Ассоциация носительства полиморфизмов rs206787 и rs516535 гена *BRD2* и rs3743123 гена *GJD2* с юношеской миоклонической эпилепсией у пациентов европейского происхождения в Сибири

Шилкина О.С.¹, Шнайдер Н.А.^{1,2}, Зобова С.Н.^{1,3}, Дмитренко Д.В.¹, Москалева П.В.²

¹ФГБОУ «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия; ²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; ³ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия
¹660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1; ²192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 3;
³660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г

В последние годы активно изучается генетика юношеской миоклонической эпилепсии (ЮМЭ), установлена ассоциация ЮМЭ с носительством полиморфных аллельных вариантов генов *BRD2* (локус *EJM3*) и *GJD2* (локус *EJM2*).

Цель исследования — установить факторы риска развития ЮМЭ с учетом генетической предрасположенности на основании изучения носительства полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена *BRD2* и rs3743123 гена *GJD2*.

Пациенты и методы. Обследовано 79 пациентов с ЮМЭ и 150 здоровых добровольцев европейского происхождения, жителей Сибирского федерального округа, у которых определяли носительство однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) rs206787 и rs516535 гена *BRD2* и rs3743123 гена *GJD2* с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. В 2003 г. американскими учеными из Нью-Йорка показано, что в гене *BRD2* могут быть локализованы аллели, ассоциированные с развитием ЮМЭ с аутосомно-рецессивным типом наследования. Предполагается аутосомно-доминантный тип наследования мутаций гена *BRD2* у больных ЮМЭ. Британскими учеными в различных популяциях выявлена ассоциация ОНП rs3918149 и не обнаружена связь rs206787 гена *BRD2* с развитием ЮМЭ у европейцев, а также установлено неравное сцепление локусов гена *BRD2*.

В нашем исследовании установлены полное неравновесное сцепление между локусами у пациентов с ЮМЭ и у здоровых людей и отсутствие ассоциации носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* с развитием ЮМЭ у пациентов, проживающих в Сибирском федеральном округе ($p > 0,05$).

Немецкими учеными исследовано влияние ОНП гена *BRD2* на предрасположенность к фотопароксизмальному ответу у больных с ЮМЭ/генетической генерализованной эпилепсией. В нашем исследовании показана ассоциация носительства гаплотипа ТТ/ТТ по ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* с фотопароксизмальной реакцией у пациентов с ЮМЭ (отношение шансов, ОШ 3,6; 95% доверительный интервал, ДИ 1,37–9,48; $p = 0,02$).

Нами подтверждено, что в исследуемой выборке носительство аллеля Т гена *GJD2* (rs3743123) в гомозиготной форме ассоциировано с развитием ЮМЭ у пациентов европейского происхождения, проживающих в СФО, и является фактором риска возникновения ЮМЭ (ОШ 2,66; 95% ДИ 1,24–5,74; $p = 0,04$). Клинически значимая ассоциация данного ОНП гена *GJD2* с развитием ЮМЭ ранее также была продемонстрирована в двух независимых исследованиях, проведенных в европейской популяции в Великобритании и Германии. Наблюдается увеличение доли гомозигот у больных с ЮМЭ по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о том, что рассматриваемый аллель 588Т повышает риск ЮМЭ в гомозиготном состоянии при аутосомно-рецессивном типе наследования.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о необходимости генотипирования пациентов с ЮМЭ европейского происхождения, проживающих на территории Сибири, для выявления носительства гаплотипа ТТ/ТТ по исследованным ОНП гена *BRD2* (локус *EJM3*) и носительства аллеля Т (rs3743123) гена *GJD2* с позиции персонализированного подхода к прогнозированию течения ЮМЭ, а также для определения лиц группы риска развития ЮМЭ вотяженных по этому заболеванию семьях.

Ключевые слова: юношеская миоклоническая эпилепсия; генетика; *BRD2*; *GJD2*; однонуклеотидный полиморфизм; гаплотип; фотосенситивность.

Контакты: Наталья Алексеевна Шнайдер; nataliashnayder@gmail.com

Для ссылки: Шилкина ОС, Шнайдер НА, Зобова СН и др. Ассоциация носительства полиморфизмов rs206787 и rs516535 гена *BRD2* и rs3743123 гена *GJD2* с юношеской миоклонической эпилепсией у пациентов европейского происхождения в Сибири. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2019;11(4):61–67.

