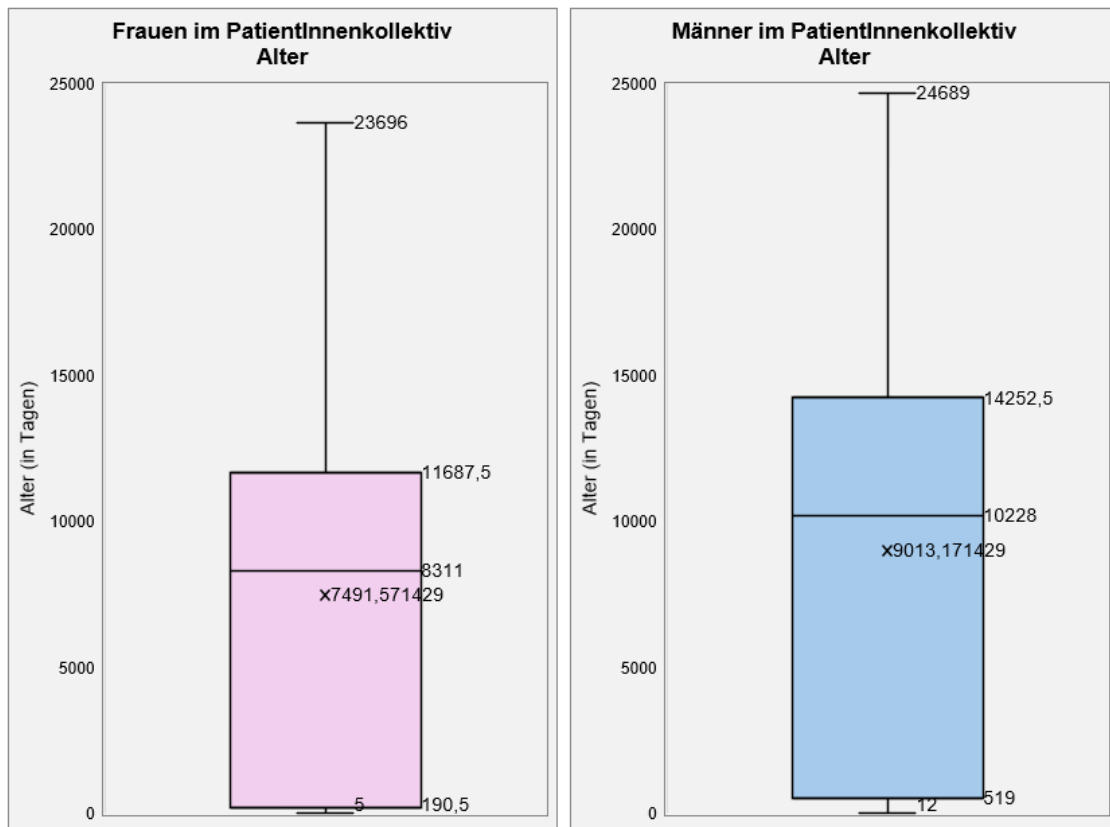


Abb. 14 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv gesamt – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

4.5 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung

Unter den untersuchten PatientInnen ergaben sich 33 (42,86 %) unauffällige [15 (45,45 %) weiblich, 18 (54,55 %) männlich], 28 (36,36 %) Anlageträgerschaften [15 (53,57 %) weiblich, 13 (46,43 %) männlich] sowie 16 (20,78 %) auffällige Ergebnisse [12 (75 %) weiblich, 4 (25 %) männlich] (Abb. 15 und Abb. 16).

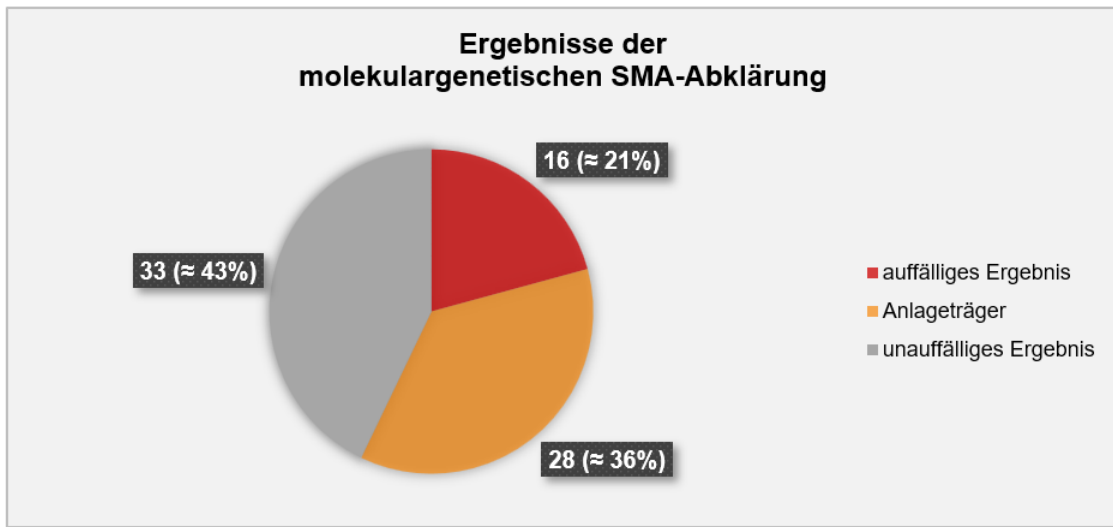


Abb. 15 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz (eigene Darstellung, 2025)

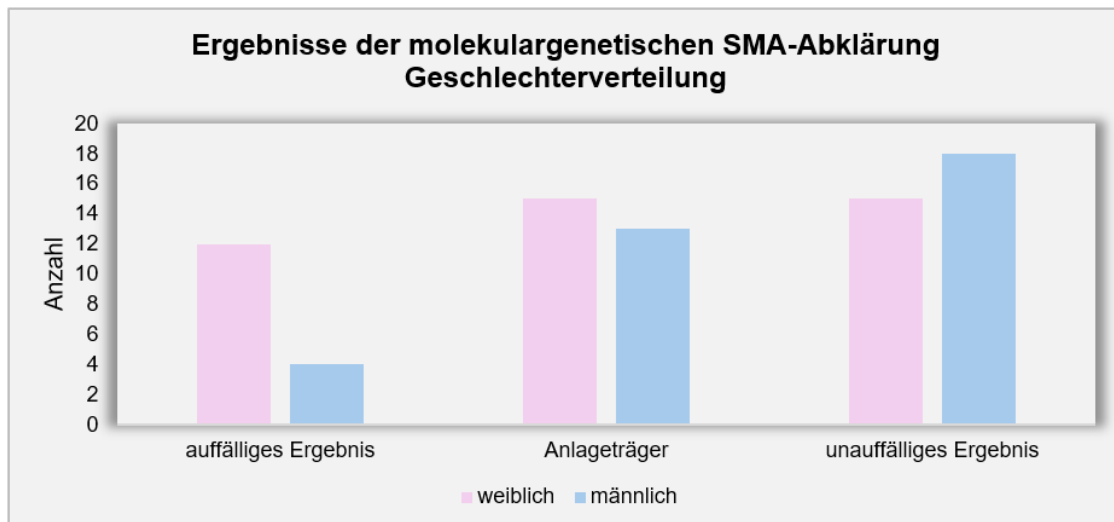


Abb. 16 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

Die das Alter im PatientInnenkollektiv betreffenden statistischen Kennzahlen, unterteilt in auffällige Ergebnisse, Anlageträger und unauffällige Ergebnisse, sind nachfolgend dargestellt (Tab. 4/5/6 und Abb. 17/18/19).

PatientInnenkollektiv auffällige Ergebnisse - Alter [d]		
	weiblich	männlich
Min	7	12
Q1	13	12,75
Median	15	559,5
Q3	2501,25	5076,75
Max	23696	16989
Mittelwert	3700,75	4530
Standardabweichung	7111,49	7207,05

Tab. 4 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv auffällige Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

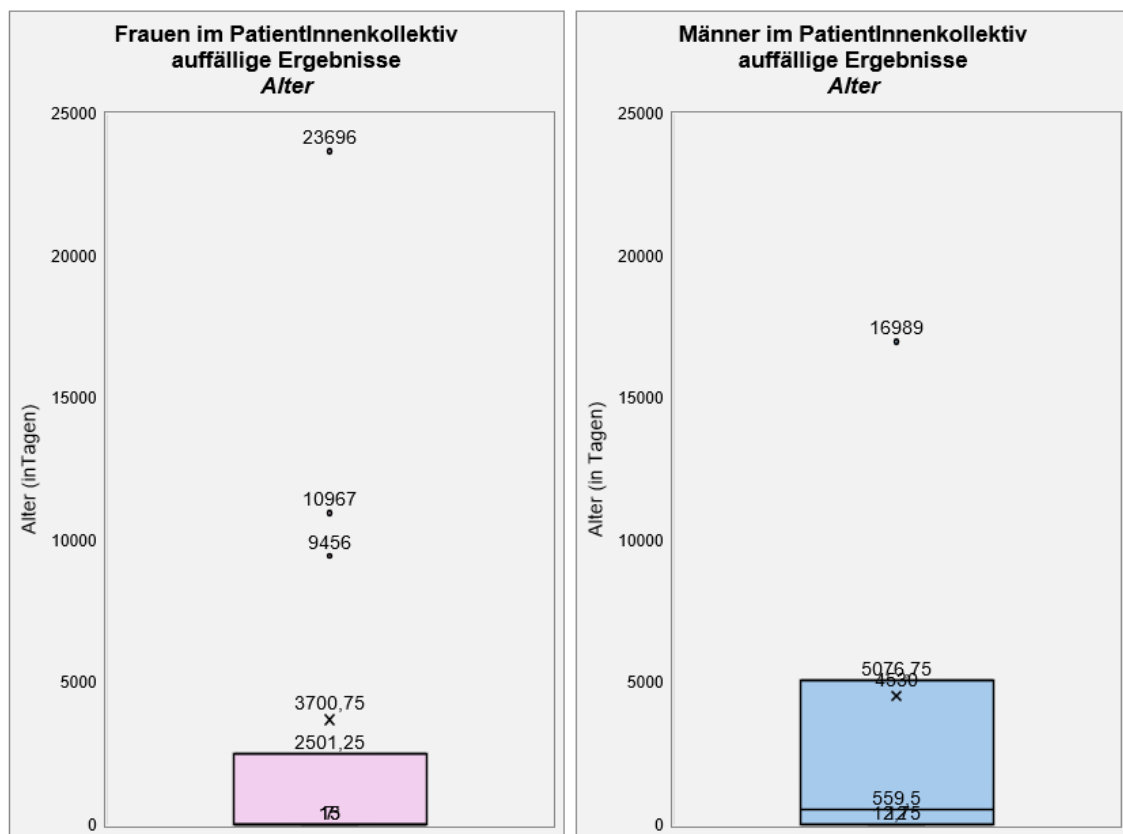


Abb. 17 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv auffällige Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

PatientInnenkollektiv Anlageträger - Alter [d]		
	weiblich	männlich
Min	5	15
Q1	6299	9526
Median	11098	11016
Q3	14170,5	13977
Max	21880	15329
Mittelwert	9711,93	9557,31
Standardabweichung	5939,21	5384,8

Tab. 5 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv Anlageträger – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

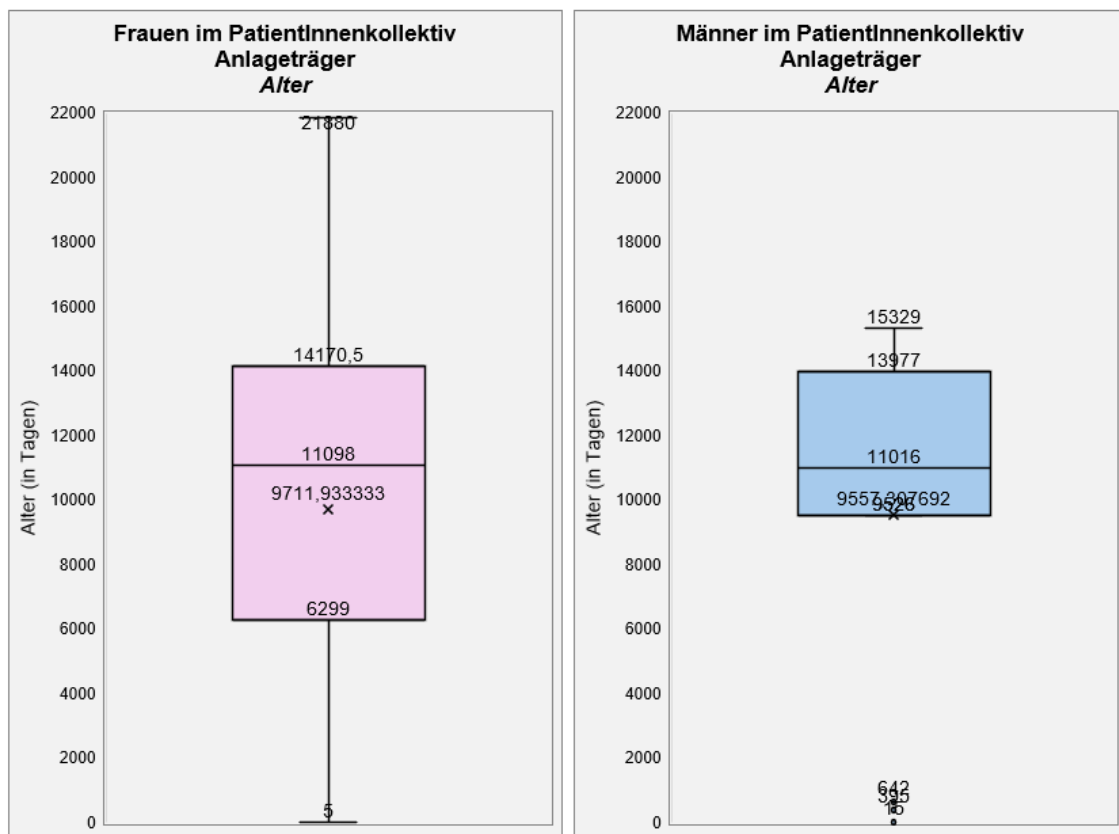


Abb. 18 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv Anlageträger – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

PatientInnenkollektiv unauffällige Ergebnisse - Alter [d]		
	weiblich	männlich
Min	188	126
Q1	1524,5	689,75
Median	9772	9604
Q3	11914,5	14926
Max	18349	24689
Mittelwert	8303,87	9616,44
Standardabweichung	6216,62	8287,06

Tab. 6 Darstellung der Daten (Alter [d]) – PatientInnenkollektiv unauffällige Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

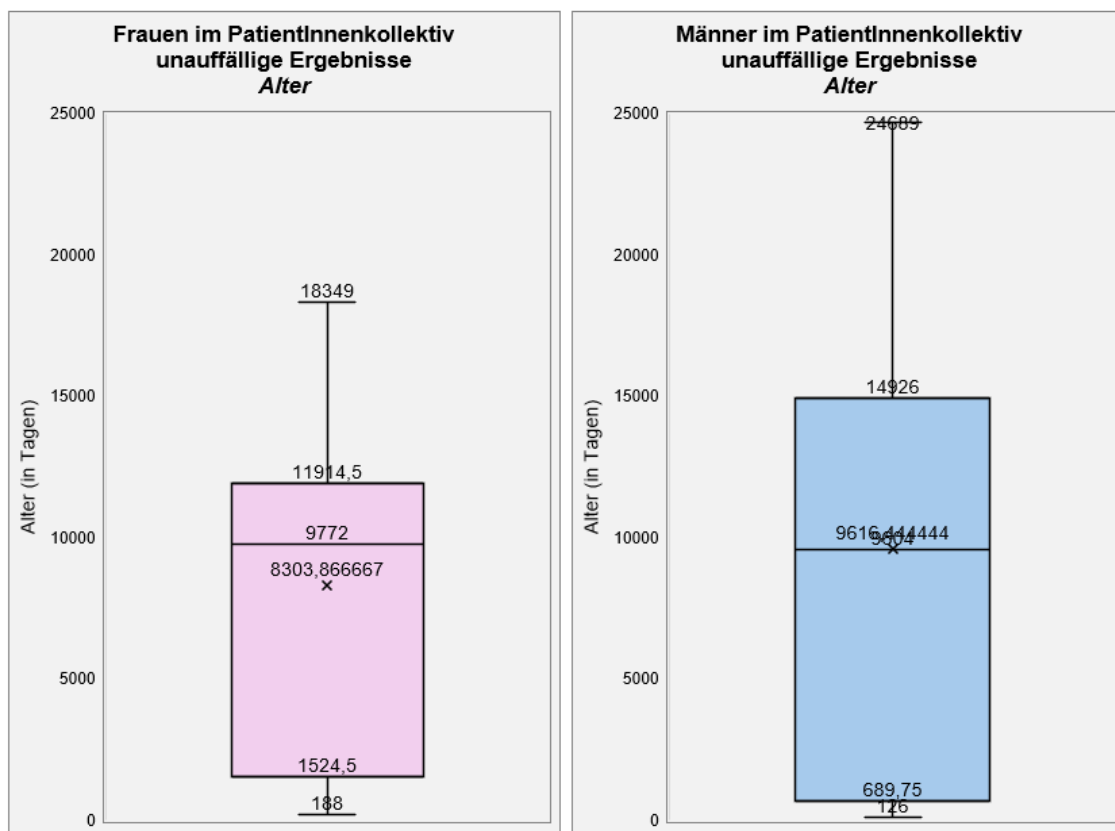


Abb. 19 Box-Plot (Alter [d]) im PatientInnenkollektiv unauffällige Ergebnisse – Frauen und Männer (eigene Darstellung, 2025)

4.6 SMA-Typen

Auffällige Ergebnisse werden anhand nachfolgend dargestellter Tab. 7 in verschiedene Typen unterteilt.

Klinischer Phänotyp	Genotyp			
	SMN1-Kopienzahl: 0 in Kombination mit SMN2-Kopienzahl:			
	1	2	3	≥ 4
SMA Typ I	96%	79%	15%	1%
SMA Typ II	4%	16%	54%	11%
SMA Typ III / IV	0%	5%	31%	88%

Tab. 7 Genotyp-Phänotyp-Korrelation (nach Prior et al., 2000)

Anhand der oben aufgeführten Tab. 7 konnten unter den auffälligen Ergebnissen 4 (25 %) einer SMA Typ I [3 (75 %) weiblich, 1 (25 %) männlich], 6 (37,5 %) einer SMA Typ II [4 (66,67 %) weiblich, 2 (33,33 %) männlich] sowie 6 (37,5 %) einer SMA Typ III / IV [5 (83,33 %) weiblich, 1 (16,67 %) männlich] zugeordnet werden (Abb. 20 und Abb. 21).

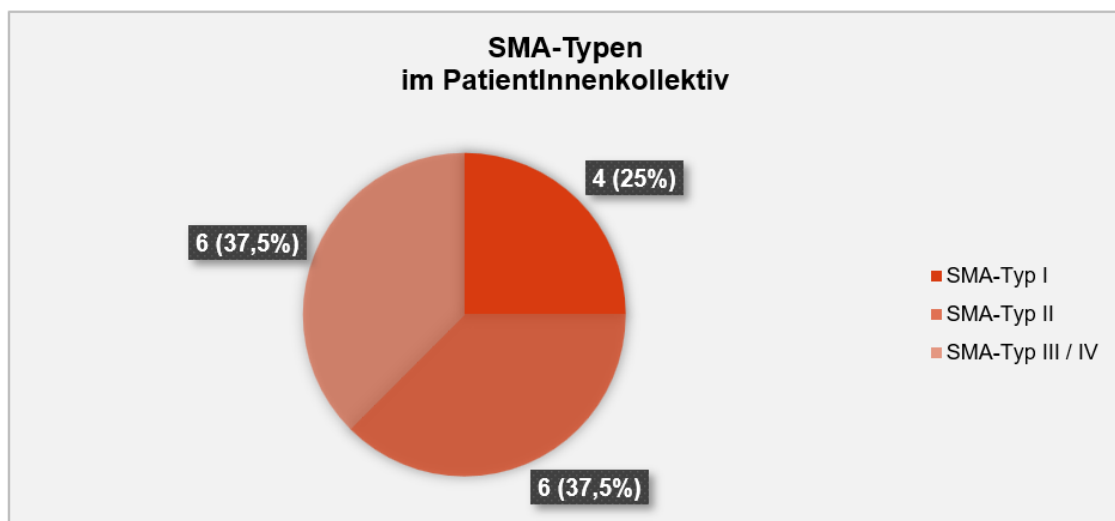


Abb. 20 SMA-Typen im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung, 2025)

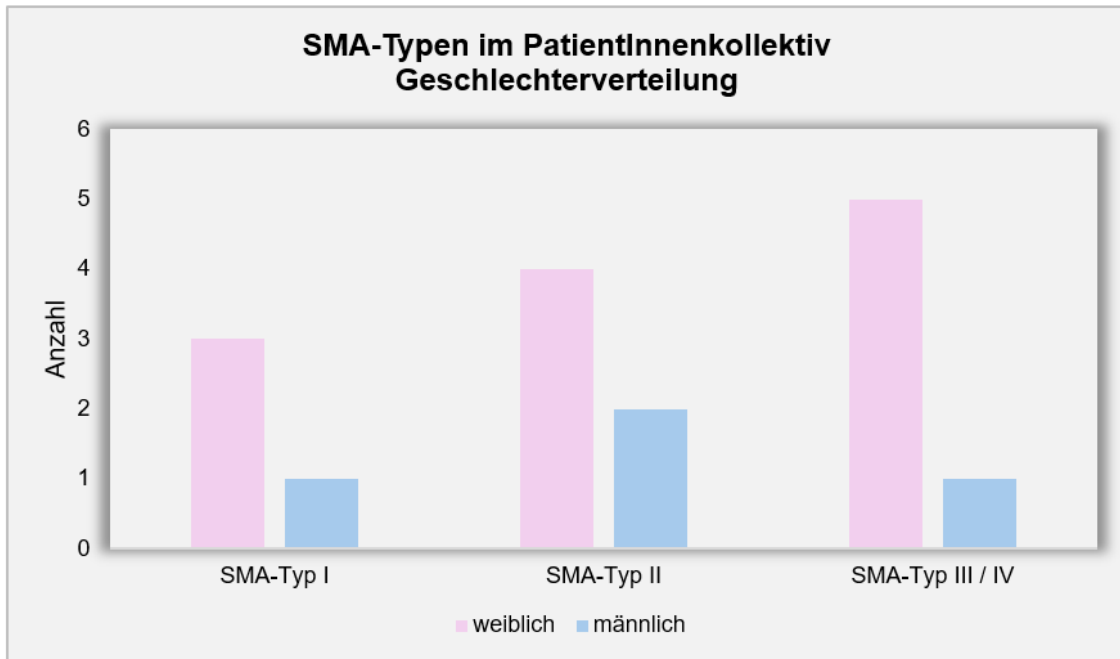


Abb. 21 SMA-Typen im PatientInnenkollektiv – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

Die das Alter im PatientInnenkollektiv betreffenden statistischen Kennzahlen, unterteilt in die jeweiligen SMA-Typen, sind nachfolgend grafisch dargestellt (Abb. 22).

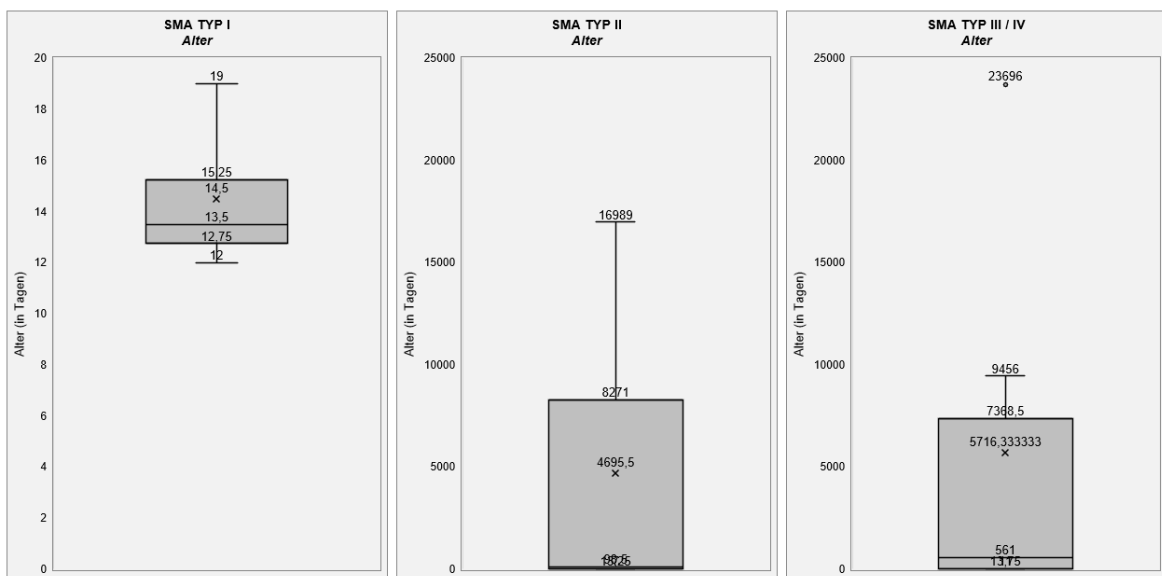


Abb. 22 Box-Plot (Alter [d]) Darstellung nach SMA-Typ (eigene Darstellung, 2025)

4.7 Anzahl der SMN1- und SMN2-Genkopien

4.7.1 Anzahl der SMN1- und SMN2-Genkopien im gesamten PatientInnenkollektiv

In den nachfolgenden Abbildungen werden die SMN1- und SMN2-Genkopien-Kombinationen im gesamten PatientInnenkollektiv (Abb. 23), sowie unterteilt in auffällige Ergebnisse (Abb. 24), Anlageträger (Abb. 26) und unauffällige Ergebnisse (Abb. 28), grafisch veranschaulicht.

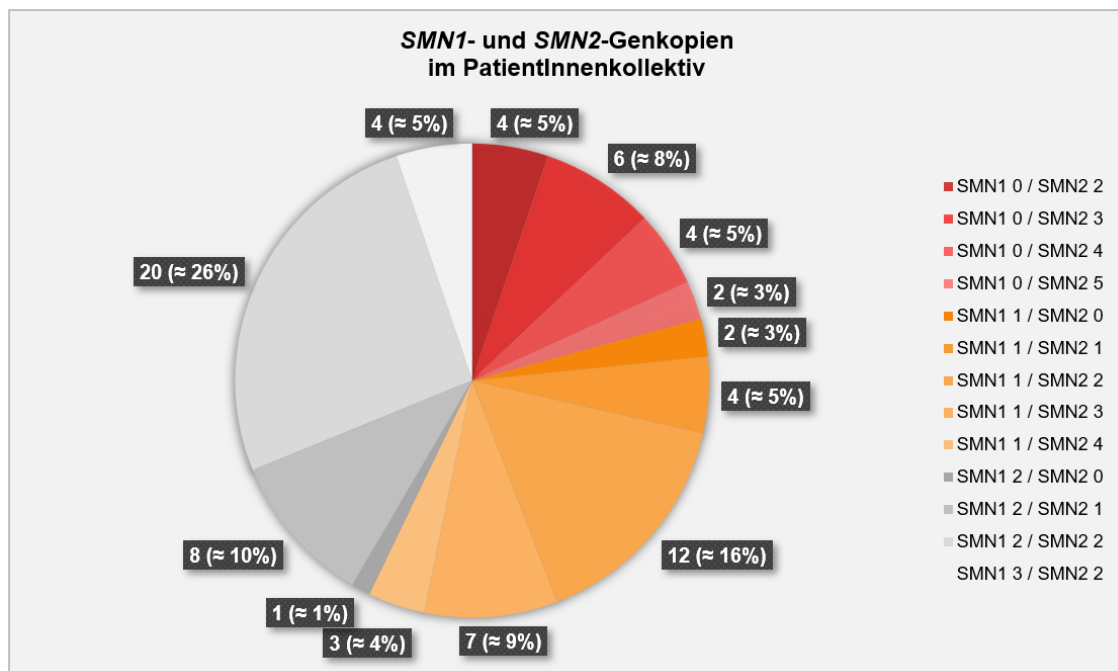


Abb. 23 SMN1- und SMN2-Genkopien im PatientInnenkollektiv (eigene Darstellung, 2025)

4.7.2 Anzahl der *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv auffällige Ergebnisse

Unter den 16 auffälligen Ergebnissen wiesen 4 (25 %) 0 *SMN1*- & 2 *SMN2*-Genkopien [3 (75 %) weiblich, 1 (25 %) männlich], 6 (37,5 %) 0 *SMN1*- & 3 *SMN2*-Genkopien [4 (66,67 %) weiblich, 2 (33,33 %) männlich], 4 (25 %) 0 *SMN1*- & 4 *SMN2*-Genkopien [3 (75 %) weiblich, 1 (25 %) männlich] sowie 2 (12,5 %) 0 *SMN1*- & 5 *SMN2*-Genkopien [2 (100 %) weiblich] auf (Abb. 24 und Abb. 25).

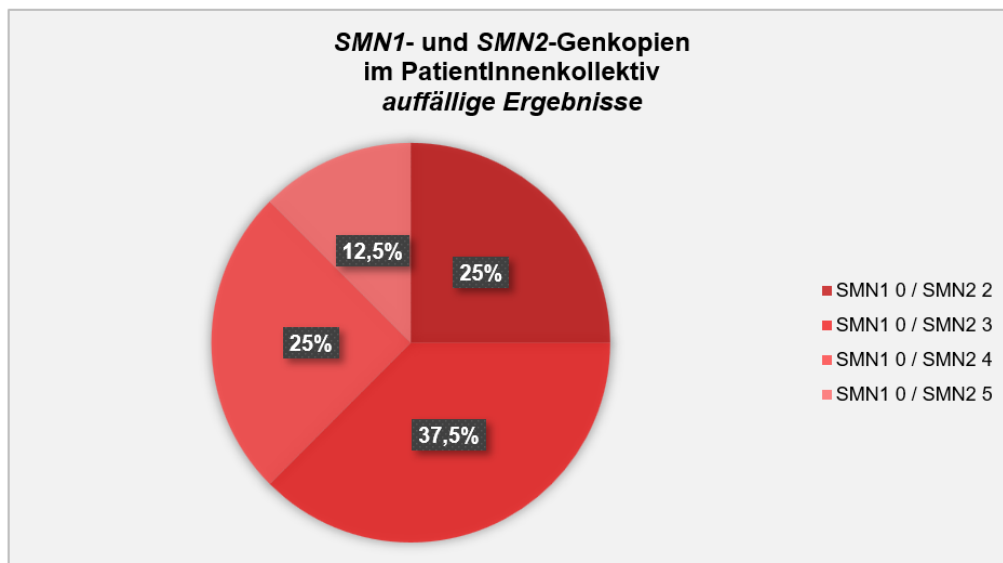


Abb. 24 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – auffällige Ergebnisse (eigene Darstellung, 2025)

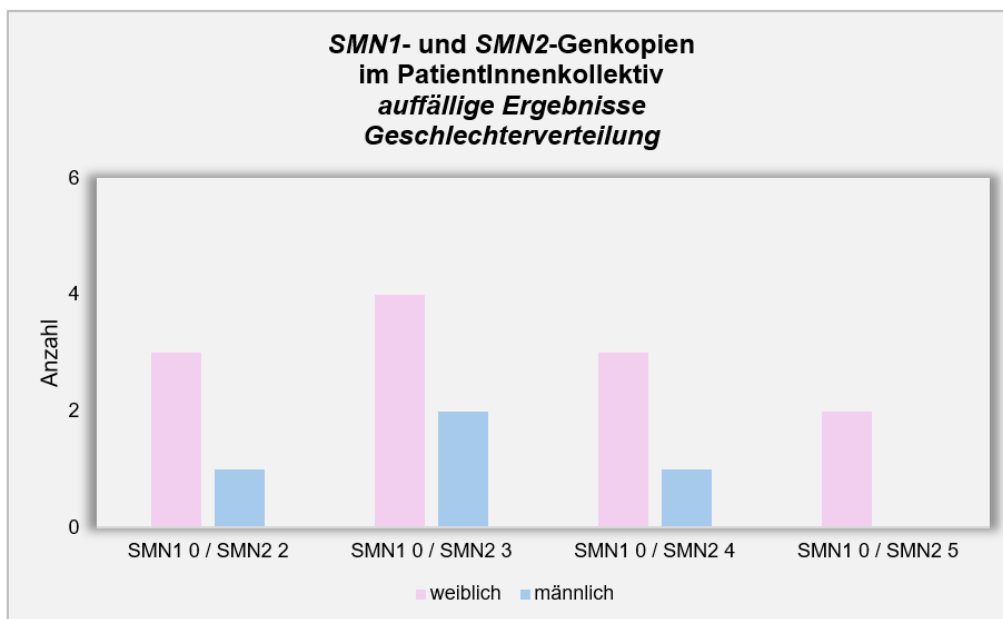


Abb. 25 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – auffällige Ergebnisse – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

4.7.3 Anzahl der *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv Anlageträger

Unter den 28 Anlageträgern wiesen 2 (7,14 %) 1 *SMN1*- & 0 *SMN2*-Genkopien [1 (50 %) weiblich, 1 (50 %) männlich], 4 (14,29 %) 1 *SMN1*- & 1 *SMN2*-Genkopien [1 (25 %) weiblich, 3 (75 %) männlich], 12 (42,86 %) 1 *SMN1*- & 2 *SMN2*-Genkopien [6 (50 %) weiblich, 6 (50 %) männlich], 7 (25 %) 1 *SMN1*- & 3 *SMN2*-Genkopien [4 (57,14 %) weiblich, 3 (42,86 %) männlich] sowie 3 (10,71 %) 1 *SMN1*- & 4 *SMN2*-Genkopien [3 (100 %) weiblich] auf (Abb. 26 und Abb. 27).