Association of the carriage of BRD2 rs206787 and rs516535 and GJD2 rs3743123 polymorphisms with juvenile myoclonic epilepsy in Caucasian patients of Siberia

Shilkina O.S.¹, Shnayder N.A.^{1,2}, Zobova S.N.^{1,3}, Dmitrenko D.V.¹, Moskaleva P.V.²

¹Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, Krasnoyarsk, Russia;

²V.M. Bekhterev National Medical Research Center of Psychiatry and Neurology, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia;

³Research Institute of Medical Problems of the North (Separate Subdivision), Federal Research Center «Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences», Krasnoyarsk, Russia

¹1, Partisan Zheleznyak St., Krasnoyarsk 660022; ²3, Bekhterev St., Saint Petersburg 192019; ³3G, Partisan Zheleznyak St., Krasnoyarsk 660022

In recent years, the genetics of juvenile myoclonic epilepsy (JME) has been actively studied; the association of JME with the carriage of polymorphic allelic variants of the *BRD2* (*EJM3* locus) and *GJD2* (*EJM2* locus) genes has been established.

Objective: to establish risk factors for JME in terms of a genetic predisposition; specifically, polymorphic allelic variants rs206787 and rs516535 in the *BRD2* gene and rs3743123 in the *GJD2* gene.

Patients and methods: Examinations were made in 79 patients with JME and in 150 healthy volunteers, who were Caucasian and resided in the Siberian Federal District (SFD) and underwent determination of the carriage of single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs206787 and rs516535 in the *BRD2* gene and rs3743123 in the *GJD2* gene by real-time polymerase chain reaction.

Results and discussion. In 2003, American scientists from New York showed that the alleles associated with the development of JME with an autosomal recessive inheritance pattern might be located in the *BRD2* gene. Patients with JME are assumed to have an autosomal dominant inheritance pattern of mutations in the *BRD2* gene. British scientists revealed that different populations were found to have an association of SNP rs3918149 and no relationship of *BRD2* rs206787 to the development of JME in Caucasians, as well as ascertained local linkage disequilibrium in the *BRD2* gene.

Our investigation has established complete linkage disequilibrium between the loci in patients with JME and in healthy individuals and no association of the carriage of SNPs rs206787 and rs516535 in the *BRD2* gene with the development of JME in the patients residing in the SFD ($p > 0.05$). German scientists studied the impact of SNP in the *BRD2* gene on a predisposition to a photoparoxysmal response in patients with JME/genetic generalized epilepsy. Our investigation has indicated the association of the carriage of TT/TT haplotype for SNP rs206787 and rs516535 in the *BRD2* gene with a photoparoxysmal response in patients with JME (odds ratio (OR), 3.6; 95% confidence interval (CI), 1.37–9.48; $p=0.02$).

We have confirmed that in the studied sample, the carriage of the T allele in the *GJD2* gene (rs3743123) in the homozygous form is associated with the development of JME in Caucasian patients residing in the SFD and is a risk factor for JME (OR, 2.66; 95% CI, 1.24–5.74; $p=0.04$). The clinically significant association of this SNP in the *GJD2* gene with the development of JME had been also previously demonstrated in two independent studies conducted in the European populations in the UK and Germany. There is a rise in the proportion of homozygotes in JME patients versus the control group, suggesting that the 588T allele under consideration increases the risk for JME in the homozygous state in the autosomal recessive inheritance pattern.

Conclusion. The findings suggest that it is necessary to genotype Caucasian patients with JME, who reside in Siberia, for determination of the carriage of the TT/TT haplotype in terms of the investigated SNPs in the *BRD2* gene (*EJM3* locus) and the carriage of the T allele (rs3743123) in the *GJD2* gene via a personalized approach to predicting the course of JME, as well as for identification of persons at risk for JME in the families having a history of this disease.

Keywords: juvenile myoclonic epilepsy; genetics; *BRD2*; *GJD2*; single nucleotide polymorphisms; haplotype; photosensitivity.

Contact: Natalia Alekseevna Snayder; nataliashnayder@gmail.com

For reference: Shilkina OS, Shnayder NA, Zbova SN, et al. Association of the carriage of *BRD2* rs206787 and rs516535 and *GJD2* rs3743123 polymorphisms with juvenile myoclonic epilepsy in Caucasian patients of Siberia. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika* = *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2019;11(4):61–67.

DOI: 10.14412/2074-2711-2019-4-61-67

На долю юношеской миоклонической эпилепсии (ЮМЭ) приходится 5–10% всех случаев эпилепсии у детей и подростков и 20–27% всех форм генетической генерализованной эпилепсии (ГГЭ) [1–3]. В рамках ЮМЭ наблюдаются вариабельные фенотипы [4, 5], что, высоко вероятно, генетически детерминировано. Носительство определенных локусов может определять тип течения данной формы эпилепсии [6], включая эволюцию эпилептических синдромов [7]. Согласно гипотезе D.A. Greenberg и соавт. (1992), наиболее вероятно двухлокусная модель наследования ЮМЭ, когда один ген наследуется доминантно, а другой — рецессивно [8], однако эта гипотеза дискутируется.