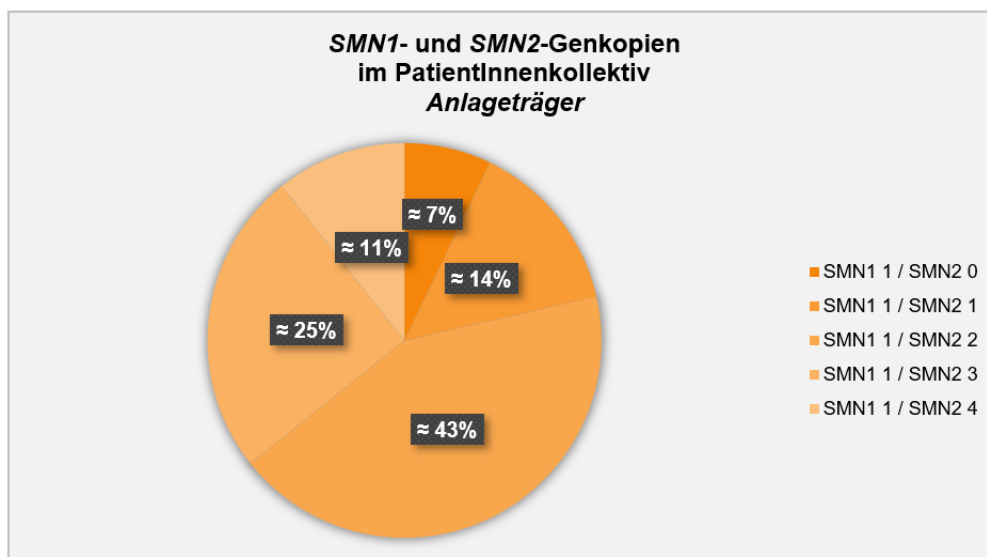


Abb. 26 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – Anlageträger (eigene Darstellung, 2025)

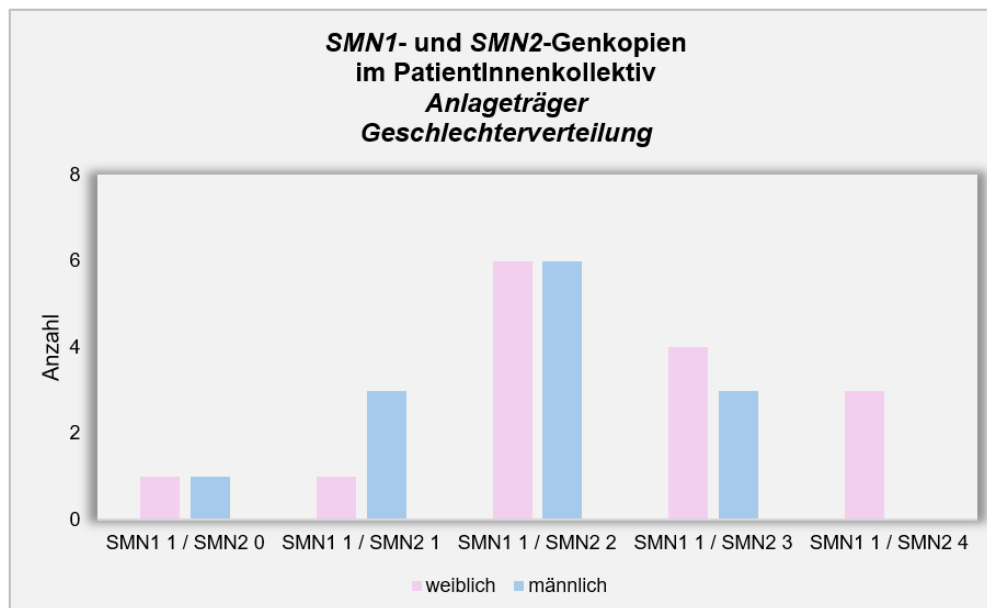


Abb. 27 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – Anlageträger – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

4.7.4 Anzahl der *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv unauffällige Ergebnisse

Unter den 33 unauffälligen Ergebnissen wiesen 1 (3,03 %) 2 *SMN1*- & 0 *SMN2*-Genkopien [1 (100 %) männlich], 8 (24,24 %) 2 *SMN1*- & 1 *SMN2*-Genkopien [3 (37,5 %) weiblich, 5 (62,5 %) männlich], 20 (60,61 %) 2 *SMN1*- & 2 *SMN2*-Genkopien [9 (45 %) weiblich, 11 (55 %) männlich] sowie 4 (12,12 %) 3 *SMN1*- & 2 *SMN2*-Genkopien [3 (75 %) weiblich, 1 (25 %) männlich] auf (Abb. 28 und Abb. 29).

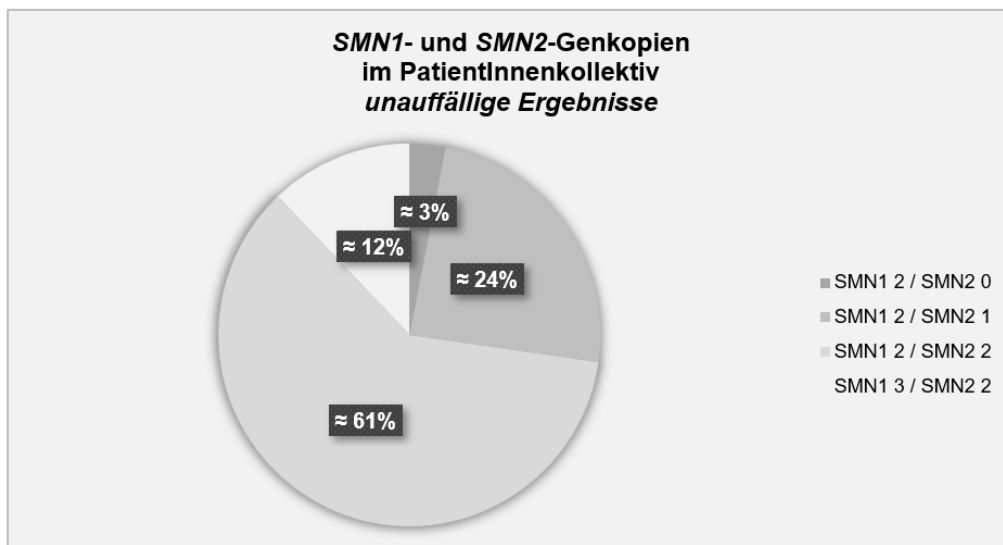


Abb. 28 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – unauffällige Ergebnisse (eigene Darstellung, 2025)

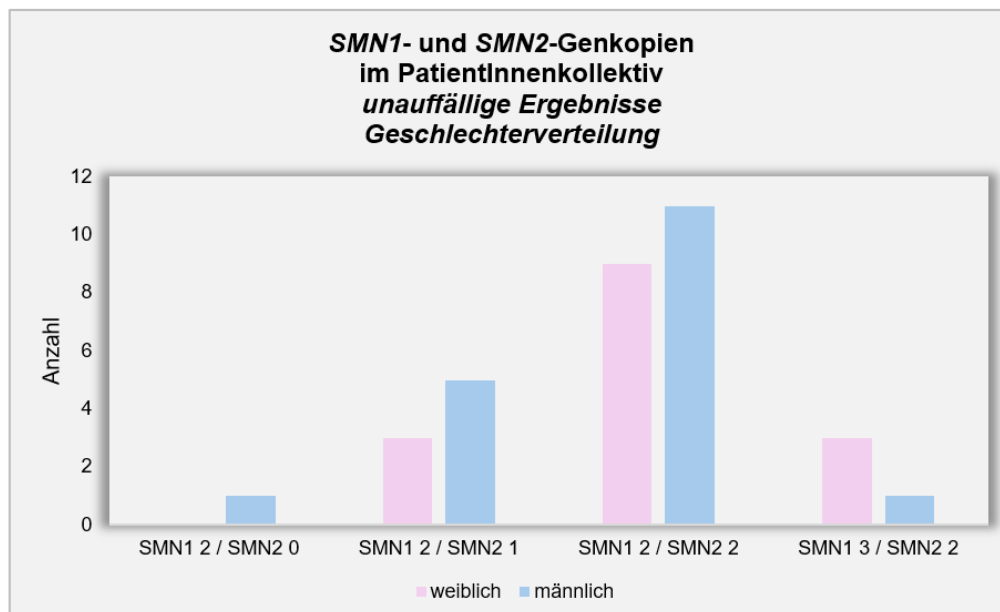


Abb. 29 *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien im PatientInnenkollektiv – unauffällige Ergebnisse – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

4.8 Alter und SMN2-Genkopien

Das Verhältnis des Alters der PatientInnen zum Zeitpunkt der molekulargenetischen SMA-Abklärung und der SMN2-Genkopienzahl im gesamten PatientInnenkollektiv ist nachfolgend grafisch dargestellt (Abb. 30).

Rot-markierte Punkte stellen hierbei auffällige Ergebnisse, gelb-markierte Punkte Anlageträger, und grau-markierte Punkte unauffällige Ergebnisse dar.

In der Legende findet sich die Zuordnung zur genauen SMN1- und SMN2-Genkopien-Kombination.

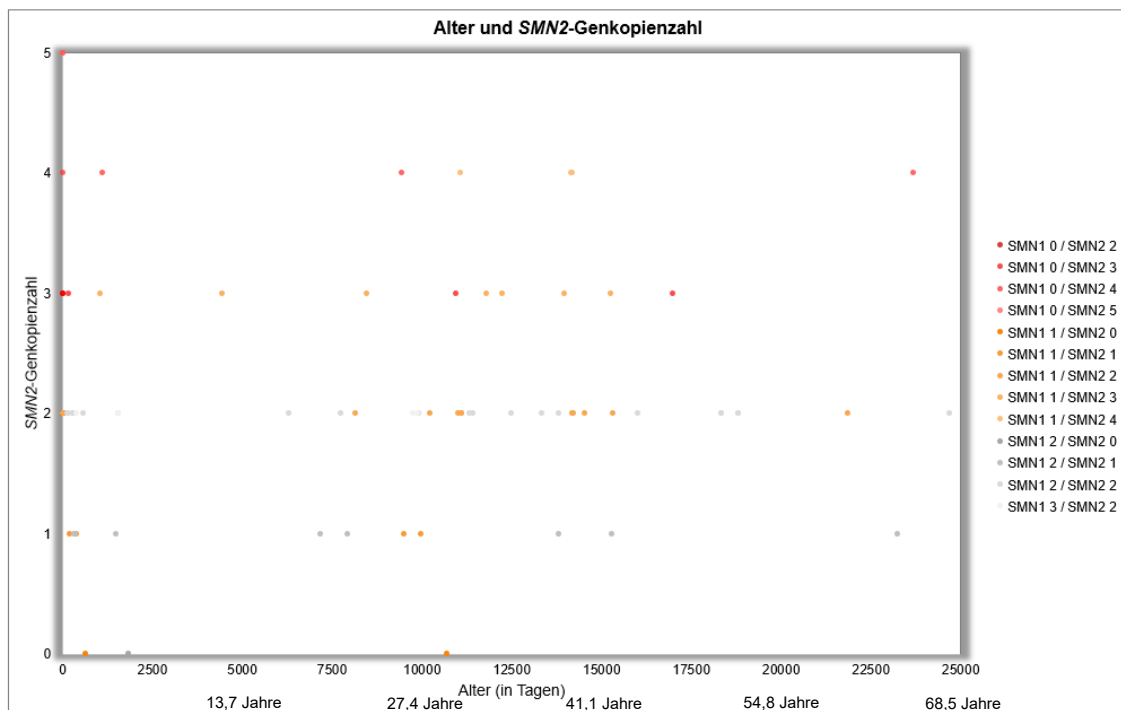


Abb. 30 Punktdiagramm – Alter [d] und SMN2-Genkopienzahl (eigene Darstellung, 2025)

4.9 Gesonderte Betrachtung der PatientInnen mit positivem Neugeborenencreeningbefund

Nachfolgend werden die PatientInnen, die aufgrund eines positiven Neugeborenencreeningbefundes am D&F Institut für Humangenetik Graz postnatal erfasst wurden gesondert vom restlichen Kollektiv betrachtet.

4.9.1 Geschlechterverteilung

Von den insgesamt 9 PatientInnen, waren 6 (67 %) weiblich und 3 (33 %) männlich (Abb. 31).

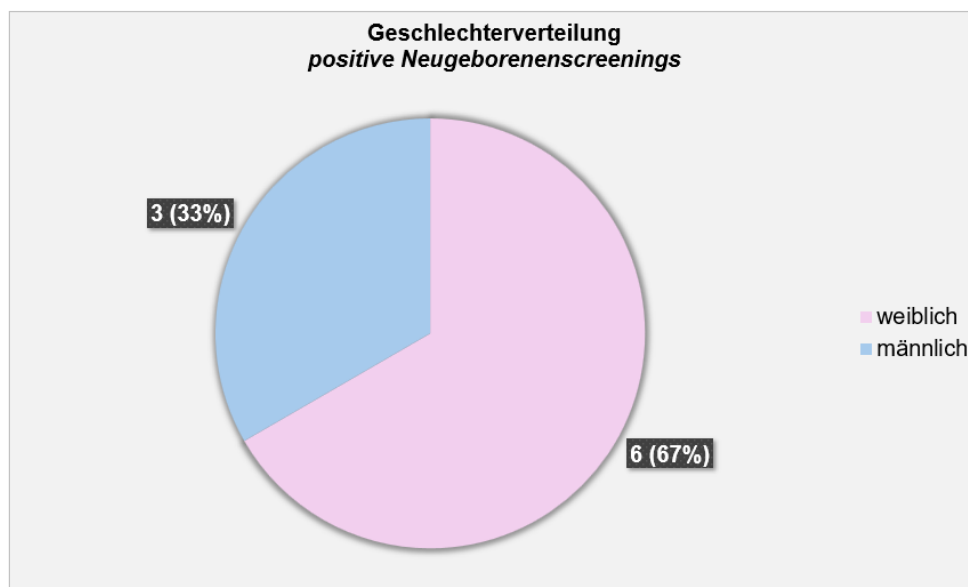


Abb. 31 Geschlechterverteilung – positive Neugeborenencreenings (eigene Darstellung, 2025)

4.9.2 Altersstruktur

Das Alter der PatientInnen zum Zeitpunkt der molekulargenetischen Analyse reichte bei den weiblichen Personen von 12 bis 16 Tagen (Mittelwert: 13,67 Tage, Median: 13,5 Tage, Standardabweichung: 1,25 Tage) und bei den männlichen Personen von 12 bis 15 Tagen (Mittelwert: 13,33 Tage, Median: 13 Tage, Standardabweichung: 1,25 Tage).

Die das Alter im PatientInnenkollektiv betreffenden statistischen Kennzahlen sind nachfolgend dargestellt (Tab. 8 und Abb. 32).

	positive Neugeborenen screenings - Alter [d]	
	weiblich	männlich
Min	12	12
Q1	13	12,5
Median	13,5	13
Q3	14	14
Max	16	15
Mittelwert	13,67	13,33
Standardabweichung	1,25	1,25

Tab. 8 Darstellung der Daten (Alter [d]) – positive Neugeborenen screenings – weibliche und männliche Personen (eigene Darstellung, 2025)

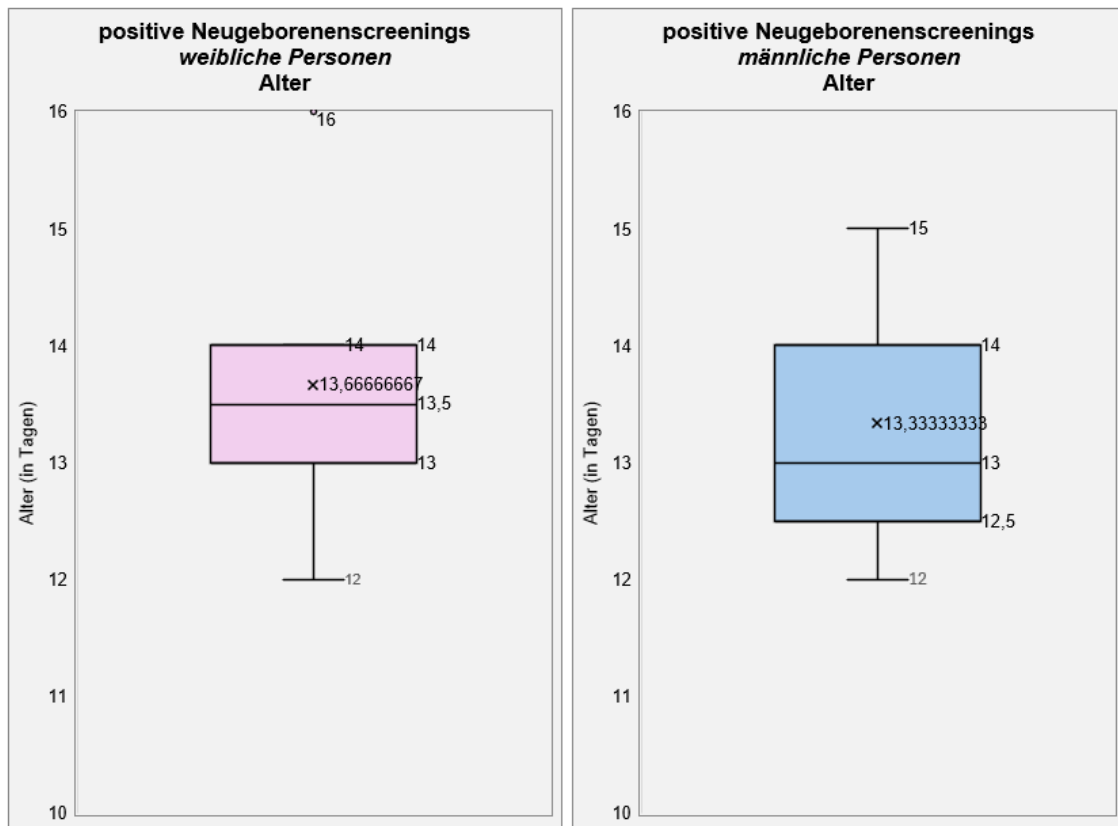


Abb. 32 Box-Plot (Alter [d]) positive Neugeborenen screenings – weibliche und männliche Personen (eigene Darstellung, 2025)

4.9.3 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung

Unter den untersuchten PatientInnen ergaben sich 1 (11 %) Anlageträgerschaft [1 (100 %) männlich] sowie 8 (89 %) auffällige Ergebnisse [6 (75 %) weiblich, 2 (25 %) männlich] (Abb. 33 und Abb. 34).

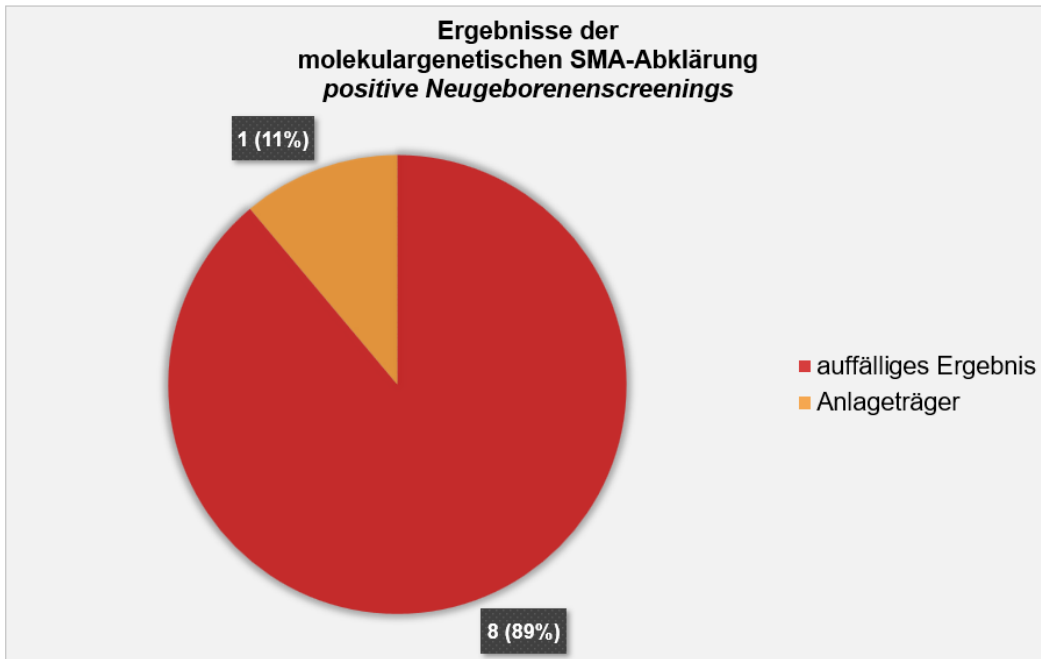


Abb. 33 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – positive Neugeborenen screenings (eigene Darstellung, 2025)

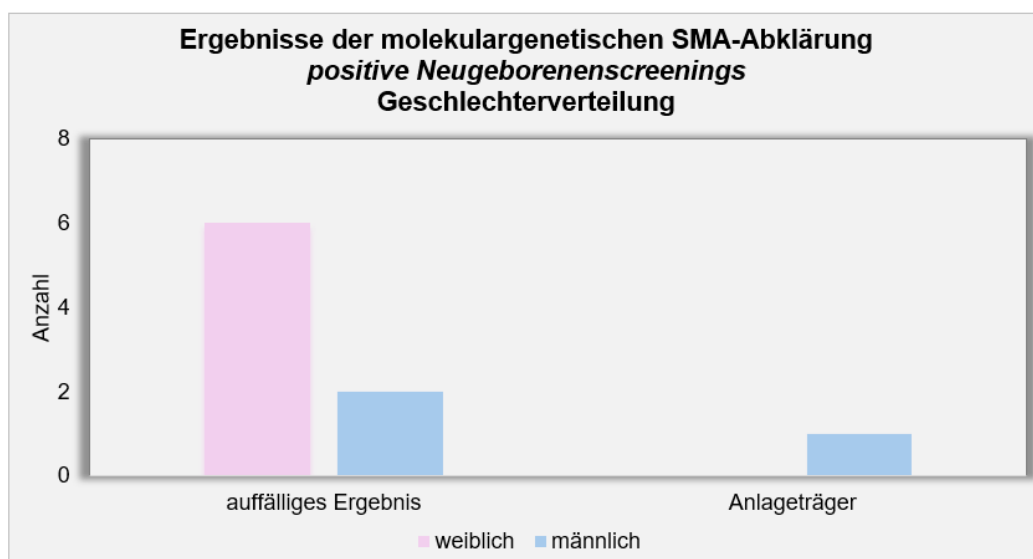


Abb. 34 Ergebnisse der molekulargenetischen SMA-Abklärung am D&F Institut für Humangenetik Graz – positive Neugeborenen screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

4.9.4 SMA-Typen

Anhand Tab. 7 konnten unter den 8 auffälligen Ergebnissen 3 (37,5 %) einer SMA Typ I [2 (66,67 %) weiblich, 1 (33,33 %) männlich], 2 (25 %) einer SMA Typ II [1 (50 %) weiblich, 1 (50 %) männlich] sowie 3 (37,5 %) einer SMA Typ III / IV [3 (100 %) weiblich] zugeordnet werden (Abb. 35 und Abb. 36).

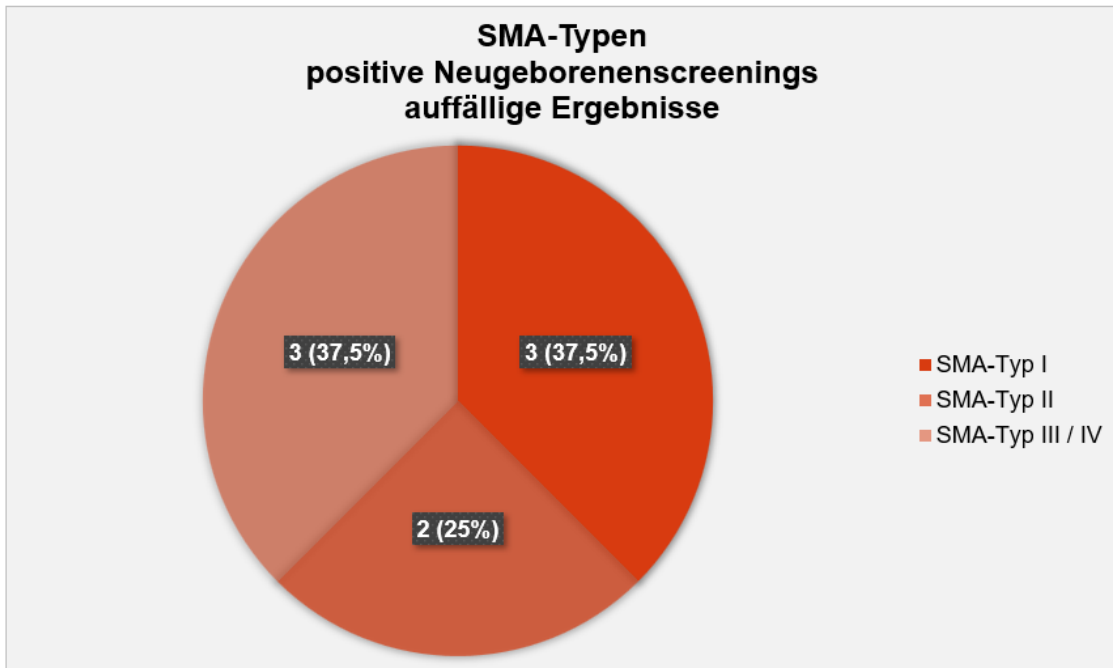


Abb. 35 SMA-Typen – positive Neugeborenen Screenings (eigene Darstellung, 2025)

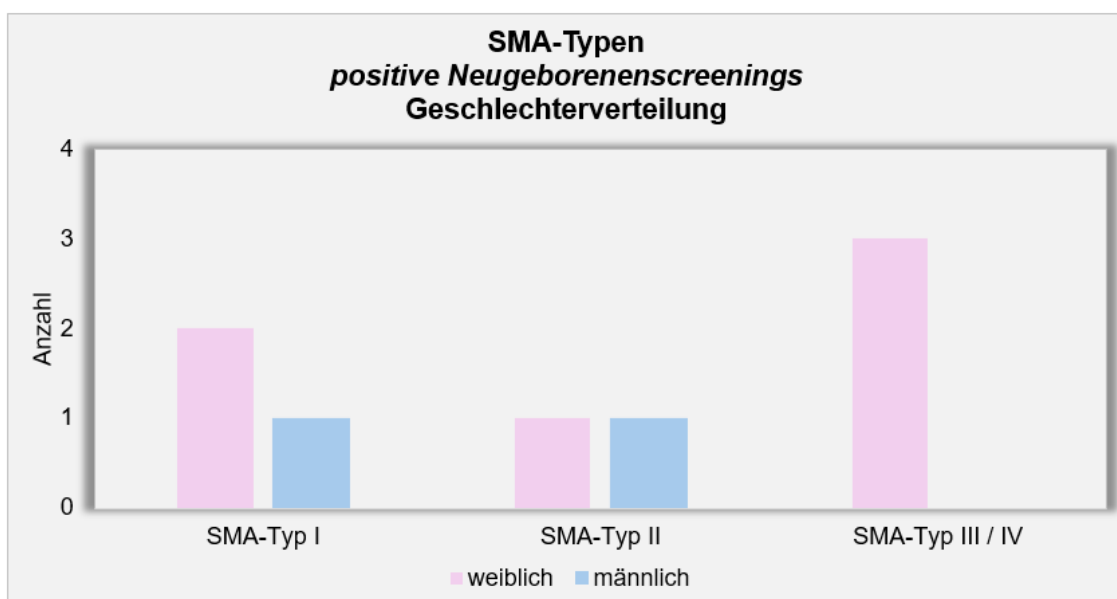


Abb. 36 SMA-Typen – positive Neugeborenen Screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

4.9.5 Anzahl der SMN1- und SMN2-Genkopien

Bei der Betrachtung aller Fälle wiesen unter den 8 auffälligen Ergebnissen 3 (33,33 %) 0 SMN1- & 2 SMN2-Genkopien [2 (66,67 %) weiblich, 1 (33,33 %) männlich], 2 (22,22 %) 0 SMN1- & 3 SMN2-Genkopien [1 (50 %) weiblich, 1 (50 %) männlich], 1 (11,11 %) 0 SMN1- & 4 SMN2-Genkopien [1 (100 %) weiblich] sowie 2 (22,22 %) 0 SMN1- & 5 SMN2-Genkopien [2 (100 %) weiblich] auf.

1 Person (11,11 %) wies als Anlageträger 1 SMN1- & 2 SMN2-Genkopien [1 (100 %) männlich] auf (Abb. 37 und Abb. 38).

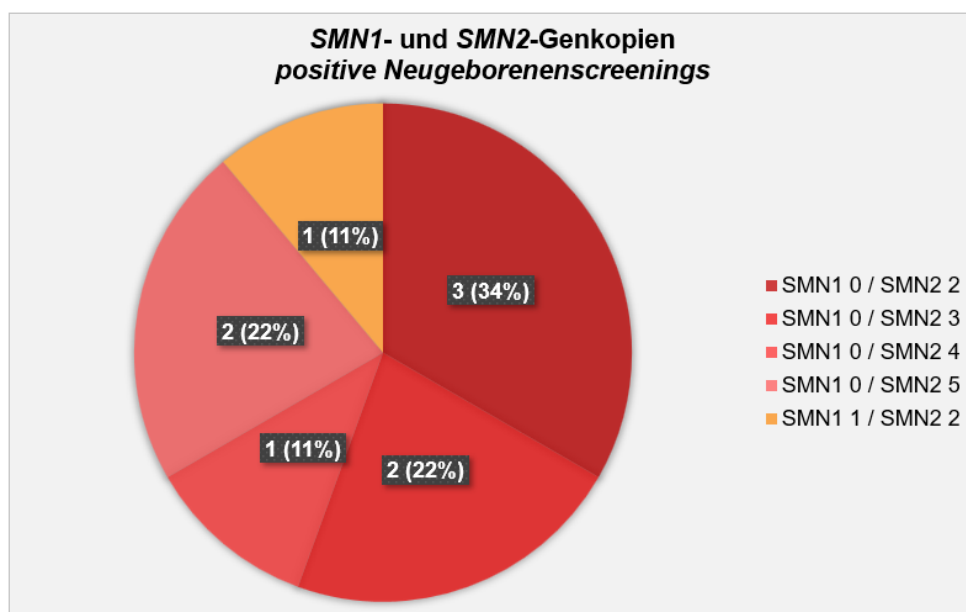


Abb. 37 SMN1- und SMN2-Genkopien – positive Neugeborenen screenings (eigene Darstellung, 2025)

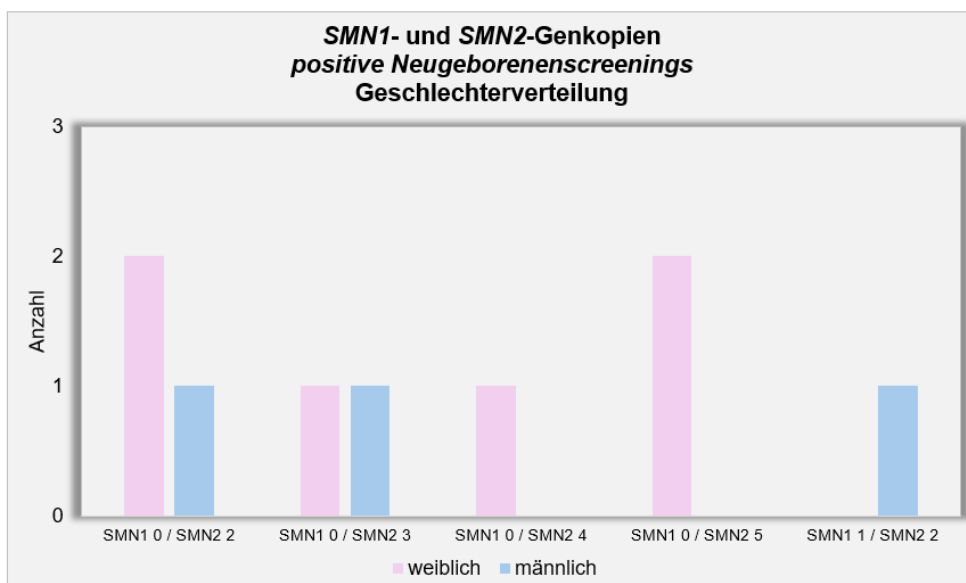


Abb. 38 SMN1- und SMN2-Genkopien – positive Neugeborenen screenings – Geschlechterverteilung (eigene Darstellung, 2025)

5 Diskussion

In diesem Abschnitt werden die in Kapitel 3 und 4 präsentierten Methoden und Ergebnisse unter kritischer Betrachtung interpretiert.

Darüber hinaus gilt es, entsprechend des eingangs formulierten Ziels dieser Masterarbeit, die Bedeutung der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse zu erörtern.

5.1 Diskussion der Methoden

Obwohl die 5q-SMA eine der häufigsten autosomal-rezessiven Erkrankungen ist, steht die genetische Diagnostik immer noch vor Herausforderungen.