К 2013 г. были идентифицированы 5 мутаций генов с менделевским (аутосомно-доминантным) типом наследования, включая гены *CACNB4*, *CASR*, *GABRA1*, *GABRD* и *Myoclonin1/EFHC1*. Кроме того, однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) в генах *BRD2*, *Cx-36* и *ME2*, а также микроделеции на хромосомах 15q13.3, 15q11.2 и 16p13.11 также признаны факторами риска развития ЮМЭ [9]. В настоящее время выделено 9 локусов ЮМЭ по данным медицин-

ской базы данных MIM (Mendelian Inheritance in Man — менделевское наследование у человека), названных *EJM1*, *EJM2*...*EJM9*. [10], однако на фоне бурного развития медицинской генетики число описанных локусов увеличивается. Так, в 2006 г. A.V. Delgado-Escueta [11] предложил выделять 11 локусов ЮМЭ [6].

Ген *Cx36* (*GJD2*), расположенный на хромосоме 15q14, кодирует белок канала щелевого клеточного контакта — коннексина 36. Щелевые контакты позволяют проходить ионам, вторичным мессенджерам и малым метаболитам от нейрона к нейрону и служат структурной основой электрического синапса. Показана важность опосредованной связи щелевых контактов в синхронной деятельности нейронных популяций и гамма-колебаний, которые, как считается, лежат в основе ряда когнитивных процессов и эпилептогенеза [12]. Мутации в гене *Cx36* (*GJD2*) относят ко 2-му локусу ЮМЭ (*EJM2*) [6].

Ген *BRD2* (*bromodomain-containing protein 2*) локализован на хромосоме 6p21.3. Его роль изучена недостаточно, но на животной модели показано, что у нокаутных мышей про-

исходит нарушение формирования невралной трубки и головного мозга на ранних стадиях эмбриогенеза, а гетерозиготное носительство мутаций в гене *BRD2* повышает риск эпилептогенеза. Это убедительно продемонстрировано на животной модели со стимуляцией судорожных приступов пентилентетразолом и флуротилом при нормальном развитии головного мозга [6, 13, 14]. Однако в последние годы в ряде исследований установлено, что у гетерозиготных носителей мутаций в гене *BRD2* отмечается anomальное развитие фронтальной коры с 50% снижением числа парвальбумин-иммунодепозитных интернейронов [15]. Микроструктурные изменения головного мозга и дефицит ингибиторных нейронов при гетерозиготных мутациях в гене *BRD2* могут быть обусловлены anomальной миграцией или ранним апоптозом этих нейронов, что впоследствии приводит к возникновению ЮМЭ как самостоятельной причины или при наличии и других мутаций в генах, ответственных за развитие данного фенотипа эпилепсии. В частности, в качестве причинных рассматриваются мутации гена α_1 -субъединицы натриевых каналов — *SCN1A* [14]. Мутации в гене *BRD2* относятся к 3-му локусу ЮМЭ (*EJM3*) [6].

Цель исследования — установить факторы риска развития ЮМЭ с учетом генетической предрасположенности на основании исследования носительства полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена *BRD2* и rs3743123 гена *GJD2*.

Пациенты и методы. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 65/2015).

Включение пациентов с ЮМЭ и здоровых добровольцев в настоящее исследование осуществлялось после подписания ими или их законными представителями добровольного информированного согласия. Исследование спланировано и проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Общая выборка включала 229 жителей Сибирского федерального округа (СФО) европейского происхождения. В основную группу вошли пациенты с ЮМЭ. **Критерии включения** в основную группу: больные с ЮМЭ всех возрастных категорий, жители СФО, соблюдение протокола настоящего исследования. **Критерия исключения** из основной группы: пациенты со структурной эпилепсией, другими формами генетической эпилепсии, неуточненной эпилепсией и эпилептическими синдромами; жители других регионов России; низкий комплаенс пациентов или их законных представителей.

В контрольную группу вошли здоровые добровольцы. **Критерии включения** в контрольную группу: здоровые люди всех возрастных групп; жители СФО; соблюдение протокола настоящего исследования. **Критерии исключения** из контрольной группы: пациенты с эпилепсией и субклиническими пароксизмальными изменениями на электроэнцефалограмме; жители других регионов России; низкий комплаенс пациентов или их законных представителей.

В исследовании частоты носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* участвовали 79 пациентов с ЮМЭ (основная группа) и 115 здоровых добровольцев (контрольная группа). В исследование частоты носительства ОНП rs3743123 гена *Cx-36* (*GJD2*) включено 79 пациентов с ЮМЭ (основная группа) и 150 здоровых добровольцев (контрольная группа).

Определение носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* на хромосоме 6p21 и rs3743123 гена *GJD* на хромосоме 15q14 осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием диагностического оборудования Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science, Австралия) и технологии аллельной дискриминации TaqMan и флуоресцентных зондов (Applied Biosystems, США).