Wesentliche Limitation der MLPA wurden bereits in Kapitel 2 beschrieben. Der Ansatz einer molekulargenetischen Diagnostik durch die MLPA setzt u. a. voraus, dass die 5q-SMA ausdrücklich als Verdachtsdiagnose erkannt wird. Zusätzlich zum oben genannten Punkt kann durch die genannte herkömmliche Methode bspw. ein Silent Carrier-Status nicht detektiert werden, was eine weitere wesentliche Limitation darstellt (Long et al., 2024).

An dieser Stelle stellt sich die Frage, ob es alternative Methoden gibt, die eine Verbesserung in der molekulargenetischen Diagnostik der 5q-SMA bringen können.

Wie von Oehler et al. (2023) beschrieben, haben sich Sequenziertechnologien der dritten Generation, die sog. Long-read Sequenzierung (LRS), in den vergangenen Jahren rasant weiterentwickelt.

Obwohl die LRS großes Potential für die Gesundheitsversorgung bietet, indem u. a. die Diagnoserate genetischer Erkrankungen erhöht wird, müssen laut Oehler et al. (2023) und Owusu & Savarese (2023) zuvor mehrere Hürden bewältigt werden, welche nachfolgend dargestellt werden.

Als Basis fundierter klinischer Entscheidungen haben genaue und zuverlässige Daten oberste Priorität. Die Ergebnisse von Studien, die diese Faktoren beim Erkennen klinisch relevanter genetischer Varianten im Vergleich zu den bekannten Goldstandardmethoden bewerteten, sind vielversprechend, jedoch stellte sich heraus, dass immer noch gewisse Einschränkungen vorhanden sind.

Die Bedeutung strenger Validierungsprozesse vor der Implementierung in die klinische Praxis wird dadurch deutlich (Oehler et al., 2023).

Unternehmen wie Oxford Nanopore Technologies und Pacific Biosciences arbeiten daran, die Qualität und den Durchsatz dieser Sequenziermethoden zu erhöhen, bei gleichzeitiger Reduktion der Kosten (ebd.).

Sind die derzeitigen Einschränkungen überwunden, wird erwartet, dass die LRS zur bahnbrechenden Technologie wird und dadurch eine weit verbreitete Implementierung in einer Vielzahl klinischer Anwendungsgebiete erfolgt (ebd.).

Des Weiteren wurde die Wirksamkeit eines LRS basierenden Ansatzes beim Screening auf 5q-SMA-Träger, im Vergleich zu den derzeit häufigsten angewandten Methoden, der qPCR und MLPA, in der Studie von Long et al. (2024) analysiert.

Die MLPA weist eine hohe Empfindlichkeit und Genauigkeit auf, ist jedoch aufgrund der hohen Kosten, der komplizierten Arbeitsschritte und der langen Testdauer für ein groß angelegtes Trägerscreening ungeeignet.

Zudem können sowohl die qPCR als auch MLPA falsch negative und falsch positive Ergebnisse liefern (ebd.).

Mit Techniken wie der qPCR und MLPA kann die *SMN1*- und *SMN2*-Genkopienzahl analysiert, jedoch nicht zwischen einem normalen „1 + 1“- und dem „2 + 0“-Genotyp, dem sog. Silent Carrier, unterschieden werden. Die Durchführbarkeit dieses Ansatzes wird zudem durch die Notwendigkeit mehrerer Familienmitglieder eingeschränkt (ebd.).

Den Ergebnissen der Studie zufolge erwies sich die von Long et al. (2024) getestete Methode als vielversprechend und könnte im Vergleich zur qPCR und MLPA eine leistungsstarke Methode sein.

Es konnten sowohl intragene Varianten als auch der „2 + 0“-Trägerstatus in einer Familie mit der Analyse von lediglich drei Genotypen (Eltern und ein Geschwister) identifiziert werden. Deren Genauigkeit, Einfachheit, Schnelligkeit und Wirksamkeit wurde damit betont (ebd.).

Das diagnostische Potential der Long-read Sequenzierung für die klinische Anwendung wird in einer weiteren Studie von Wang et al. (2024) bekräftigt.

Weiters ist zu erwähnen, dass aufgrund hoher Homologien zwischen dem *SMN1*- und *SMN2*-Gen die Sequenzanalyse durch Standardmethoden der Sanger- oder Short-read Sequenzierung (srNGS) erschwert ist, da keine genaue Zuordnung der Reads zu den beiden Genen möglich ist, wie in der Publikation von Kleinle et al. (2023) „Closing the Gap - Detection of 5q-Spinal Muscular Atrophy by Short-Read Next-Generation Sequencing and Unexpected Results in a Diagnostic Patient Cohort“ beschrieben.

In [dieser] Publikation [...] wird ein NGS-basierter Workflow zur Detektion von SMA-Varianten vorgestellt, mit der sowohl homozygote Deletionen als auch heterozygote oder homozygote SNVs im SMA-Locus nachgewiesen werden können. Dies bietet einerseits den Vorteil, dass Patient[Innen] mit einem atypischen klinischen Erscheinungsbild, bei denen zunächst kein Verdacht auf SMA besteht, in der Routine Panel- bzw. Exomdiagnostik erkannt werden. Außerdem können auch Patient[Innen] mit zwei heterozygoten pathogenen SNVs diagnostiziert werden, die mit der bisherigen Methodik nicht erfasst werden konnten.

Einschränkungen der Methode liegen in [...] der Verifizierung der *SMN2*-Kopien, die für eine rechtzeitige SMA-Therapie essentiell ist und [...] eine zusätzliche Analyse mittels konventioneller MLPA erfordert. (mgz-muenchen.de, o. J.)

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Geschlechterverteilung im gesamten analysierten PatientInnenkollektiv kann, mit einem etwas größeren Frauenanteil (42 Frauen – 35 Männer) grundsätzlich als ausgeglichen betrachtet werden.

Hinsichtlich der Altersstruktur unterscheidet sich der Mittelwert der Männer im Kollektiv mit 9013,17 Tagen (24,69 Jahre) nur gering von dem der Frauen mit 7491,57 Tagen (20,52 Jahre).

Mit rund 21 % stellen auffällige Befunde den geringsten Anteil der Ergebnisse der am Institut postnatal durchgeführten SMA-Abklärungen dar, wobei hiervon 75 % auf weibliche Personen und lediglich 25 % auf männliche Personen entfallen.

Die restlichen rund 79 % entfallen mit rund 43 % auf unauffällige Ergebnisse (45,45 % weiblich, 54,55 % männlich) und in etwa 36 % auf nachgewiesene Anlageträgerschaften (53,57 % weiblich, 46,43 % männlich).

Wird die Altersstruktur in diesen Kategorien betrachtet, so wird deutlich, dass der Mittelwert bei den auffälligen Befunden deutlich geringer (weibliche Personen: 3700,75 Tage (10,14 Jahre); männliche Personen: 4530 Tage (12,41 Jahre)) als im

Kollektiv der unauffälligen Befunde (weibliche Personen: 8303,87 Tage (22,75 Jahre); männliche Personen: 9616,44 Tage (26,35 Jahre)) sowie Anlageträger (weibliche Personen: 9711,93 Tage (26,61 Jahre); männliche Personen: 9557,31 Tage (26,18 Jahre)) ist.

Dies könnte aus der Tatsache resultieren, dass in diesem Kollektiv der PatientInnen mit auffälligen Befunden eine Vielzahl an Personen bereits durch das Neugeborenenenscreening erkannt und frühzeitig molekulargenetisch abgeklärt wurden.

Unter allen auffälligen Befunden konnte anhand des Abgleichs der Genotypen mit der Literatur (Tab. 7) in 25 % der Fälle eine 5q-SMA Typ I sowie in jeweils 37,5 % Typ II sowie Typ III/IV gestellt werden, wobei das mittlere Alter bei Typ I mit 14,5 Tagen vergleichsweise deutlich geringer lag (Typ II: 4695,5 Tage (12,86 Jahre) und Typ III/IV: 5716,33 (15,66 Jahre)).

Laut orpha.net (2021a) und orpha.net (2021b) leiden etwa 60 % der 5q-SMA PatientInnen an Typ I und etwa 10 % der Fälle können dem Typ III und laut Sugarman et al. (2012) und medmedia.at (2023) jeweils weniger als 1 % dem Typ 0 und Typ IV zugerechnet werden.

In der Analyse von Verhaart et al. (2017) wurden nahezu identische Ergebnisse geliefert.

Das PatientInnenkollektiv erweist sich mit 77 postnatal untersuchten Fällen einerseits zu gering, als dass durch die gewonnenen Daten Rückschlüsse auf die Allgemeinbevölkerung vorgenommen werden können.

Andererseits erfolgte zudem die Einteilung der SMA-Typen in dieser Arbeit ausschließlich anhand Tab. 7.

Da eine klare Abgrenzung der einzelnen Typen durch die ausschließliche Betrachtung der *SMN1*- und *SMN2*-Genkopienzahl nicht möglich ist, ist unter der Berücksichtigung weiter klinischer Merkmale der einzelnen Fälle eine Änderung der Einordnung und dementsprechend der Ergebnisse zu erwarten.

In Hinblick auf die *SMN1*- und *SMN2*-Genkopien-Kombinationen stellt die Kombination aus 2 *SMN1*- und 2 *SMN2*-Genkopien (unauffälliger Befund) mit 26 % die häufigste im gesamten PatientInnenkollektiv dar, gefolgt von 1 *SMN1*- und 2 *SMN2*-Genkopien (Anlageträgerschaft) mit 16 %.

Nachfolgend werden die auffälligen Befunde, Anlageträgerschaften sowie unauffälligen Befunde getrennt voneinander betrachtet.

Im Kollektiv der auffälligen Befunde nimmt mit 37,5 % die Kombination aus 0 *SMN1*- und 3 *SMN2*-Genkopien die Mehrheit ein. Mit 43 % nimmt die Kombination aus 1 *SMN1*- und 2 *SMN2*-Genkopien und die 2 *SMN1*- und 2 *SMN2*-Genkopien-Kombination mit 61 % die deutliche Mehrheit bei den Anlageträgerschaften bzw. bei den unauffälligen Befunden ein.

Das Verhältnis des Alters der PatientInnen zum Zeitpunkt der molekulargenetischen SMA-Abklärung und der *SMN2*-Genkopienzahl im gesamten PatientInnenkollektiv wurde in Abb. 30 grafisch dargestellt.

Da das in der Analyse verwendete Alter nicht dem Erkrankungsbeginn entspricht, ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass es obligat erscheint, dies bei weiterführenden Untersuchungen miteinzubeziehen.

Betrachtet man die PatientInnen mit positivem Neugeborenencreening gesondert, so ist ersichtlich, dass rund ein Drittel der Abklärungen im Rahmen der Bestätigungsdagnostik auf weibliche Personen entfallen.

Hinsichtlich der Altersstruktur unterscheidet sich der Mittelwert der weiblichen Personen mit 13,67 Tagen kaum von dem der männlichen Personen mit 13,33 Tagen.

In 8 von 9 Fällen wurde das positive Neugeborenencreening durch ein auffälliges Ergebnis bestätigt.

Bei der gesonderten Betrachtung der PatientInnen mit positivem Neugeborenencreening konnte die Kombination aus 0 *SMN1*- und 2 *SMN2*-Genkopien als häufigste identifiziert werden.

6 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Einführung des Neugeborenen Screenings für die 5q-assoziierte Spinale Muskelatrophie stellt einen wichtigen Meilenstein in deren Geschichte, insbesondere für eine frühzeitige Diagnose und Behandlung, dar.

Die Erkrankung stellt dank innovativer Therapiemöglichkeiten nicht mehr ausschließlich die in der Vergangenheit oft tödlich verlaufende Erkrankung dar, sondern wandelte sich zu einer gut therapierbaren Erkrankung.

Die Diagnostik und Therapie werfen jedoch eine Reihe ethischer Fragestellungen auf, insbesondere im Hinblick auf den Zugang zu kostspieligen Therapien, die Entscheidung über lebensverlängernde Maßnahmen bei schwerstbetroffenen Neugeborenen sowie angesichts pränataler Tests.

Es ist von entscheidender Bedeutung, dass PatientInnen und deren Familien umfassend über die Diagnose, den Krankheitsverlauf und die möglichen Behandlungsoptionen informiert werden. Diese Aufklärung dient als Grundlage für jede fundierte Entscheidung.

Der Zugang zu Diagnostik und Therapie sollte für alle Menschen unabhängig von sozialen und wirtschaftlichen Faktoren gewährleistet sein.

Während in der klinischen Forschung große wissenschaftliche Durchbrüche erreicht wurden, insbesondere durch neue innovative Therapien, stellen sich demgegenüber komplexe ethische Fragen hinsichtlich der Lebensqualität und der derzeit noch unzureichend erforschten langfristigen Auswirkungen dieser Behandlungen.

Da Neugeborene nicht in der Lage sind, selbstständig Entscheidungen zu treffen, obliegt es deren Eltern, medizinische Entscheidungen zu treffen. Dies stellt aufgrund des hohen emotionalen Drucks eine ethische Herausforderung dar.

Eine der zentralen ethischen Fragen bei der Anwendung lebensverlängernder Maßnahmen bei schwerstbetroffenen Neugeborenen ist, ob der Nutzen einer verlängerten Lebenszeit das Leiden und die Einschränkungen rechtfertigt, die mit der Krankheit, möglicherweise trotz Behandlungsoption, einhergehen.

Es erfordert eine sorgfältige Abwägung zahlreicher Aspekte.

Die ethischen Prinzipien von Fürsorge, Gerechtigkeit, Würde und Verantwortung

sollen, als Basis für die bestmögliche Entscheidung für das Kind, miteinander in Einklang gebracht werden.

Angesichts des Neugeborenen Screenings und der verbesserten molekulargenetischen SMA-Diagnostik werden vermehrt Personen in einem präsymptomatischen Stadium diagnostiziert.

Bei präsymptomatischen PatientInnen bietet die Angabe der *SMN2*-Kopienzahl einen Anhalt über den zu erwartenden Phänotyp. Um diesen Aspekten gerecht zu werden, wird daher in der S2k-Leitlinie (Gesellschaft für Neuropädiatrie, 2024) nun eine mehrdimensionale Klassifikation der Erkrankung vorgeschlagen, welche aufgrund der Aktualität der Leitlinie noch keine Erwähnung in dieser Arbeit fand. Diese Klassifikation enthält die Angabe des SMA-Typs für alle PatientInnen, die bereits Symptome hatten, bevor eine Therapie gestartet wurde, die Anzahl der *SMN2*-Kopien sowie den aktuellen motorischen Funktionszustand.

Präsymptomatischen PatientInnen werden mit dem Präfix „prä-“ bezeichnet und eine Typenbezeichnung entfällt bis zum Einsetzen einer Symptomatik (ebd.).

Trotz der in dieser Arbeit aufgezeigten medikamentösen Therapiemöglichkeiten kann die Lebensqualität und Prognose von PatientInnen mit 5q-SMA durch eine frühzeitige Behandlung zwar verbessert, die Erkrankung jedoch nicht vollständig geheilt werden (Day et al., 2022; Long et al., 2024).

Da es sich bei der 5q-SMA um eine rezessive Erkrankung handelt, gibt es auch nicht betroffene, heterozygote Träger der Krankheit.

Darunter werden v. a. der „1 + 0“-Genotyp und der weitaus seltenere „2 + 0“-Genotyp verstanden.

Wenn ein oder auch beide Partner im Falle einer autosomal-rezessiven Erkrankung Anlageträger einer dieser genetischen Veränderungen ist/sind, steigt das Risiko, dass ein Kind erkrankt.

Um einer 5q-SMA in der Bevölkerung vorzubeugen, stellt laut Long et al. (2024) das präkonzeptionelle Trägerscreening, sowohl bei Personen mit als auch ohne familiäre Vorbelastung mit dieser Erkrankung, und die Pränataldiagnostik einen effektiven Weg zur Reduktion der Erkrankungsfälle dar.

Das Potential der LRS für die genetische Diagnostik allgemein, als auch für das Trägerscreening der 5q-SMA wird, wie bereits in Kapitel 5.1 erwähnt, durch mehrere Studien belegt (Long et al., 2024; Owusu & Savarese, 2023; Wang et al., 2024).

Im Vergleich zu den Kosten von qPCR und MLPA scheint die Sequenzierung dritter Generation teurer zu sein. Mit der schrittweisen Senkung der Kosten von LRS und dem erhöhten Durchsatz der neuen Plattform werden die Kosten in Zukunft laut Long et al. (2024) jedoch weiter sinken.

Auch mittels modernster Verfahren der Reproduktionsmedizin können Erkrankungsfälle minimiert werden (klinikeugin.de, 2021).

Bei der sog. Präimplantationsdiagnostik (PID) werden künstlich erzeugte Embryonen vor der Übertragung in die Gebärmutter gezielt auf genetische Veränderungen analysiert (ebd.).

Neben der PID existiert auch die Möglichkeit der Präfertilisationsdiagnostik, die sog. Polkörperdiagnostik.

Beide Techniken werden im Rahmen einer künstlichen Befruchtung durchgeführt (familienplanung.de, 2017; medicover-diagnostics.de, 2024).

Die Polkörperdiagnostik ist eine Diagnostik an der Eizelle, bei der aus der genetischen oder chromosomalen Ausstattung des ersten – und möglichst auch zweiten – Polkörpers auf das Erbmaterial geschlossen wird, das während des Reifungsprozesses in der Eizelle verblieben ist und an den Embryo weitergegeben wird. Es werden durch diese Diagnostik [...] nur die mütterlich vererbten Anlagen erfasst. (ethikrat.org, 2004)

[Bei der Diagnostik einer monogenen Krankheitsanlage] ist die Polkörperdiagnostik insofern von Nutzen, als es mit großer Wahrscheinlichkeit gelingt, die von solchen genetischen Veränderungen betroffenen Eizellen zu erkennen und vom Transfer auszuschließen. (ebd.)

Ein erheblicher Nachteil [...] besteht darin, dass im Falle [...] autosomal rezessiv vererbter Erkrankungen auch solche Eizellen verworfen werden, die sich zu einem nicht von der Krankheit betroffenen Kind entwickeln könnten. Dies wäre der Fall, wenn das befruchtende Spermium [...] die krankheitsauslösende [genetische Veränderung] nicht trägt.

Vor diesem Hintergrund, angesichts sowohl erheblicher technischer Schwierigkeiten als auch des sich aus dem Embryonenschutzgesetz ergebenden engen Zeitrahmens zur Durchführung der Polkörperdiagnostik, wird das Verfahren lediglich [in bestimmten Fällen als Alternative zu einer Präimplantationsdiagnostik gesehen].

International wird die Polkörperdiagnostik nur an wenigen Zentren durchgeführt und dort in der Regel mit einer [Präimplantationsdiagnostik] kombiniert.

Da wie bei jeder genetischen Diagnostik das Risiko einer Fehldiagnose besteht, wird dem Paar in allen Fällen zur Bestätigung des erhobenen Befundes noch eine

pränataldiagnostische Absicherung empfohlen, wenn es zu einer Schwangerschaft gekommen ist. (ebd.)

Bei der PID wird die vollständig befruchtete Eizelle, der Embryo, auf genetische Veränderungen untersucht. Die Polkörperdiagnostik wird vorgenommen, bevor ein Embryo entstanden ist.

Beide Techniken werden kritisch diskutiert, da die Entwicklung von Nachkommen mit bestimmten Eigenschaften bereits im Vorfeld verhindert werden kann (familienplanung.de, 2017).

Wie in der Arbeit von Verhaart et al. (2017) beschrieben, zeigen verschiedene Studien unterschiedlich hohe Inzidenzzahlen der Erkrankung.

Der Grund dafür liegt einerseits darin, dass z. T. sehr kleine Populationen analysiert wurden und oftmals zum Zeitpunkt der Studien noch mangelndes Bewusstsein für die Erkrankung vorherrschte. Dies führte mitunter zu Fehldiagnosen von Erkrankungen mit einem ähnlichen klinischen Erscheinungsbild und einer Verzerrung der Daten.

Basiert die Gründung einer neuen Population auf einer sehr kleinen Anzahl an Individuen, kann es dabei zu einem Verlust der genetischen Variation kommen. Kommt eine genetische Veränderung vor, so kann dies in der Population in diesem Fall zu einer hohen Inzidenz führen.

Einen weiteren Grund für sehr hohe Inzidenzzahlen stellt die in manchen Gebieten vorherrschende Blutsverwandtschaft dar.

All diese Faktoren erschweren die Interpretation der Ergebnisse.

Zu erwähnen ist, dass im Rahmen von Analysen zum Typ I, PatientInnen aufgrund ihrer kurzen Lebensspanne möglicherweise nicht inkludiert und dadurch die Ergebnisse verfälscht wurden.

An dieser Stelle ist zu erwähnen, dass bzgl. der Häufigkeit und Verteilung der SMA-Typen auch in verschiedenen Ethnien durchaus Unterschiede festzustellen sind und es in weiteren Untersuchungen Ziel sein sollte, all diese genannten Faktoren zu berücksichtigen.

Zusätzlich zu Prävalenz- und Inzidenzstudien können Trägerfrequenzen nützliche Zusatzinformationen über ethnische Subpopulationen liefern.

Verhaart et al. (2017) führten eine Analyse der Unterschiede zwischen ethnischen Gruppen durch.

Zumeist wiesen kleine oder auch isolierte Populationen mit einem hohen Grad an Blutsverwandtschaft eine besonders hohe Trägerfrequenz auf.

Die Ergebnisse zeigen, dass die höchsten Frequenzen in kaukasischen und asiatischen Bevölkerungen (etwa 1 von 50) und die niedrigsten in afrikanischen (1 von 100) und lateinamerikanischen (1 von 76) Bevölkerungen zu finden sind. Es ist jedoch wichtig zu beachten, dass die lateinamerikanische Bevölkerung eine genetisch sehr heterogene Gruppe ist, was Verallgemeinerungen schwierig macht. Dies wird auch durch die Tatsache belegt, dass einige Studien in dieser Gruppe unterschiedlich hohe Frequenzangaben zeigen.

Zudem wurden von Vijzelaar et al. (2019) deutliche Unterschiede in der Häufigkeit der Genvariante *SMN1/2Δ7–8* zwischen verschiedenen Populationen beobachtet. Die Häufigkeit von *SMN1/2Δ7–8*-Kopien in den getesteten europäischen Populationen lag zwischen 8 % und 20 %, während diese in afrikanischen und asiatischen Proben fast vollständig fehlte, wobei eine inverse Korrelation mit der *SMN2*-Kopienzahl beobachtet wurde. Dies deutet daraufhin, dass diese Variante hauptsächlich von *SMN2*-Deletionsereignissen stammt.

Darüber hinaus erwies sich die durchschnittliche Anzahl von *SMN1*- oder *SMN2*-Genkopien als stark populationsabhängig, wobei afrikanische Populationen im Vergleich höhere *SMN1*- und niedrigere *SMN2*-Genkopienzahlen aufwiesen. Die *SMN2*-Kopienzahlen waren in asiatischen Proben am höchsten und in afrikanischen Proben am niedrigsten.

All diese in den vorangegangenen Kapiteln und Abschnitten erwähnten Punkte, sollten wesentlicher Bestandteil zukünftiger Untersuchungen sein.

Zudem sollte *NAIP* in weitere Analysen einbezogen werden.

Für die molekulargenetische SMA-Diagnostik stellt die Sequenzierung dritter Generation (LRS) eine vielversprechende Alternative dar, da diese in der Lage ist, wesentliche Limitationen herkömmlicher Methoden zu umgehen.

Eine Erhöhung der diagnostischen Rate wird erwartet (Oehler et al., 2023).

Literaturverzeichnis

- Aasdev A., R.-S., S., Iyer, V.-R., Moharir, S.-C. (2024). Spinal muscular atrophy: Molecular mechanism of pathogenesis, diagnosis, therapeutics, and clinical trials in the Indian context. *Journal of Biosciences*, 49, S. 36. PMID: 38384244.
- Arslan, D., Inan, B., Kilinc, M., Bekircan-Kurt, C.-E., Erdem-Ozdamar, S., Tan, E. (2023). Nusinersen for adults with spinal muscular atrophy. *Neurological Sciences*, 44, 7, S. 2393-2400. PMID: 36854931.
- Azad, A.-K., Huang, C.-K., Jin, H., Zou, H., Yanakakis, L., Du, J., Fiddler, M., Naeem, R., Goldstein, Y. (2020). Enhanced Carrier Screening for Spinal Muscular Atrophy: Detection of Silent (SMN1: 2 + 0) Carriers Utilizing a Novel TaqMan Genotyping Method. *Laboratory Medicine*, 51, 4, S. 408-415. PMID: 31875889.
- Bernal, S., Alías, L., Barceló, M.-J., Also-Rallo, E., Martínez-Hernández, R., Gámez, J., Guillén-Navarro, E., Rosell, J., Hernando, I., Rodríguez-Alvarez, F.-J., Borrego, S., Millán, J.-M., Hernández-Chico, C., Baiget, M., Fuentes-Prior, P., Tizzano, E.-F. (2010). The c.859G>C variant in the SMN2 gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *Journal of Medical Genetics*, 47, 9, S. 640-642. PMID: 20577007.
- Biros, I., Forrest, S. (1999). Spinal muscular atrophy: untangling the knot? *Journal of Medical Genetics*, 36, 1, S. 1-8. PMID: 9950358.
- Brandsema, J.-F., Gross, B.-N., Matesanz, S.-E. (2020). Diagnostic Testing for Patients with Spinal Muscular Atrophy. *Clinics in Laboratory Medicine*, 40, 3, S. 357-367. PMID: 32718505.
- Brzustowicz, L.-M., Lehner, T., Castilla, L.-H., Penchaszadeh, G.-K., Wilhelmsen, K.-C., Daniels, R., Davies, K.-E., Leppert, M., Ziter, F., Wood, D., et al. (1990). Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3. *Nature*, 344, 6266, S. 540-541. PMID: 2320125.
- Burghes, A.-H., Beattie, C.-E. (2009). Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? *Nature Reviews Neuroscience*, 10, S. 597-609. PMID: 19584893.
- Burr, P., Reddivari, A.-K.-R. (2023). Spinal Muscle Atrophy. In: StatPearls [Internet]. Abgerufen am 04.02.2025 von <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560687/>. PMID: 32809522.
- Butchbach, M.-E. (2016). Copy Number Variations in the Survival Motor Neuron Genes: Implications for Spinal Muscular Atrophy and Other Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 3, S. 7. PMID: 27014701.
- Butchbach, M.-E.-R. (2021). Genomic Variability in the Survival Motor Neuron Genes (SMN1 and SMN2): Implications for Spinal Muscular Atrophy Phenotype and Therapeutics Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 15, S. 7896. PMID: 34360669.

- Calucho, M., Bernal, S., Alías, L., March, F., Venceslá, A., Rodríguez-Álvarez, F.-J., Aller, E., Fernández, R.-M., Borrego, S., Millán, J.-M., Hernández-Chico, C., Cuscó, I., Fuentes-Prior, P., Tizzano, E.-F. (2018). Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: An analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases. *Neuromuscular Disorders*, 28, 3, S. 208-215. PMID: 29433793.
- Campbell, L., Daniels, R.-J., Dubowitz, V., Davies, K.-E. (1998). Maternal mosaicism for a second mutational event in a type I spinal muscular atrophy family. *American Journal of Human Genetics*, 63, 1, S. 37-44. PMID: 9634516.
- Cancès, C., Richelme, C., Barnerias, C., Espil, C. (2020). Clinical features of spinal muscular atrophy (SMA) type 2. *Archives de Pédiatrie*, 27, 7S, S. 7S18-7S22. PMID: 33357592.
- Cartegni, L., Krainer, A.-R. (2002). Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN1. *Nature Genetics*, 30, 4, S. 377-384. PMID: 11925564.
- Cartegni, L., Hastings, M.-L., Calarco, J.-A., de Stanchina, E., Krainer, A.-R. (2006). Determinants of exon 7 splicing in the spinal muscular atrophy genes, SMN1 and SMN2. *The American Journal of Human Genetics*, 78, 1, S. 63-77. PMID: 16385450.
- Carvalho, T., Almeida, F., Calapez, A., Lafarga, M., Berciano, M.-T., Carmo-Fonseca, M. (1999). The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN: A link between snRNP biogenesis and the Cajal (coiled) body. *Journal of Cell Biology*, 147, 4, S. 715-728. PMID: 10562276.
- Chaytow, H., Huang, Y.-T., Gillingwater, T.-H., Faller, K.-M.-E. (2018). The role of survival motor neuron protein (SMN) in protein homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75, 21, S. 3877-3894. PMID: 29872871.
- Chen, X., Sanchis-Juan, A., French, C.-E., Connell, A.-J., Delon, I., Kingsbury, Z., Chawla, A., Halpern, A.-L., Taft, R.-J.; NIH BioResource; Bentley, D.-R., Butchbach, M.-E.-R., Raymond, F.-L., Eberle, M.-A. (2020). Spinal muscular atrophy diagnosis and carrier screening from genome sequencing data. *Genetics in Medicine*, 22, 5, S. 945-953. PMID: 32066871.
- Chien, Y.-H., Chiang, S.-C., Wenig, W.-C., Lee, N.-C., Lin, C.-J., Hsieh, W.-S., Lee, W.-T., Jong, Y.-J., Ko, T.-M., Hwu, W.-L. (2017). Presymptomatic diagnosis of spinal muscular atrophy through newborn screening. *The Journal of Pediatrics*, 190, S.124-129e1. PMID: 28711173.
- Costa-Roger, M., Blasco-Pérez, L., Cuscó, I., Tizzano, E.-F. (2021). The Importance of Digging into the Genetics of *SMN* Genes in the Therapeutic Scenario of Spinal Muscular Atrophy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 16, S. 9029. PMID: 34445733.
- Crawford, T.-O., Paushkin, S.-V., Kobayashi, D.-T., Forrest, S.-J., Joyce, C.-L., Finkel, R.-S., Kaufmann, P., Swoboda, K.-J., Tiziano, D., Lomastro, R., Li, R.-H., Trachtenberg, F.-L., Plasterer, T., Chen, K.-S. (2012). Pilot Study of Biomarkers for Spinal Muscular Atrophy Trial Group. Evaluation of SMN

protein, transcript, and copy number in the biomarkers for spinal muscular atrophy (BforSMA) clinical study. PLoS One, 7, 4, S. e33572. PMID: 22558076.

D&F Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität Graz (2021). SOP SMA Diagnostik.

Day, J.-W., Howell, K., Place, A., Long, K., Rossello, J., Kertesz, N., Nomikos, G. (2022). Advances and limitations for the treatment of spinal muscular atrophy. BMC Pediatrics, 3, 22, 1, S. 632. PMID: 36329412.

De Vivo, D.-C., Bertini, E., Swoboda, K.-J., Hwu, W.-L., Crawford, T.-O., Finkel, R.-S., Kirschner, J., Kuntz, N.-L., Parsons, J.-A., Ryan, M.-M., Butterfield, R.-J., Topaloglu, H., Ben-Omran, T., Sansone, V.-A., Jong, Y.-J., Shu, F., Staropoli, J.-F., Kerr, D., Sandrock, A.-W., Stebbins, C., Petrillo, M., Braley, G., Johnson, K., Foster, R., Gheuens, S., Bhan, I., Reyna, S.-P., Fradette, S., Farwell, W.; NURTURE Study Group. (2019). Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: Interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study. Neuromuscular Disorders, 29, 11, S. 842-856. PMID: 31704158.

dgm.org (o. J.a). Leitfaden zu den internationalen SMA Therapiestandards von 2017. Abgerufen am 17.12.2024 von https://www.dgm.org/sites/default/files/2022-11/SMA_Leitfaden_2017_web.pdf.

dgm.org (o. J.b). Spinale Muskelatrophie (SMA). Abgerufen am 17.12.2024 von <https://www.dgm.org/muskelerkrankungen/spinale-muskelatrophie-sma>.

dgm.org (2023). Spinale Muskelatrophien. Wissenwertes. Abgerufen am 17.12.2024 von https://www.dgm.org/sites/default/files/2023-11/Wissenwertes%20Spinale%20Muskelatrophie_10_2023.pdf.

DiDonato, C.-J., Lorson, C.-L., De Repentigny, Y., Simard, L., Chartrand, C., Androphy, E.-J., Kothary, R. (2001). Regulation of murine survival motor neuron (Smn) protein levels by modifying Smn exon 7 splicing. Human Molecular Genetics, 10, 23, S. 2727-2736. PMID: 11726560.

Duong, T., Wolford, C., McDermott, M.-P., Macpherson, C.-E., Pasternak, A., Glanzman, A.-M., Martens, W.-B., Kichula, E., Darras, B.-T., De Vivo, D.-C., Zolkipli-Cunningham, Z., Finkel, R.-S., Zeineh, M., Wintermark, M., Sampson, J., Hagerman, K.-A., Young, S.-D., Day, J.-W. (2021). Nusinersen Treatment in Adults With Spinal Muscular Atrophy. Neurology Clinical Practice, 11, 3, S. 317-327. PMID: 34476123.

Eggermann, K., Gläser, D., Abicht, A., Wirth, B. (2020). Spinal muscular atrophy (5qSMA): best practice of diagnostics, newborn screening and therapy. Medizinische Genetik, 32, 3, S. 263-272. Abgerufen am 14.12.2024 von <https://doi.org/10.1515/medgen-2020-2033>.