У пациентов в асептических условиях брали кровь из кубитальной вены в объеме 10 мл в вакуумные пробирки IMPROVACUTER (Guangzhou Improve Medical Instruments, Китай), содержащие 0,5 М раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Выделение геномной ДНК из 0,1 мл взвеси лейкоцитов осуществляли сорбционным методом с помощью набора «ДНК-Сорб-В» (103-20, «АмплиПрайм», Россия) согласно инструкции производителя. К 100 мкл лейкоцитарной взвеси, перенесенной в пробирку объемом 1,5 мл типа «Эппендорф» с замком, добавляли 300 мкл лизирующего раствора, после чего инкубировали при комнатной температуре 10 мин. В каждую пробирку вносили по 25 мкл универсального сорбента, перемешивали с использованием центрифуги-вортекса Multi-Spin MSC-6000 (BioSan, Латвия), для связывания ДНК с сорбентом инкубировали в штативе в течение 2 мин при комнатной температуре и повторяли процедуру, увеличив инкубацию до 5 мин. Универсальный сорбент осаждали на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) в течение 30 с при скорости вращения 5000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли с помощью медицинского отсасывателя (ОМ-1, Россия) отдельным наконечником для каждого образца во избежание контаминации. Для очищения универсального сорбента от клеточных дериватов в каждую пробирку вносили по 300 мкл раствора для отмывки №1, тщательно перемешивали с помощью центрифуги-вортекса и осаждали путем центрифугирования в течение 30 с при скорости 5000 об/мин, супернатант удаляли отсасывателем, используя отдельный наконечник для каждого образца. Процедуру отмывки повторяли двукратно, внося по 500 мкл раствора для отмывки №2 в каждую пробирку, центрифугировали 30 с при скорости вращения 10 000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли из каждой пробы отдельным наконечником.

Для подсушивания универсального сорбента пробирки с открытой крышкой помещали в термостат ТЕРМО 24-15 (Biokom, Россия) на 10 мин при температуре 65 °С. Для элюирования ДНК в пробирки добавляли по 50 мкл ТЕ-буфера, ресуспендировали и инкубировали в термостате в течение 5 мин при температуре 65 °С, периодически встряхивая на вортексе. Для удаления освобожденного от ДНК сорбента пробирки центрифугировали 1 мин при скорости вращения 12 000 об/мин.

Надосадочную жидкость, содержащую ДНК, переносили в чистые маркированные пробирки и хранили при температуре -20 °С.

Для обозначения вариантов генотипов ОНП rs516535 гена *BRD2* были приняты обозначения: гомозиготный высокопродуцирующий генотип — ТТ (тимин/тимин), гетерозиготный генотип — СТ (цитозин/тимин), гомозиготный генотип по низкопродуцирующему аллелю — СС (цитозин/цитозин). Варианты генотипов полиморфизма rs206787 гена *BRD2* были обозначены следующим образом: гомозиготный генотип по высокопродуцирующему аллелю — ТТ

Таблица 1. Частота носительства аллелей полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена BRD2 в основной и контрольной группах

Аллель rs206787	Аллель rs516535	Основная группа (n=79)	Контрольная группа (n=115)	χ^2	p	ОШ абс.	95% ДИ
A	C	0,380	0,352	0,31	0,58	1,13	0,74–1,71
T	T	0,620	0,648			0,89	0,58–1,35

Таблица 2. Частота носительства генотипов полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена BRD2 в основной и контрольной группах, n (%)

Генотип rs206787	Генотип rs516535	Основная группа (n=79)	Контрольная группа (n=115)	χ^2	p	ОШ абс.	95% ДИ
AA	CC	9 (11,4)	10 (8,7)	0,45	0,8	1,35	0,52–3,49
AT	CT	42 (53,2)	61 (53,0)			1,00	0,57–1,78
TT	TT	28 (35,4)	44 (38,3)			0,89	0,49–1,61

(тимин/тимин), гетерозиготный генотип – АТ (аденин/тимин), гомозиготный генотип по низкопродуцирующему аллелю – АА (аденин/аденин). Генотипы ОНП rs3743123 гена *GJD* были обозначены как гомозиготный генотип по низкопродуцирующему аллелю – ТТ (тимин/тимин), гетерозиготный генотип – СТ (цитозин/тимин), гомозиготный генотип по высокопродуцирующему аллелю – СС (цитозин/цитозин).

По результатам исследования в программе Excel (Microsoft, США, 2013) была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакетов прикладных программ SPSS Statistics, версия 22.0 (IBM, США, 2013) и онлайн-калькулятора «Ген Эксперт» осуществлялся статистический анализ.

Результаты. Исследование частоты носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена BRD2. В основной группе было 27 (34,2%) лиц мужского пола и 52 (65,8%) женского пола, в контрольной группе – соответственно 31 (27,0%) и 84 (73,0%).

При исследовании частоты носительства изучаемых ОНП гена *BRD2* установлено, что полученные данные согласуются с законом Харди–Вайнберга в основной ($\chi^2=1,31$; $p=0,25$) и контрольной ($\chi^2=3,04$; $p=0,08$) группах. Таким образом, для оценки полученных результатов мы использовали две модели: мультипликативную (для оценки частоты аллелей) и общую (для оценки частоты генотипов).

При исследовании носительства ОНП rs206787 гена *BRD2* выявлено, что у лиц с ЮМЭ частота носительства аллеля Т составила 62,0%, в контрольной группе – 64,8% (отношение шансов, ОШ 0,89; 95% доверительный интервал, ДИ 0,58–1,35; $p=0,58$). Частота носительства аллеля А у лиц с ЮМЭ и лиц группы контроля составила соответственно 38% и 35,2% (ОШ 1,13; 95% ДИ 0,74–1,74; $p=0,58$; табл. 1).

Гомозиготный генотип ТТ у больных с ЮМЭ встречался в 35,4% случаев, в группе контроля – в 38,3% случаев. Частота носительства гетерозиготного генотипа АТ у больных ЮМЭ и лиц группы контроля была практически одинаковой: 53,2 и 53% соответственно ($p>0,05$). Гомозиготный генотип АА по полиморфизму rs206787 гена *BRD2* встречался у 11,4% лиц с ЮМЭ и у 8,7% лиц группы контроля (табл. 2).

При исследовании ОНП rs516535 гена *BRD2* получены идентичные результаты (см. табл. 1): частота носительства аллеля Т (rs516535) у больных ЮМЭ составила 62%, у лиц группы контроля – 64,8% (ОШ 0,89; 95% ДИ 0,58–1,35). Частота носительства аллеля С (rs516535) у пациентов с ЮМЭ и лиц группы контроля достигала соответственно 38 и 35,2% (ОШ 1,13; 95% ДИ 0,74–1,71).

Гомозиготный генотип по аллелю Т у больных ЮМЭ встречался в 35,4% случаев, в группе контроля – в 38,3%. Частота носительства гетерозиготного генотипа СТ у больных ЮМЭ и в группе контроля практически не различалась: 53,2 и 53% соответственно ($p>0,05$). Гомозиготный генотип по аллелю С rs516535 гена *BRD2* выявлен у 11,4% лиц с ЮМЭ и у 8,7% лиц в группе контроля (см. табл. 1).

Не выявлено статистически значимых различий в частоте носительства как аллелей ($\chi^2=0,31$; $p=0,58$), так и генотипов ($\chi^2=0,45$; $p=0,8$) ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* у пациентов с ЮМЭ и здоровых лиц.

Таким образом, носительство полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена *BRD2* статистически значимо не влияет на развитие ЮМЭ в исследуемой популяции ($p>0,05$), однако наблюдается полное неравновесное сцепление между локусами как у пациентов с ЮМЭ, так и у здоровых лиц.

При исследовании частоты носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* у мужчин и женщин отмечена тенденция к увеличению встречаемости гаплотипов с генотипами АА rs206787 и СС rs516535 у мужчин с ЮМЭ в сравнении с группой контроля, однако статистически значимых гендерных различий не выявлено ($p>0,05$; табл. 3). При исследовании гендерных особенностей носительства ОНП rs3743123 гена *GJD2* статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p>0,05$).

Выявлена ассоциация носительства гаплотипа ТТ/ТТ с фотосенсиitivностью у пациентов с ЮМЭ (ОШ 3,6; 95% ДИ 1,37–9,48; $p=0,02$; табл. 4). Носительство гаплотипа АТ/СТ не оказывает статистически значимого влияния на фотосенсиitivность (ОШ 0,47; 95% ДИ 0,19–1,17). Аналогичные результаты получены для гаплотипа АА/СС (ОШ 0,32; 95% ДИ 0,06–1,65).

Таблица 3. Частота носительства полиморфных аллельных вариантов rs206787 и rs516535 гена BRD2 в основной и контрольной группах у мужчин и женщин, n (%)

Генотип		Основная группа			Контрольная группа		
rs206787	rs516535	мужчины	женщины	всего	мужчины	женщины	всего
ТТ	ТТ	9 (33,3)	19 (36,5)	28 (35,4)	16 (51,6)	28 (33,3)	44 (38,3)
АТ	СТ	14 (51,9)	28 (53,8)	42 (53,2)	14 (45,2)	47 (56)	61 (53)
АА	СС	4 (14,8)	5 (9,6)	9 (11,4)	1 (3,2)	9 (10,7)	10 (8,7)

Таблица 4. Ассоциация гаплотипов гена BRD2 с фотосенситивностью у пациентов с ЮМЭ, n (%)

Генотип		Фотосенситивность	
rs 206787	rs 516535	наличие	отсутствие
ТТ	ТТ	18 (64,3)	10 (35,7)
АТ	СТ	15 (35,7)	27 (64,3)
АА	СС	2 (10,5)	7 (77,8)

Таблица 5. Частота носительства полиморфных аллельных вариантов rs3743123 гена GJD2 (CX-36) в основной и контрольной группах

Аллель	Основная группа (n=79)	Контрольная группа (n=150)	χ^2	p	ОШ	
					абс.	95% ДИ
С	0,582	0,667	3,19	0,07	0,70	0,47–1,04
Т	0,418	0,333			1,43	0,96–2,13

Таблица 6. Частота носительства генотипов полиморфных аллельных вариантов rs3743123 гена GJD2 (CX-36) в основной и контрольной группах, n (%)

Генотип	Основная группа (n=79)	Контрольная группа (n=150)	χ^2	p	ОШ	
					абс.	95% ДИ
СС	30 (38,0)	64 (42,7)	6,59	0,04	0,82	0,47–1,44
СТ	32 (40,5) 17 (21,5)	72 (48,0) 14 (9,3)			0,74 2,66	0,42–1,28 1,24–5,74
ТТ	17 (21,5)	14 (9,3)			2,66	1,24–5,74

Исследование частоты носительства ОНП rs3743123 гена CX-36 (GJD2). В основной группе было 27 (34,2%) лиц мужского пола и 52 (65,8%) женского, в контрольной группе – соответственно 38 (25,3%) и 112 (74,7%).

Было установлено устойчивое равновесие Харди–Вайнберга в двух сравниваемых группах: у больных ЮМЭ при исследовании носительства ОНП гена GJD2 (rs3743123) χ^2 составил 2,21 ($p=0,14$), в группе контроля – 0,96 ($p=0,33$). Таким образом, при соблюдении всех условий генетического равновесия в последующих поколениях можно наблюдать стабильное носительство генотипов ОНП гена GJD2. Устойчивое равновесие Харди–Вайнберга свидетельствует также о том, что данные могут быть проанализированы с помощью мультипликативной модели. Ассоциация генотипов с ЮМЭ оценивалась в общей модели исследования.

Частота носительства аллеля С у больных ЮМЭ составила 58,2%, у лиц группы контроля – 66,7% (ОШ 0,7; 95%

ДИ 0,47–1,04). Частота носительства аллеля Т у больных ЮМЭ и лиц группы контроля достигала соответственно 41,8 и 33,3% (ОШ 1,43; 95% ДИ 0,96–2,13). Не выявлено статистически значимых различий в частоте носительства аллелей ($\chi^2=3,19$; $p=0,07$; табл. 5).

Согласно результатам генотипирования, гомозиготный генотип СС у больных ЮМЭ встречался в 38% случаев, тогда как в группе контроля – в 42,7%. Наиболее высокая частота носительства гетерозиготного генотипа СТ (48%) отмечалась в группе контроля, у лиц с ЮМЭ этот показатель составил 40,5%. Выявлена отчетливая тенденция к увеличению доли носителей гомозиготного генотипа ТТ по полиморфизму rs3743123 гена GJD2 у лиц с ЮМЭ (21,5%) по сравнению с группой контроля (9,3%; табл. 6).

ОШ для гомозиготного генотипа по низкопродуцирующему аллелю Т составило 2,66 (95% ДИ 1,24–5,74), для гете-

Таблица 7. Частота носительства полиморфных аллельных вариантов rs3743123 гена *GJD2* у мужчин и женщин с ЮМЭ, n (%)

Показатель	СС			Генотип rs3743123 СТ			ТТ		
	мужчины	женщины	всего	мужчины	женщины	всего	мужчины	женщины	всего
Основная группа	9 (33,3)	21 (40,4)	30 (38,0)	14 (51,9)	18 (34,6)	32 (40,5)	4 (14,8)	13 (25,0)	17 (21,5)
Контрольная группа	16 (42,1)	48 (42,9)	64 (42,7)	18 (47,4)	54 (48,2)	72 (48,0)	4 (10,5)	10 (8,9)	14 (9,3)

розиготного генотипа СТ — 0,74 (95% ДИ 0,42–1,28), для гомозиготного генотипа СС — 0,82 (95% ДИ 0,47–1,44) (табл. 7).

Таким образом, носительство ОНП Т гена *GJD2* (rs3743123) в гомозиготной форме статистически значимо ассоциировано с развитием ЮМЭ в исследуемой популяции и является фактором риска возникновения ЮМЭ (ОШ 2,66; 95% ДИ 1,24–5,74; $p=0,04$).

Обсуждение. В 2003 г. D.K. Pal и соавт. [16] при изучении семей из Нью-Йорка показали, что в гене *BRD2* могут быть локализованы аллели, ассоциированные с развитием ЮМЭ с аутосомно-рецессивным типом наследования (ОШ 6,5). Была также установлена роль ОНП в промоторной области гена *BRD2*: сходный вариант гаплотипа выявлен более чем в 50% случаев у пробандов из различных семей, в связи с чем в настоящее время можно думать об аутосомно-доминантном типе наследования мутаций гена *BRD2* у больных ЮМЭ [6, 16, 17]. S. Lorenz и соавт. [18] исследовали влияние ОНП гена *BRD2* на предрасположенность к фотопароксизмальному ответу у больных с ЮМЭ/ГГЭ. Исходя из сильной нейробиологической ассоциации ЮМЭ и фотопароксизмальной реакции, было подтверждено, что они имеют общие epileptогенные пути, для которых *BRD2* мог бы быть основным геном предрасположенности. Позже G. Cavalleri [19] в различных популяциях выявил ассоциацию ОНП rs3918149 и не обнаружил связи rs206787 гена *BRD2* с развитием ЮМЭ у европейцев, а также установил неравновесное сцепление локусов гена *BRD2*.

Результаты проведенного нами молекулярно-генетического исследования носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* не показали ассоциации с развитием ЮМЭ в исследуемой популяции, что согласуется с данными D.K. Pal и D.A. Greenberg [15], также G. Cavalleri и соавт. [19]. Однако эти исследователи установили неравновесное сцепление локусов гена *BRD2*, что подтверждено и в нашей работе. Как и S. Lorenz и соавт. [18], выявившие ассоциацию 6 ОНП гена *BRD2* с предрасположенностью к фотопароксизмальному ответу, мы отметили связь носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* с фотосенситивностью у пациентов с ЮМЭ.

Работа выполнена в рамках комплексной темы научных исследований «Эпидемиологические, генетические и нейрофизиологические аспекты заболеваний центральной, периферической и вегетативной нервной системы и превентивная медицина» (руководитель — д.м.н., профессор Н.А. Шнайдер) №0120.0807480.

В 2004 г. С. Mas и соавт. [20] расшифровали ген *Cx-36* на хромосоме 15q14 у 29 больных с ЮМЭ в семьях из Великобритании и Швеции и не обнаружили мутаций, ассоциированных с развитием эпилепсии. Напротив, в исследовании случай-контроль выявлена клинически значимая ассоциация ОНП 588 С>Т в пределах 2-го экзона гена *Cx-36* с развитием ЮМЭ ($p=0,03$). A. Hempelmann и соавт. [21] повторно показали ассоциацию ОНП 588 С>Т (dbSNP: rs3743123, S196S) в гене *Cx-36* у 247 немецких пациентов с ЮМЭ и 621 здорового волонтера. Авторы наблюдали увеличение доли гомозигот (13,4%) у больных ЮМЭ по сравнению с контрольной группой (8,7%). Это свидетельствует о том, что рассматриваемый аллель 588Т повышает риск ЮМЭ в гомозиготном состоянии при аутосомно-рецессивном типе наследования. Предполагается, что некоторые ОНП (гена *BRD2* на хромосоме 6p21.3, гена *Cx-36* на хромосоме 15q14 и гена *ME2* на хромосоме 18) взаимодействуют как малые эпилептические гены в гомозиготном состоянии, но наследования одного из них недостаточно для развития того или иного фенотипа ЮМЭ [6, 21].

Нами подтверждено, что в исследуемой выборке носительство аллеля Т гена *Cx-36* (rs3743123) в гомозиготной форме ассоциировано с развитием ЮМЭ у пациентов европейского происхождения, проживающих в СФО, и является фактором риска возникновения ЮМЭ (ОШ 2,66; 95% ДИ 1,24–5,74; $p=0,04$). Клинически значимая ассоциация данного ОНП гена *Cx-36* с развитием ЮМЭ ранее также была продемонстрирована в двух независимых исследованиях, проведенных в европейской популяции в Великобритании и Германии [20, 21].

Заключение. Результаты нашего исследования указывают на необходимость генотипирования пациентов с ЮМЭ европейского происхождения, проживающих на территории Сибири, для выявления носительства гаплотипа ТТ/ТТ по ОНП гена *BRD2* (локус ЕJM 3) и носительства аллеля Т (rs3743123) гена *GJD2* с позиции персонифицированного подхода к прогнозированию течения ЮМЭ, а также для определения лиц группы риска развития ЮМЭ в отягощенных по этому заболеванию семьях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карлов ВА, Фрейдкова НВ. Юношеская миоклоническая эпилепсия. В кн.: Карлов ВА, редактор. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. Москва: Медицина; 2010. С. 244–8. [Karlov VA, Freidkova NV. Juvenile myoclonic epilepsy. In: Karlov VA, editor. *Epilepsiya u detei i vzroslykh zhenshchin i muzhchin* [Epilepsy in children and adults women and men]. Moscow: Meditsina; 2010. P. 244–8.].
2. Петрухин АС, Калинина ЛВ, Анпилогова ИЭ. Клинико-эпидемиологическая характеристика эпилепсии у детей, проживающих в Тульской области. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2004;83(6):101–3. [Petrukhin AS, Kalinina LV, Anpilogova IE. Clinical-epidemiological characteristics of epilepsy in children living in Tulska territory. *Pediatrics. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2004; 83(6):101–3. (In Russ.)].
3. Мухин КЮ. Юношеская миоклоническая эпилепсия (синдром Янца). В кн.: Мухин КЮ, Петрухин АС. Идиопатические формы эпилепсии: систематика, диагностика, терапия. Москва: Арт-Бизнес-Центр; 2000. С. 120–35. [Mukhin KYu. Juvenile myoclonic epilepsy (Jantz syndrome). In: Mukhin KYu, Petrukhin AS. *Idiopatichekie formy epilepsii: sistematika, diagnostika, terapiya* [Idiopathic forms of epilepsy: systematics, diagnosis, therapy]. Moscow: Art-Biznes-Tsentr; 2000. P. 120–35.].
4. Martinez-Juarez IE, Alonso ME, Medina MT, et al. Juvenile myoclonic epilepsy subtypes: family studies and long-term follow-up. *Brain*. 2006 May;129(Pt 5):1269–80. Epub 2006 Mar 6.
5. Shilkina OS, Petrov KV, Diuzhakova AV, et al. Frequency of juvenile myoclonic epilepsy phenotypes in Siberia. *World J Neurosci*. 2016; (6):32–6. doi:10.4236/wjns.2016.61004.
6. Шнайдер НА, Шилкина ОС, Петров КВ и др. Клинико-генетическая гетерогенность юношеской миоклонической эпилепсии. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2016;(2):20–36. [Shnaider NA, Shilkina OS, Petrov KV, et al. Clinical-genetics heterogeneity of juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya*. 2016;(2):20–36. (In Russ.)]. doi:10.17749/2077-8333.2016.8.2.020-036.
7. Белоусова ЕД. Генетика эпилепсии: зачем и как обследовать детей с эпилепсией. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2014;6(1S):4–8. [Belousova ED. Genetics of epilepsy: What for and how to examine children with epilepsy. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2014;6(1S):4–8. (In Russ.)]. doi:10.14412/2074-2711-2014-1S-4-8.
8. Greenberg DA, Stewart WC. How should we be searching for genes for common epilepsy? A critique and a prescription. *Epilepsia*. 2012 Sep;53 Suppl 4:72–80. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03616.x.
9. Delgado-Escueta AV, Koeleman BP, Bailey JN, et al. The quest for juvenile myoclonic epilepsy genes. *Epilepsy Behav*. 2013 Jul;28 Suppl 1:S52–7. doi: 10.1016/j.yebeh.2012.06.033.
10. Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.omim.org/>
11. Delgado-Escueta AV. Advances in genetics of juvenile myoclonic epilepsies. *Epilepsy Curr*. 2007 May-Jun;7(3):61–7. doi: 10.1111/j.1535-7511.2007.00171.x.
12. Bosco D, Haeffliger JA, Meda P. Connexins: key mediators of endocrine function. *Physiol Rev*. 2011 Oct;91(4):1393–445. doi: 10.1152/physrev.00027.2010.
13. Pal DK, Durner M, Klotz I, et al. Complex inheritance and parent-of-origin effect in juvenile myoclonic epilepsy. *Brain Dev*. 2006 Mar; 28(2):92–8. Epub 2006 Jan 18.
14. Shang E, Wang X, Wen D, et al. Double bromodomain-containing gene Brd2 is essential for embryonic development in mouse. *Dev Dyn*. 2009 Apr;238(4):908–17. doi: 10.1002/dvdy.21911.
15. Pal DK, Greenberg DA. Major susceptibility genes for common idiopathic epilepsies: ELP4 in Rolandic epilepsy and BRD2 in juvenile myoclonic epilepsy. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, et al, editors. *Source. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. 4th edition. Bethesda: National Center for Biotechnology Information; 2012.
16. Pal DK, Evgrafov OV, Tabares P, et al. BRD2 (RING3) is a probable major susceptibility gene for common juvenile myoclonic epilepsy. *Am J Hum Genet*. 2003 Aug;73(2): 261–70. Epub 2003 Jun 25. doi: 10.1086/377006.
17. De Kovel CG, Pinto D, de Haan GJ, et al. Association analysis of BRD2 (RING3) and epilepsy in a Dutch population. *Epilepsia*. 2007 Nov;48(11):2191–2. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01306.x.
18. Lorenz S, Taylor KP, Gehrmann A, et al. Association of BRD2 polymorphisms with photoparoxysmal response. *Neurosci Lett*. 2006 May 29;400(1–2):135–9. Epub 2006 Mar 3.
19. Cavalleri G. Haplotype mapping in epilepsy genetics and pharmacogenetics. University College London; 2013. <http://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/1445351>
20. Mas C, Taske N, Deutsch S, et al. Association of the connexin 36 gene with juvenile myoclonic epilepsy. *J Med Genet*. 2004 Jul; 41(7):e93.
21. Hempelmann A, Heils A, Sander T. Confirmatory evidence for an association of the connexin-36 gene with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Res*. 2006 Oct;71(2–3):223–8. Epub 2006 Jul 28.

Поступила 11.12.2018

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.