Elsheikh, B., Prior, T., Zhang, X., Miller, R., Kolb, S.-J., Moore, D., Bradley, W., Barohn, R., Bryan, W., Gelinas, D., Iannaccone, S., Leshner, R., Mendell, J.-R., Mendoza, M., Russman, B., Smith, S., King, W., Kissel, J.-T. (2009). An analysis of disease severity based on SMN2 copy number in adults with

spinal muscular atrophy. *Muscle & Nerve*, 40, 4, S. 652-656.
PMID: 19760790.

- Emmady, P.-D., Bodle, J. (2023). Werdnig-Hoffmann Disease. [Updated 2023 May 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Abgerufen am 12.08.2024 von <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558933/>.
- ethikrat.org (2004). Polkörperdiagnostik. Stellungnahme des Nationalen Ethikrates. Abgerufen am 03.03.2025 von https://www.ethikrat.org/fileadmin/Publikationen/Stellungnahmen/Archiv/Stellungnahme_PKD.pdf.
- facesma.de (o. J.). Therapie bei SMA. Abgerufen am 15.12.2024 von <https://www.facesma.de/therapie/therapie-bei-sma/>.
- Fainmesser, Y., Drory, V.-E., Ben-Shushan, S., Lavon, A., Spector, L., Abramovich, B., Abraham, A. (2022). Longer-term follow-up of nusinersen efficacy and safety in adult patients with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Neuromuscular Disorders*, 32, 6, S. 451-459. PMID: 35527201.
- familienplanung.de (2017). Polkörperdiagnostik. Abgerufen m 03.03.2025 von <https://www.familienplanung.de/polkoerperdiagnostik/>.
- Feldkötter, M., Schwarzer, V., Wirth, R., Wienker, T.-F., Wirth, B. (2002). 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. *American Journal of Human Genetics*, 70, 2, S. 358-368. PMID: 11791208.
- Finkel, R.-S., Mercuri, E., Darras, B.-T., Connolly, A.-M., Kuntz, N.-L., Kirschner, J., Chiriboga, C.-A., Saito, K., Servais, L., Tizzano, E., Topaloglu, H., Tulinius, M., Montes, J., Glanzman, A.-M., Bishop, K., Zhong, Z.-J., Gheuens, S., Bennett, C.-F., Schneider, E., Farwell, W., De Vivo, D.-C.; ENDEAR Study Group. (2017). Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *The New England Journal of Medicine*, 377, 18, S. 1723-1732. PMID: 29091570.
- Finkel, R.-S., Mercuri, E., Meyer, O.-H., Simonds, A.-K., Schroth, M.-K., Graham, R.-J., Kirschner, J., Iannaccone, S.-T., Crawford, T.-O., Woods, S., Muntoni, F., Wirth, B., Montes, J., Main, M., Mazzone, E.-S., Vitale, M., Snyder, B., Quijano-Roy, S., Bertini, E., Davis, R.-H., Qian, Y., Sejersen, T.; SMA Care group. (2018). Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 2: Pulmonary and acute care; medications, supplements and immunizations; other organ systems; and ethics. *Neuromuscular Disorders*, 28, 3, S. 197-207. PMID: 29305137.
- Fischer, U., Liu, Q., Dreyfuss, G. (1997). The SMN-SIP1 complex has an essential role in spliceosomal snRNP biogenesis. *Cell*, 90, 6, S. 1023-1029. PMID: 9323130.
- Fu, X., Shi, Y., Ma, J., Zhang, K., Wang, G., Li, G., Xiao, L., Wang, H. (2022). Advances of multiplex ligation-dependent probe amplification technology in molecular diagnostics. *Biotechniques*, 2022, 73, 4, S. 205-213. PMID: 36309987.

- gelbe-liste.de (2021a). Risdiplam. Abgerufen am 14.08.2024 von https://www.gelbe-liste.de/wirkstoffe/Risdiplam_56408.
- gelbe-liste.de (2021b). Spinale Muskelatrophie (SMA). Abgerufen am 14.08.2024 von <https://www.gelbe-liste.de/krankheiten/spinale-muskelatrophie-sma>.
- Gesellschaft für Neuropädiatrie (2024). Diagnostik und Therapie der 5q-assoziierten spinalen Muskelatrophie im Kindes- und Erwachsenenalter. Abgerufen am 29.03.2025 von https://register.awmf.org/assets/guidelines/022-030I_S2k_Diagnostik-Therapie-5q-assoziierte-spinale-Muskelatrophie-Kinder-Erwachsene_2025-02_1.pdf.
- Giavazzi, A., Setola, V., Simonati, A., Battaglia, G. (2006). Neuronal-specific roles of the survival motor neuron protein: evidence from survival motor neuron expression patterns in the developing human central nervous system. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65, 3, S. 267-277. PMID: 16651888.
- Gilliam, T.-C., Brzustowicz, L.-M., Castilla, L.-H., Lehner, T., Penchaszadeh, G.-K., Daniels, R.-J., Byth, B.-C., Knowles, J., Hislop, J.-E., Shapira, Y., et al. (1990). Genetic homogeneity between acute and chronic forms of spinal muscular atrophy. *Nature*, 345, 6278, S. 823-825. PMID: 1972783.
- Glascock, J., Sampson, J., Haidet-Phillips, A., Connolly, A., Darras, B., Day, J., Finkel, R., Howell, R.-R., Klinger, K., Kuntz, N., Prior, T., Shieh, P.-B., Crawford, T.-O., Kerr, D., Jarecki, J. (2018). Treatment Algorithm for Infants Diagnosed with Spinal Muscular Atrophy through Newborn Screening. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 5, 2, S. 145-158. PMID: 29614695.
- Gowda, V.-L., Fernandez-Garcia, M.-A., Jungbluth, H., Wraige, E. (2023). New treatments in spinal muscular atrophy. *Archives of Disease in Childhood*, 108, 7, S. 511-517. PMID: 36316089.
- Groen, E.-J.-N., Talbot, K., Gillingwater, T.-H. (2018). Advances in therapy for spinal muscular atrophy: promises and challenges. *Nature Reviews Neurology*, 14, 4, S. 214-224. PMID: 29422644.
- Hagenacker, T., Hermann, A., Kamm, C., Walter, M.-C., Weiler, M., Günther, R., Wurster, C.-D., Kleinschnitz, C. (2019). Spinale Muskelatrophie – Expertenempfehlungen zur Behandlung von erwachsenen Patienten mit Nusinersen [Spinal Muscular Atrophy - expert recommendations for the use of nusinersen in adult patients]. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 87, 12, S. 703-710. PMID: 31847032.
- Hagenacker, T., Wurster, C.-D., Günther, R., Schreiber-Katz, O., Osmanovic, A., Petri, S., Weiler, M., Ziegler, A., Kuttler, J., Koch, J.-C., Schneider, I., Wunderlich, G., Schloss, N., Lehmann, H.-C., Cordts, I., Deschauer, M., Lingor, P., Kamm, C., Stolte, B., Pietruck, L., Totzeck, A., Kizina, K., Mönninghoff, C., von Velsen, O., Ose, C., Reichmann, H., Forsting, M., Pechmann, A., Kirschner, J., Ludolph, A.-C., Hermann, A., Kleinschnitz, C. (2020). Nusinersen in adults with 5q spinal muscular atrophy: a non-interventional, multicentre, observational cohort study. *The Lancet Neurology*, 19, 4, S. 317-325. PMID: 32199097.

- Hassan, H.-A., Fahmy, N.-A., El-Bagoury, N.-M., Eissa, N.-R., Sharaf-Eldin, W.-E., Issa, M.-Y., Zaki, M.-S., Essawi, M.-L. (2022). MLPA analysis for molecular diagnosis of spinal muscular atrophy and correlation of 5q13.2 genes with disease phenotype in Egyptian patients. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 23, S. 156. Abgerufen von <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00373-y>.
- hirnstiftung.org (o. J.). Spinale Muskelatrophie (SMA). Abgerufen am 03.02.2025 von <https://hirnstiftung.org/alle-erkrankungen/spinale-muskelatrophie-sma/>.
- humangenetik.medunigraz.at (o. J.). Das sind wir/Humangenetik/Diagnostik. PATIENT*INNEN. Abgerufen am 16.08.2024 von <https://humangenetik.medunigraz.at/ratsuchende>.
- humangenetik-regensburg.de (o. J.). Methoden der genetischen Laboruntersuchung. Abgerufen am 14.12.2024 von <https://www.humangenetik-regensburg.de/methoden.html#mlpa>.
- humangenetik.uk-erlangen.de (o. J.). Nachweis von größeren Deletionen/Duplikationen mittels MLPA. Abgerufen am 14.12.2024 von <https://www.humangenetik.uk-erlangen.de/aerzte-und-zuweiser/molekulargenetische-diagnostik/methoden/mlpa/>.
- Kashima, T., Manley, J.-L. (2003). A negative element in SMN2 exon 7 inhibits splicing in spinal muscular atrophy. *Nature Genetics*, 34, 4, S. 460-463. PMID: 12833158.
- Kashima, T., Rao, N., David, C.-J., Manley, J.-L. (2007). hnRNP A1 functions with specificity in repression of SMN2 exon 7 splicing. *Human Molecular Genetics*, 16, 24, S. 3149-3159. PMID: 17884807.
- Kleinle, S., Scholz, V., Benet-Pagés, A., Wohlfrom, T., Gehling, S., Scharf, F., Rost, S., Prott, E.-C., Grinzinger, S., Hotter, A., Haug, V., Niemeier, S., Wiethoff-Ubrig, L., Hagenacker, T., Goldhahn, K., von Moers, A., Walter, M.-C., Reilich, P., Eggermann, K., Kraft, F., Kurth, I., Erdmann, H., Holinski-Feder, E., Neuhann, T., Abicht, A. (2023). Closing the Gap - Detection of 5q-Spinal Muscular Atrophy by Short-Read Next-Generation Sequencing and Unexpected Results in a Diagnostic Patient Cohort. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 10, 5, S. 835-846. PMID: 37424474.
- klinikeugin.de (2021). Wie die Präimplantationsdiagnostik helfen kann. Abgerufen am 03.03.2025 von <https://www.klinikeugin.de/wie-die-praeimplantationsdiagnostik-helfen-kann/>.
- Kölbel, H., Müller-Felber, W. (2020). S1-Leitlinie: Spinale Muskelatrophie (SMA), Diagnostik und Therapie. Abgerufen am 14.04.2024 von <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/022-030>.
- Königshofer, L. (2018). Pharmazeutische Aspekte der proximalen Spinalen Muskelatrophie, Diplomarbeit an der naturwissenschaftlichen Fakultät der Karl-Franzens-Universität Graz. Abgerufen am 11.02.2025 von <https://unipub.uni-graz.at/obvugrhs/content/titleinfo/3140289/full.pdf>.
- Lefebvre, S., Bürglen, L., Reboullet, S., Clermont, O., Burlet, P., Viollet, L., Benichou, B., Cruaud, C., Millasseau, P., Zeviani, M., et al. (1995).

- Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*, 80, 1, S. 155-165. PMID: 7813012.
- Lefebvre, S., Burlet, P., Liu, Q., Bertrand, S., Clermont, O., Munnich, A., Dreyfuss, G., Melki, J. (1997). Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nature Genetics*, 16, 3, S. 265-269. PMID: 9207792.
- Lefebvre, S., Burlet, P., Viollet, L., Bertrand, S., Huber, C., Belser, C., Munnich, A. (2002). A novel association of the SMN protein with two major non-ribosomal nucleolar proteins and its implication in spinal muscular atrophy. *Human Molecular Genetics*, 11, 9, S. 1017-1027. PMID: 11978761.
- Liu, Q., Dreyfuss, G. (1996). A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *The EMBO Journal*, 15, 14, S. 3555-3565. PMID: 8670859.
- Liu, Q., Fischer, U., Wang, F., Dreyfuss, G. (1997). The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN, and its associated protein SIP1 are in a complex with spliceosomal snRNP proteins. *Cell*, 90, 6, S. 1013-1021. PMID: 9323129.
- Long, J., Cui, D., Yu, C., Meng, W. (2024). Evaluating the clinical efficacy of a long-read sequencing-based approach for carrier screening of spinal muscular atrophy. *Human Genomics*, 18, 1, S. 110. PMID: 39343938.
- Lorson, C.-L., Strasswimmer, J., Yao, J.-M., Baleja, J.-D., Hahnen, E., Wirth, B., Le, T., Burghes, A.-H., Androphy, E.-J. (1998). SMN oligomerization defect correlates with spinal muscular atrophy severity. *Nature Genetics*, 19, 1, S. 63-66. PMID: 9590291.
- Lorson, C.-L., Hahnen, E., Androphy, E.-J., Wirth, B. (1999). A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 11, S. 6307-6311. PMID: 10339583.
- Lorson, C.-L., Androphy, E.-J. (2000). An exonic enhancer is required for inclusion of an essential exon in the SMA-determining gene SMN. *Human Molecular Genetics*, 9, 2, S. 259-265. PMID: 10607836.
- Lunn, M.-R., Wang, C.-H. (2008). Spinal muscular atrophy. *Lancet*, 371, 9630, S. 2120-2133. PMID: 18572081.
- Malatesta, M., Scassellati, C., Meister, G., Plöttner, O., Bühler, D., Sowa, G., Martin, T.-E., Keidel, E., Fischer, U., Fakan, S. (2004). Ultrastructural characterisation of a nuclear domain highly enriched in survival of motor neuron (SMN) protein. *Experimental Cell Research*, 292, 2, S. 312-321. PMID: 14697339.
- McGowan-Jordan, J., Hastings, R.-J., Moore, S. (2020). ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature. Reprint of ,Cytogenetic and Genome Research 2020, 160, 7-8', o.S..
- medicover-diagnostics.de (2024). Präimplantationsdiagnostik (PID) & Polkörperdiagnostik (PKD). Abgerufen am 03.03.2025 von

<https://www.medicover-diagnostics.de/leistungsverzeichnis/humangenetik/praimplantationsdiagnostik-pid-und-polkorperdiagnostik-pkd>.

medmedia.at (2023). Hoffnung für Patient:innen mit spinaler Muskelatrophie. Abgerufen am 03.03.2025 von <https://www.medmedia.at/aerztekrone/hoffnung-fuer-patientinnen-mit-spinaler-muskelatrophie/>.

meduniwien.ac.at (2022). Neugeborenen-Screening: Erweiterung erfolgreich umgesetzt. Untersuchung auf spinale Muskelatrophie (SMA) und angeborene Immundefekte (SCID). Abgerufen am 17.12.2024 von <https://www.meduniwien.ac.at/web/ueber-uns/news/news-im-juni-2022/neugeborenen-screening-erweiterung-erfolgreich-umgesetzt/>.

Mercuri, E., Finkel, R.-S., Muntoni, F., Wirth, B., Montes, J., Main, M., Mazzone, E.-S., Vitale, M., Snyder, B., Quijano-Roy, S., Bertini, E., Davis, R.-H., Meyer, O.-H., Simonds, A.-K., Schroth, M.-K., Graham, R.-J., Kirschner, J., Iannaccone, S.-T., Crawford, T.-O., Woods, S., Qian, Y., Sejersen, T.; SMA Care Group. (2018a). Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *Neuromuscular Disorders*, 28, 2, S. 103-115. PMID: 29290580.

Mercuri, E., Darras, B.-T., Chiriboga, C.-A., Day, J.-W., Campbell, C., Connolly, A.-M., Iannaccone, S.-T., Kirschner, J., Kuntz, N.-L., Saito, K., Shieh, P.-B., Tulinius, M., Mazzone, E.-S., Montes, J., Bishop, K.-M., Yang, Q., Foster, R., Gheuens, S., Bennett, C.-F., Farwell, W., Schneider, E., De Vivo, D.-C., Finkel, R.-S.; CHERISH Study Group. (2018b). Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. *The New England Journal of Medicine*, 378, 7, S. 625-635. PMID: 29443664.

Mercuri, E., Pera, M.-C., Scoto, M., Finkel, R., Muntoni, F. (2020). Spinal muscular atrophy - insights and challenges in the treatment era. *Nature Reviews Neurology*, 16, 12, S. 706-715. PMID: 33057172.

Mercuri, E., Sumner, C.-J., Muntoni, F., Darras, B.-T., Finkel, R.-S. (2022). Spinal muscular atrophy. *Nature Reviews Disease Primers*, 8, 1, S. 52. PMID: 35927425.

mgz-muenchen.de (o. J.). SMA Diagnostik. Abgerufen am 10.03.2025 von <https://www.mgz-muenchen.de/aktuell-details/sma-diagnostik.html>.

Milligan, J.-N., Blasco-Pérez, L., Costa-Roger, M., Codina-Solà, M., Tizzano, E.-F. (2022). Recommendations for Interpreting and Reporting Silent Carrier and Disease-Modifying Variants in SMA Testing Workflows. *Genes (Basel)*, 13, 9, S. 1657. PMID: 36140824.

MRC Holland (2022). MLPA® Allgemeines Protokoll Gebrauchsanweisung. MDP Version-008-DE1.

mrcholland.com (o. J.). Principle of MLPA. Abgerufen am 13.12.2024 von <https://www.mrcholland.com/technology/mlpa/technique>.

Monani, U.-R., Lorson, C.-L., Parsons, D.-W., Prior, T.-W., Androphy, E.-J., Burghes, A.-H., McPherson, J.-D. (1999). A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the

copy gene SMN2. Human Molecular Genetics, 8, 7, S. 1177-1183. PMID: 10369862.

Monani, U.-R., Sendtner, M., Coover, D.-D., Parsons, D.-W., Andreassi, C., Le, T.-T., Jablonka, S., Schrank, B., Rossoll, W., Prior, T.-W., Morris, G.-E., Burghes, A.-H. (2000). The human centromeric survival motor neuron gene (SMN2) rescues embryonic lethality in *Smn(-/-)* mice and results in a mouse with spinal muscular atrophy. Human Molecular Genetics, 9, 3, S. 333-339. PMID: 10655541.

Müller-Felber, W., Vill, K., Schwartz, O., Blaschek, A., Nennstiel, U., Schara, U., Hoffmann, G.-F., Gläser, D., Becker, M., Röschinger, W., Bernert, G., Klein, A., Kölbl, H. (2024). Neugeborenen-Screening auf spinale Muskelatrophie. Monatsschrift Kinderheilkunde, 172, S. 595-600. Abgerufen am 14.08.2024 von <https://doi.org/10.1007/s00112-021-01165-1>.

muskelforschung.at (o. J.). Therapien. Abgerufen am 14.12.2024 von <https://www.muskelforschung.at/wissenschaft-forschung/therapien/>.

Nennstiel, U., Genzel-Boroviczény, O., Odenwald, B., (DGNS), Ensenaer, R., Rossi, R., Hoffmann, G.-F., Schäfer-Graf, U., Blankenstein, O., Streffing, J., Hammermann, J., Sommerburg, O., Schara-Schmidt, U., Müller-Felber, W., Lobitz, S., Speckmann, C., Hauck, F., Lawrenz, B. (2019). S2k-Leitlinie Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen, Endokrinopathien, schwere kombinierte Immundefekte (SCID), Sichelzellerkrankheit, 5q-assoziierte spinale Muskelatrophie (SMA) und Mukoviszidose. Abgerufen am 14.04.2024 von <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/024-012>.

Nishio, H., Niba, E.-T.-E., Saito, T., Okamoto, K., Takeshima, Y., Awano, H. (2023). Spinal Muscular Atrophy: The Past, Present, and Future of Diagnosis and Treatment. International Journal of Molecular Sciences, 24, 15, S. 11939. PMID: 37569314.

Novartis (2024). Zolgensma® RMP Leitfaden für Eltern und Betreuungspersonen, Version 3.0. Abgerufen am 17.12.2024 von https://www.pei.de/SharedDocs/schulungsmaterial/Zolgensma-Schulungsmaterial-Aerzte_Version-3_Leitfaden-Eltern.pdf?__blob=publicationFile&v=8.

Oehler, J.-B., Wright, H., Stark, Z., Mallett, A.-J., Schmitz, U. (2023). The application of long-read sequencing in clinical settings. Human Genomics, 17, 1, S. 73. PMID: 37553611.

orpha.net (2021a). Spinale Muskelatrophie, proximale, Typ 1. Abgerufen am 03.03.2025 von <https://www.orpha.net/de/disease/detail/83330>.

orpha.net (2021b). Spinale Muskelatrophie, proximale, Typ 3. Abgerufen am 03.03.2025 von <https://www.orpha.net/de/disease/detail/83419>.

Owusu, R., Savarese, M. (2023). Long-read sequencing improves diagnostic rate in neuromuscular disorders. Acta Myologica, 42, 4, S. 123-128. PMID: 38406378.

- Pellizzoni, L. (2007). Chaperoning ribonucleoprotein biogenesis in health and disease. *EMBO Reports*, 8, 4, S. 340-345. PMID: 17401408.
- Pellizzoni, L., Kataoka, N., Charroux, B., Dreyfuss, G. (1998). A novel function for SMN, the spinal muscular atrophy disease gene product, in pre-mRNA splicing. *Cell*, 95, 5, S. 615-624. PMID: 9845364.
- Poirier, A., Weetall, M., Heinig, K., Bucheli, F., Schoenlein, K., Alsenz, J., Bassett, S., Ullah, M., Senn, C., Ratni, H., Naryshkin, N., Paushkin, S., Mueller, L. (2018). Risdiplam distributes and increases SMN protein in both the central nervous system and peripheral organs. *Pharmacology Research & Perspectives*, 6, 6, S. e00447. PMID: 30519476.
- Prior, T.-W., Leach, M.-E., Finanger, E.-L. (2000). Spinal Muscular Atrophy. [Updated 2024 Sep 19]. In: Adam, M.-P., Feldman, J., Mirzaa, G.-M., et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA), University of Washington, 1993-2025. Abgerufen am 14.12.2024 von <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1352/>.
- Prior, T.-W., Krainer, A.-R., Hua, Y., Swoboda, K.-J., Snyder, P.-C., Bridgeman, S.-J., Burghes, A.-H., Kissel, J.-T. (2009). A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene. *American Journal of Human Genetics*, 85, 3, S. 408-413. PMID: 19716110.
- Qiu, J., Wu, L., Qu, R., Jiang, T., Bai, J., Sheng, L., Feng, P., Sun, J. (2022). History of development of the life-saving drug "Nusinersen" in spinal muscular atrophy. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16, S. 942976. PMID: 36035257.
- Roche Austria GmbH (2022). Spinale Muskelatrophie – Gut zu wissen. Abgerufen am 17.12.2024 von https://www.muskelforschung.at/wp-content/uploads/2022/05/Roche_SMA-Informationsbroschuere-1.pdf.
- roche.at (o. J.) Spinale Muskelatrophie. Abgerufen am 17.12.2024 von <https://www.roche.at/loesungen/fokus-bereiche/neurologie/spinale-muskelatrophie>.
- roche.de (o. J.) Spinale Muskelatrophie (SMA). Abgerufen am 17.12.2024 von <https://www.roche.de/patienten-betroffene/informationen-zu-krankheiten/spinale-muskelatrophie>.
- Roche Pharma AG (2021). Spinale Muskelatrophie – Gut zu wissen. Abgerufen am 17.12.2024 von https://www.facesma.de/fileadmin/user_upload/wissen/service/SMA_Broschuere.pdf.
- Rochette, C.-F., Gilbert, N., Simard, L.-R. (2001). SMN gene duplication and the emergence of the SMN2 gene occurred in distinct hominids: SMN2 is unique to Homo sapiens. *Human Genetics*, 108, 3, S. 255-266. PMID: 11354640.
- Roy, N., Mahadevan, M.-S., McLean, M., Shutler, G., Yaraghi, Z., Farahani, R., Baird, S., Besner-Johnston, A., Lefebvre, C., Kang, X., et al. (1995). The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in

- individuals with spinal muscular atrophy. *Cell*, 80, 1, S. 167-178. PMID: 7813013.
- Rudnik-Schöneborn, S., Zerres, K. (2017). Spinale Muskelatrophien. *Medizinische Genetik*, 29, S. 21-34. Abgerufen von <https://doi.org/10.1007/s11825-017-0129-3>.
- Salort-Campana, E., Quijano-Roy, S. (2020). Clinical features of spinal muscular atrophy (SMA) type 3 (Kugelberg-Welander disease). *Archives de Pédiatrie*, 27(7S), S. 7S23-7S28. PMID: 33357593.
- Schouten, J.-P., McElgunn, C.-J., Waaijer, R., Zwijnenburg, D., Diepvens, F., Pals, G. (2002). Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research*, 30, 12, S. e57. PMID: 12060695.
- Singh, N.-N., Androphy, E.-J., Singh, R.-N. (2004). In vivo selection reveals combinatorial controls that define a critical exon in the spinal muscular atrophy genes. *RNA Journal*, 10, 8, S. 1291-305. PMID: 15272122.
- Singh, R.-N., Howell, M.-D., Ottesen, E.-W., Singh, N.-N. (2017). Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochimica et Biophysica Acta Gene Regulatory Mechanisms*, 1860, 3, S. 299-315. PMID: 28095296.
- Souza, P.-V.-S., Pinto, W.-B.-V.-R., Ricarte, A., Badia, B.-M.-L., Seneor, D.-D., Teixeira, D.-T., Caetano, L., Gonçalves, E.-A., Chieia, M.-A.-T., Farias, I.-B., Bertini, E., Oliveira, A.-S.-B. (2021). Clinical and radiological profile of patients with spinal muscular atrophy type 4. *European Journal of Neurology*, 28, 2, S. 609-619. PMID: 33090613.
- Strasswimmer, J., Lorson, C.-L., Breiding, D.-E., Chen, J.-J., Le, T., Burghes, A.-H., Androphy, E.-J. (1999). Identification of survival motor neuron as a transcriptional activator-binding protein. *Human Molecular Genetics*, 8, 7, S. 1219-1226. PMID: 10369867.
- Sugarman, E.-A., Nagan, N., Zhu, H., Akmaev, V.-R., Zhou, Z., Rohlf, E.-M., Flynn, K., Hendrickson, B.-C., Scholl, T., Sirko-Osadsa, D.-A., Allitto, B.-A. (2012). Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *European Journal of Human Genetics*. 2012, 20, 1, S. 27-32. PMID: 21811307.
- Sun, Y., Kong, X., Zhao, Z., Zhao, X. (2020). Mutation analysis of 419 family and prenatal diagnosis of 339 cases of spinal muscular atrophy in China. *BMC Medical Genetics*, 21, 1, S. 133. PMID: 32552676.
- Tizzano, E.-F., Finkel, R.-S. (2017). Spinal muscular atrophy: A changing phenotype beyond the clinical trials. *Neuromuscular Disorders*, 27, 10, S. 883-889. PMID: 28757001.
- Tizzano, E.-F., Zafeiriou, D. (2018). Prenatal aspects in spinal muscular atrophy: From early detection to early presymptomatic intervention. *European Journal of Paediatric Neurology*, 22, 6, S. 944-950. PMID: 30219357.

- Verhaart, I.-E.-C., Robertson, A., Wilson, I.-J., Aartsma-Rus, A., Cameron, S., Jones, C.-C., Cook, S.-F., Lochmüller, H. (2017). Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 12, 1, S. 124. PMID: 28676062.
- Vezain, M., Saugier-veber, P., Goïna, E., Touraine, R., Manel, V., Toutain, A., Fehrenbach, S., Frébourg, T., Pagani, F., Tosi, M., Martins, A. (2010). 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. *Human Mutation*, 31, 1, S. 1110-1125. PMID: 19953646.
- Vidovic, M., Freigang, M., Aust, E., Linse, K., Petzold, D., Günther, R. (2023). Cognitive performance of adult patients with SMA before and after treatment initiation with nusinersen. *BMC Neurology*, 23, 1, S. 216. PMID: 37280513.
- Vijzelaar, R., Snetselaar, R., Clausen, M., Mason, A.-G., Rinsma, M., Zegers, M., Molleman, N., Boschloo, R., Yilmaz, R., Kuilboer, R., Lens, S., Sulchan, S., Schouten, J. (2019). The frequency of SMN gene variants lacking exon 7 and 8 is highly population dependent. *PLOS One*, 14, 7, S.e0220211. PMID: 31339938.
- Walter, M.-C., Wenninger, S., Thiele, S., Stauber, J., Hiebeler, M., Greckl, E., Stahl, K., Pechmann, A., Lochmüller, H., Kirschner, J., Schoser, B. (2019). Safety and Treatment Effects of Nusinersen in Longstanding Adult 5q-SMA Type 3 - A Prospective Observational Study. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 6, 4, S. 453-465. PMID: 31594243.
- Wan, L., Battle, D.-J., Yong, J., Gubitz, A.-K., Kolb, S.-J., Wang, J., Dreyfuss, G. (2005). The survival of motor neurons protein determines the capacity for snRNP assembly: biochemical deficiency in spinal muscular atrophy. *Molecular and Cellular Biology*, 25, 13, S. 5543-5551. PMID: 15964810.
- Wang, C.-H., Finkel, R.-S., Bertini, E.-S., Schroth, M., Simonds, A., Wong, B., Aloysius, A., Morrison, L., Main, M., Crawford, T.-O., Trela, A.; Participants of the International Conference on SMA Standard of Care. (2007). Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *Journal of Child Neurology*, 22, 8, S. 1027-1049. PMID: 17761659.
- Wang, N., Jiao, K., He, J., Zhu, B., Cheng, N., Sun, J., Chen, L., Chen, W., Gong, L., Qiao, K., Xi, J., Wu, Q., Zhao, C., Zhu, W. (2024). Diagnosis of Challenging Spinal Muscular Atrophy Cases with Long-Read Sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 26, 5, S. 364-373. PMID: 38490302.
- Wirth, B. (2000). An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (SMN1) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Human Mutation*, 15, 3, S. 228-237. PMID: 10679938.
- Wirth, B. (2021). Spinal Muscular Atrophy: In the Challenge Lies a Solution. *Trends in Neurosciences*, 44, 4, S. 306-322. PMID: 33423791.
- Wirth, B., Schmidt, T., Hahnen, E., Rudnik-Schöneborn, S., Krawczak, M., Müller-Myhsok, B., Schönling, J., Zerres, K. (1997). De novo rearrangements

- found in 2% of index patients with spinal muscular atrophy: mutational mechanisms, parental origin, mutation rate, and implications for genetic counseling. *The American Journal of Human Genetics*, 61, 5, S. 1102-1111. PMID: 9345102.
- Wirth, B., Brichta, L., Schrank, B., Lochmüller, H., Blick, S., Baasner, A., Heller, R. (2006). Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased SMN2 copy number. *Human Genetics*, 119, 4, S. 422-428. PMID: 16508748.
- Wirth, B., Karakaya, M., Kye, M.-J., Mendoza-Ferreira, N. (2020). Twenty-Five Years of Spinal Muscular Atrophy Research: From Phenotype to Genotype to Therapy, and What Comes Next. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 21, S. 231-261. PMID: 32004094.
- Workman, E., Kolb, S.-J., Battle, D.-J. (2012). Spliceosomal small nuclear ribonucleoprotein biogenesis defects and motor neuron selectivity in spinal muscular atrophy. *Brain Research*, 1462, S. 93-99. PMID: 22424789.
- Yeo, C.-J.-J., Tizzano, E.-F., Darras, B.-T. (2024). Challenges and opportunities in spinal muscular atrophy therapeutics. *The Lancet Neurology*, 23, 2, S. 205-218. PMID: 38267192.
- Young, P.-J., Le, T.-T., thi Man, N., Burghes, A.-H., Morris, G.-E. (2000). The relationship between SMN, the spinal muscular atrophy protein, and nuclear coiled bodies in differentiated tissues and cultured cells. *Experimental Cell Research*, 256, 2, S. 365-374. PMID: 10772809.
- Zhang, Y., He, J., Zhang, Y., Li, L., Tang, X., Wang, L., Guo, J., Jin, C., Tighe, S., Zhang, Y., Zhu, Y., Zhu, B. (2020). The analysis of the association between the copy numbers of survival motor neuron gene 2 and neuronal apoptosis inhibitory protein genes and the clinical phenotypes in 40 patients with spinal muscular atrophy: Observational study. *Medicine*, 99, 3, S. 18809. PMID: 32011487.
- Zichner, L. (2003). *Orthopädie und Orthopädische Chirurgie: Systemerkrankungen*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG.
- Ziegler, A., Wilichowski, E., Schara, U., Hahn, A., Müller-Felber, W., Johannsen, J., von der Hagen, M., von Moers, A., Stoltenburg, C., Saffari, A., Walter, M.-C., Husain, R.-A., Pechmann, A., Köhler, C., Horber, V., Schwartz, O., Kirschner, J. (2020). Handlungsempfehlungen zur Gentherapie der spinalen Muskelatrophie mit Onasemnogene Apeparvovec – AVXS-101 : Konsensuspapier der deutschen Vertretung der Gesellschaft für Neuropädiatrie (GNP) und der deutschen Behandlungszentren unter Mitwirkung des Medizinisch-Wissenschaftlichen Beirates der Deutschen Gesellschaft für Muskelkranke (DGM) e. V [Recommendations for gene therapy of spinal muscular atrophy with onasemnogene abeparvovec-AVXS-101 : Consensus paper of the German representatives of the Society for Pediatric Neurology (GNP) and the German treatment centers with collaboration of the medical scientific advisory board of the German Society for Muscular Diseases (DGM)]. *Nervenarzt*, 91, 6, S. 518-529. PMID: 32394004.

Zierz, S., Jerusalem, F. (2003). Muskelerkrankungen (3. Auflage). Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG.