

На правах рукописи

Шилкина Ольга Сергеевна

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЮНОШЕСКОЙ
МИОКЛОНИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ**

14.01.11 - нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Шнайдер Наталья Алексеевна доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Власов Павел Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Лаврик Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации).

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «01»ноября 2019г. в 12-00 часов на заседании объединённого диссертационного совета Д 999.113.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России) по адресу: 634009, Томская область, г. Томск, ул. Розы Люксембург, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», <http://niikf.tomsk.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Абдулкина Наталья Геннадьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Доля юношеской миоклонической эпилепсии (ЮМЭ) составляет 5 – 10 % всех случаев эпилепсии у детей и подростков и 20 - 27 % среди всех форм генетических генерализованных эпилепсий (ГГЭ) [Карлов В.А., 2010; Петрухин А.С., 2004; Мухин К.Ю., 2000; Scheffer I.E., 2017]. На фоне фармакоиндуцированной ремиссии, которая достигается в 80 – 90 % случаев ЮМЭ, высока частота рецидивов после отмены приема противоэпилептических препаратов (ПЭП), что является социально и клинически значимой особенностью данного заболевания и проблемой современной неврологии, несмотря на появление новых генераций ПЭП [Власов П.Н., 2017; Мухин К.Ю., 2014; Миронов М.Б., 2005]. Генетические аспекты заболевания до настоящего времени изучены недостаточно [Белоусова Е.Д., 2014].

Степень разработанности темы

Клинические и генетические аспекты отдельных форм ГГЭ до конца не изучены. В начале XX века идентифицированы мутации генов, ответственных за моногенные формы ЮМЭ и однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП), ассоциированные с увеличением риска ЮМЭ [Карлов В.А., 2010; Delgado-Escueta A.V., 2013]. Считается, что носительства мутации одного из основных менделевских генов достаточно для наследования того или иного фенотипа ЮМЭ [Delgado-Escueta A.V., 2007]. Предполагается двухлокусное кодирование ЮМЭ с неменделевским типом наследования [Greenberg D.A., 2012]. Идентифицировано 9 хромосомных локусов, ассоциированных с ЮМЭ (Mendelian Inheritance in Man – OMIM, 2017). В ряде публикаций выделяют 11 локусов ЮМЭ [Delgado-Escueta A.V., 2007], но не для всех из них идентифицирован ген и уточнен тип наследования. В рамках ЮМЭ возможны варибельные фенотипы, что также генетически детерминировано [Martínez-Juárez I.E., 2006]. Комбинация мутаций генов предрасположенности может

определять тип течения ЮМЭ, включая ее эволюцию. Таким образом, ЮМЭ – клинически и генетически неоднородное заболевание, с высоким риском наследования в отягощенных семьях. Это объясняет актуальность настоящего исследования.

Цель исследования: установить особенности фенотипов и генетические факторы риска юношеской миоклонической эпилепсии для совершенствования существующих подходов к профилактике, лечению и диспансерному наблюдению с позиции персонализированной медицины.

Задачи исследования:

1. Провести анализ частоты встречаемости фенотипов ЮМЭ.
2. Изучить ассоциацию ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* и *rs3743123* гена *GJD2* с ЮМЭ.
3. Исследовать фармакогенетический и фармакокинетический профили пациентов с ЮМЭ на примере носительства ОНП *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* гена *CYP2C9*, кодирующего изофермент 2C9 цитохрома P450 печени.
4. Разработать и внедрить в практическое здравоохранение учебное пособие по диспансеризации больных с ЮМЭ.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование, включая изучение фенотипов и генетических предикторов ЮМЭ у пациентов в Сибирском федеральном округе (СФО). Установлена прогностически неблагоприятная роль гомозиготного носительства аллеля *T* (*rs3743123*) гена *GJD2* в развитии ЮМЭ в исследуемой популяции. Показано отсутствие ассоциации носительства гаплотипов по ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* и ЮМЭ, но носительство гаплотипа *TT/TT* по исследуемым ОНП ассоциировано с повышением фотосенситивности при ЮМЭ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования развивают и дополняют теоретические положения отечественных и зарубежных авторов, указывая на

необходимость внедрения персонализированного подхода к прогнозированию, диагностике и лечению ЮМЭ. Работа свидетельствует о том, что ЮМЭ - многофакторное заболевание, в развитии которого играют роль генетические и средовые факторы, тесное переплетение которых определяет фенотип, характер течения и прогноз заболевания. Выявленные генетические предикторы ЮМЭ позволяют прогнозировать характер течения и исход заболевания. Теоретически обоснован и разработан усовершенствованный подход к диагностике и диспансерному наблюдению пациентов с ЮМЭ, который внедрен в практическое здравоохранение Забайкальского края (акт внедрения от 25 декабря 2018 г.); НЦ УК ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (акт внедрения от 15 декабря 2018 г.); в учебный процесс ФГАОУ ВО СВФУ им. М. К. Аммосова (акт внедрения от 28 декабря 2018 г.).

Методология и методы исследования

Проведенное исследование выполнено на основе комплексного подхода с использованием клинического, лабораторного, аналитического и статистического методов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Юношеская миоклоническая эпилепсия является заболеванием с выраженным генетическим и клиническим полиморфизмом, 2-й фенотип юношеской миоклонической эпилепсии чаще встречается у больных женского пола и имеет прогностически неблагоприятное течение.

2. Гомозиготное носительство аллеля *T* (*rs3743123*) гена *GJD2*, кодирующего белок канала щелевого клеточного контакта – коннексина 36, ассоциировано с развитием юношеской миоклонической эпилепсии в исследуемой популяции.

3. Гомо- и гетерозиготное носительство однонуклеотидных полиморфизмов *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* не ассоциировано с развитием юношеской миоклонической эпилепсии в исследуемой

популяции, но наблюдается полное неравновесное сцепление между данными локусами.

4. Гомозиготное носительство гаплотипа *TT/TT* однонуклеотидных полиморфизмов *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* ассоциировано с повышением фотосенситивности у пациентов с юношеской миоклонической эпилепсией.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

О достоверности результатов работы свидетельствуют достаточный объем выборки (177 пациентов с ЮМЭ), адекватные методы статистической обработки результатов исследования с помощью лицензионного пакета прикладных программ SPSS Statistics (версия 20.0) и Microsoft Excel. Основные положения и результаты диссертации представлены на: 80-й юбилейной итоговой студенческой научно-практической конференции с международным участием имени проф. Н.С. Дралюк (Красноярск, 2016); 12 Европейском Конгрессе по эпилепсии (Прага, 2016); Межрегиональной конференции «Современные подходы к диагностике и лечению эпилепсии» (Красноярск, 2017); 32 Международном Конгрессе по эпилепсии (Барселона, 2017); V Международном конгрессе памяти А.Р. Лурия «Луриевский подход в мировой психологической науке» (Екатеринбург, 2017); Межрегиональной конференции «Современные подходы к диагностике и лечению эпилепсии и коморбидных состояний» (Красноярск, 2018); VIII Балтийском конгрессе по детской неврологии (Санкт Петербург, 2018); Всероссийской конференции «Актуальные вопросы функциональной и ультразвуковой диагностики» (Екатеринбург, 2018); Межрегиональной конференции «Актуальные вопросы неврологии» (Красноярск, 2018); Всероссийском конгрессе с международным участием «Женское психическое здоровье: междисциплинарный статус» (Санкт-Петербург, 2018); 13 Европейском Конгрессе по Эпилепсии (Вена, 2018); заседании комиссии по предварительному рассмотрению диссертаций объединённого

диссертационного совета Д 999.113.03 на базе ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протокол № от 16.05.2019 г.).

По теме диссертации опубликованы 23 печатные работы, из них в журналах, включенных в перечень ВАК РФ – 11, Scopus и Web of Science – 10, учебное пособие -1.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ отечественной и зарубежной литературы; медицинской документации; выполнено ведение больных ЮМЭ; оценка дополнительных методов диагностики (видео ЭЭГ мониторинг, МРТ, ДНК диагностики, ТЛМ и др.); нейропсихологическое тестирование; статистический анализ результатов; формулировка выводов и публикация результатов работы; подготовка и внедрение учебного пособия в учебный процесс и клиническую практику.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 121 странице печатного текста, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 33 таблицами, 4 рисунками, 4 клиническими случаями. Библиографический указатель содержит 187 источников современной литературы, из них 51 отечественный и 136 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование проводилось в рамках комплексных исследований по теме № 210-16 «Эпидемиологические, генетические и нейрофизиологические аспекты нервной системы (центральной, периферической и вегетативной) и превентивная медицина», номер регистрации 0120.0807480, на кафедре медицинской генетики и клинической нейрофизиологии ИПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.

Войно-Ясенецкого Минздрава России. Работа поддержана грантом Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности для участия в 32 Международном Конгрессе по эпилепсии (Барселона, 2017); код заявки №2017052302482.

Клинико-лабораторные обследования проведены в 2015 – 2018 гг. на базе неврологического центра эпилептологии, нейрогенетики и исследования мозга Университетской клиники (НЦ УК). Молекулярно-генетические исследования проведены на базе Межкафедральной научно-исследовательской лаборатории медицинской генетики ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России; клиническое секвенирование экзона – на базе лаборатории лесной геномики института фундаментальной биологии и биотехнологии СФУ.

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (протокол от 11.11.2015 г. №65/2015). Взрослые и законные представители детей, включенных в исследование, подписывали добровольное информированное согласие на обработку персональных данных и проведение всех этапов исследования.

Гипотеза исследования: ЮМЭ характеризуется высокой клинической, нейрофизиологической и генетической гетерогенностью, знание и учет которых позволит персонализировать подход к диспансерному наблюдению и лечению, снизить риск неблагоприятного течения заболевания.

Объект исследования – пациент с ЮМЭ.

Предмет исследования – фенотип и генотип ЮМЭ.

Основная группа (177 пациентов с ЮМЭ (муж. – 29,4 %, жен. – 70,6 %), средний возраст – $27,74 \pm 0,62$ лет, Me – 27,0 (22,0 : 33,0).

Критерии включения: больные с ЮМЭ; жители Сибирского федерального округа; соблюдение протокола исследования.

Критерии исключения: другие формы эпилепсии; жители других регионов РФ; низкий комплаенс пациентов или их законных представителей к выполнению протокола исследования.

Контрольная группа (150 здоровых добровольцев, по возрасту и полу сопоставимые с пациентами основной группы, $p > 0,05$).

Критерии включения: здоровые люди; жители Сибирского федерального округа; соблюдение протокола исследования.

Критерии исключения: эпилепсия; жители других регионов РФ; низкий комплаенс к выполнению протокола исследования.

Этапы исследования: ретроспективный анализ амбулаторных карт (по данным НЦ УК, 2003 - 2018 гг.); проспективное наблюдение и обследование больных с ЮМЭ (2015 - 2018 гг.); статистическая обработка и анализ результатов, разработка усовершенствованного подхода к диспансерному наблюдению больных ЮМЭ и его внедрение.

Методы исследования: анамнестический; клинический (исследование соматического и неврологического статусов), клинико-генеалогический; нейрофизиологический (ЭЭГ видео-мониторинг); нейрорадиологический (МРТ головного мозга по протоколу «эпилепсия»), нейропсихологический (шкала депрессии Бека, шкала эмоциональной возбудимости V. A. Braitwaite в модификации А. А. Рукавишникова, шкала «Самооценка тревожности, фрустрированности, агрессивности и ригидности» (ТФАР); методика «Память на числа», «Красно-черные таблицы Шульте-Платонова», «Таблицы Крепелина»), лабораторный (ТЛМ, ДНК-диагностика). Определение ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* на хромосоме 6p21 и *rs3743123* гена *GJD* на хромосоме 15q14, ОНП *I359L* (*3) *A>C* и *R144C* (*2) *C>T* гена *CYP2C9* осуществляли с помощью ПЦР-РВ («Rotor-Gene 6000», Австралия) с использованием технологии TaqMan и флюоресцентных зондов («Applied Biosystems», США). Подготовка библиотеки для исследования «Клинический экзом» осуществлялась с помощью набора «Clinical Exome Solution by SOPHiA

GENETICS for Illumina MiSeq» (Швейцария). Амплификацию библиотеки производили с использованием набора «KAPA HiFi Library Amplification Kit» (США). Качество ДНК анализировали с помощью набора «High Sensitivity DNA Kit» посредством электрофоретической системы Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США). Для запуска секвенатора MiSeq использовали набор «MiSeq Reagent Kit v2 (300-cycles)» (MS-102-2002, Illumina, США).

Статистические методы. База данных сформирована в MS Excel 2013, анализ проведен с помощью SPSS Statistics (Версия 22.0) и онлайн-калькулятора «Ген Эксперт» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. При попарном сравнении частот генотипов использовали хи-квадрат (χ^2). Риск развития ЮМЭ оценивали в значениях показателя отношения шансов (ОШ, 95 % ДИ). Для параметрических показателей рассчитывали: среднее значение, ошибку среднего, медиану, интерквартильный размах Q25 : Q75; для непараметрических показателей – долю и ошибку доли. Межгрупповые различия признавали как статистически значимые при значении $p < 0,05$. Если ожидаемые частоты были менее 5, то использовали точный критерий Фишера и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частота встречаемости и особенности клинических фенотипов юношеской миоклонической эпилепсии

Средний возраст больных ЮМЭ – $27,74 \pm 0,62$ лет, Me 27,0 (22,0 : 33,0) лет. Распределение пациентов по полу и возрасту: муж. – 52 (29,4 %), средний возраст $26,3 \pm 1,14$ лет; жен. – 125 (70,6 %), средний возраст $28,36 \pm 0,74$ лет. Соотношение лиц мужского и женского полов - 1 : 2,4. Средний возраст дебюта ЮМЭ – $13,52 \pm 0,38$ лет, в т.ч.: муж. - $14,16 \pm 0,53$ лет, жен. - $13,25 \pm 0,48$ лет (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика больных с ЮМЭ по полу и возрасту
(в годах)

Характеристика выборки	Средний возраст, М±m		Ме (Q ₂₅ : Q ₇₅)	Средний возраст дебюта ЮМЭ, М±m		Медиана возраста дебюта ЮМЭ, Ме (Q ₂₅ : Q ₇₅)
Общая выборка	27,74±0,62		27,0 (22,0 : 33,0)	13,52 ± 0,38		14,0 (11,0 : 16,0)
Лица мужского пола, n = 52	26,3±1,14	p=0,131	24,0 (20,0 : 32,3)	14,16±0,53	p=0,205	14,0 (12,0 : 16,0)
Лица женского пола, n = 125	28,36±0,74		28,0 (22,0 : 33,0)	13,25±0,48		13,0 (10,0 : 16,0)

Примечание. Различия по исследуемым показателям рассчитаны с использованием критерия Стьюдента.

Анализ характеристики приступов дебюта ЮМЭ с учетом пола пациентов показал, что у лиц женского пола ЮМЭ статистически значимо чаще дебютировала с абсансов (32,0 % против 15,4 %, $p < 0,05$), а у лиц мужского пола – с ГТКП и миоклоний (46,2 % и 36,5 % против женского 36,0 % и 31,2 %). Средний возраст присоединения ГТКП $15,8 \pm 0,36$ лет, в т.ч. у лиц мужского пола $-15,8 \pm 0,69$ лет, женского пола $-15,8 \pm 0,42$ лет, $p > 0,05$ (Рисунок 1).

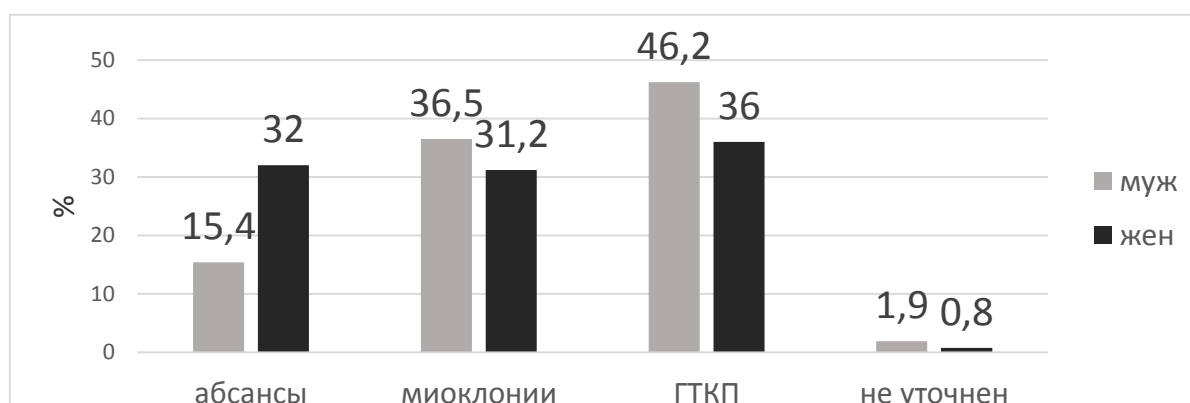


Рисунок 1 – Приступы дебюта юношеской миоклонической эпилепсии с учетом пола пациентов

Анализ фенотипов ЮМЭ показал, что доминировал 1-й (классический) фенотип, который встречался статистически значимо чаще у лиц мужского пола по сравнению с женским (55,8 % против 34,4 %, $p < 0,05$). Наиболее неблагоприятные в отношении достижения ремиссии 2-

й и 3-й фенотипы ЮМЭ встречались соответственно в 2,8 и 2,9 раз чаще среди лиц женского пола по сравнению с мужским (5,8 % против 16,1 % и 5,8 % против 16,9 % соответственно), при этом 2-й фенотип у женщин доминировал статистически значимо чаще ($p < 0,05$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Влияние пола пациентов на формирование фенотипов ЮМЭ, n (%)

Фенотип ЮМЭ	Общая выборка N=177	Мужской пол n ₁ =52	Женский пол n ₂ =125	p (критерий χ^2)
I тип	72 (40,7)	29 (55,8)	43 (34,4)	$p_{3,4}=0,009^*$
II тип	25 (14,1)	3 (5,8)	22 (17,6)	$p_{3,4}=0,04^*$
III тип	23 (12,9)	3 (5,8)	20 (16)	$p_{3,4}=0,044$
IV тип	57 (32,2)	17 (32,7)	40 (32)	$p_{3,4}=0,929$

Примечание. * Статистически значимые межгрупповые показатели среди лиц мужского и женского пола ($p < 0,05$)

В 93 (48,9 %) случаях ремиссия на фоне приема ПЭП не достигнута; в 43 (22,6 %) - достигнута ремиссия ГТКП и миоклоний, в 39 (20,5 %) достигнута ремиссия ГТКП, миоклоний и абсансов. 2-й фенотип ЮМЭ был наиболее неблагоприятным в плане достижения ремиссии, $p < 0,05$ (Таблица 3).

Таблица 3 – Частота наступления ремиссии при ЮМЭ (абсолютные цифры на 100 обследованных)

Ремиссия	Не достигнута	Клиническая ремиссия	Клинико-ЭЭГ ремиссия	p (критерий χ^2)
Всего, n=175	93 (53,1)	43 (24,6)	39 (22,1)	-
1 тип, n=71	41(57,8)	14 (19,7)	16 (22,5)	$p=0,444$
2 тип, n=25	14 (56)	10 (40)	1 (0,4)	$p=0,027^*$
3 тип, n=23	11 (47,8)	7 (30,4)	5 (21,7)	$p=0,774$
4 тип, n=56	27 (48,2)	12 (21,4)	17 (30,4)	$p=0,211$

Примечание. * Статистически значимые межгрупповые показатели среди лиц мужского и женского пола ($p < 0,05$)

Типичный интериктальный ЭЭГ паттерн ЮМЭ зарегистрирован у 81 пациента (45,8 %); сочетание типичного паттерна с хотя бы одним атипичным - у 96 пациентов (54,2%).

Нейропсихологическое тестирование пациентов с юношеской миоклонической эпилепсией

Подвыборка в объеме 64 человек была разделена на 2 группы: основная группа - 32 (50 %) пациента с ЮМЭ и отсутствием НПР на фоне приема ПЭП; контрольная группа - 32 (50 %) здоровых волонтера. Средний возраст в основной группе - $25,9 \pm 1,4$ года, в контрольной - $23,53 \pm 0,4$ года ($p=0,117$).

При оценке эмоциональной возбудимости по шкале V.A. Braitwaite учитывали: общую эмоциональность, гнев, робость и отсутствие контроля над эмоциями. Средний балл в основной группе: муж. $-36,75 \pm 2,86$, (4 - 5 стена, тенденция к средней эмоциональной возбудимости); жен. $-47,3 \pm 2,35$, (5 - 6 стена, средняя эмоциональная возбудимость); в контрольной группе: муж. $-36,73 \pm 2,88$, жен. $-38,71 \pm 1,39$ (4 стена, тенденция к низкой эмоциональной возбудимости). В основной группе значимо повышен уровень нейротизма по сравнению с группой контроля, $p<0,05$.

Оценка тестирования тревожности по опроснику Ч.Д. Спилбергера: средний балл СТ в основной группе и контрольной группах составил $38,31 \pm 1,37$ и $34,81 \pm 1,29$ соответственно ($p>0,05$); средний балл ЛТ $43,72 \pm 1,72$ против $37,44 \pm 1,58$ ($p<0,05$). По результатам тестирования по методике «Самооценка ТФАР» общий балл, интерпретируемый как показатель общей ЛТ, составил в основной группе $112,47 \pm 2,74$, против $108,91 \pm 2,49$ в группе контроля ($p>0,05$). Общий балл по опроснику А.Т. Бека в основной группе - $10,06 \pm 1,79$, что соответствует умеренно выраженной депрессии; в группе контроля - $3,97 \pm 0,68$ (отсутствие депрессивных симптомов), $p<0,05$. В основной группе оценка: по когнитивно-аффективной шкале - $7,25 \pm 1,27$ (умеренная выраженность симптомов), в контрольной группе - $2,78 \pm 0,529$ (норма); оценка по шкале

соматизации в основной группе - $2,81 \pm 0,66$, (пограничная норма) против $1,38 \pm 0,28$ в группе контроля (норма), $p > 0,05$.

Среднее количество правильных ответов по шкале «Память на числа» в основной группе - $7,44 \pm 0,32$, средняя оценка в баллах - $4 \pm 0,135$; в группе контроля $8,56 \pm 0,291$ и $4,44 \pm 0,127$ соответственно ($p < 0,05$), т.е. в обеих группах эффективность кратковременной памяти была оптимальной, но статистически значимо ниже в группе ЮМЭ. Устойчивость внимания по методике «Шульте», в основной и контрольной группах были статистически не значимы ($p > 0,05$). Средний коэффициент умственной работоспособности по методике Крепелина в основной группе - $1,137 \pm 0,06$, в контрольной группе - $1,072 \pm 0,018$, что соответствовало норме, $p = 0,303$. Но у 19 (59,4 %) пациентов с ЮМЭ был неравномерный график работоспособности (признак эмоционального напряжения) против 7 (21,9 %) здоровых добровольцев ($p < 0,05$).

Генетика юношеской миоклонической эпилепсии

Секвенирование проведено 4 пациентам с ЮМЭ (Таблица 4). Предполагалось, что будут выявлены мутации в определенном локусе ЮМЭ, но во всех случаях заболевание было полигенным, т.к. выявлены ОНП, ассоциированные с ЮМЭ и другими ГГЭ, включая высокопатогенные. У пациента с кодом 86 ЮМЭ выявлены 5 ОНП с установленным высоко патогенным эффектом: 2 ОНП в гене *EFHC1* (локус *EJM1*), 1 ОНП в гене *CHRNA4* (локус *EJM2*), 2 ОНП в гене *BRD2* (локус *EJM3*), а также выявлено 10 ОНП с неустановленной значимостью в локусах, ассоциированных с развитием ЮМЭ. У пациента с кодом 87 ЮМЭ выявлено 4 патогенных мутации: в генах *EFHC1* (локус *EJM1*), *BRD2* (локус *EJM3*), *GABRD* (локус *EJM7*), *CLCN2* (локус *EJM8*), а также 11 ОНП с неустановленной значимостью в локусах *EJM*. У пациента с кодом 69 ЮМЭ выявлено 4 патогенных ОНП в генах *EFHC1* (локус *EJM1*), *BRD2* (локус *EJM3*), *JRK2*, а также 8 ОНП с неустановленной значимостью. У пациента с кодом 71 ЮМЭ выявлено 2 патогенных ОНП в

гене *EFHC1* (локус *EJM1*) и 11 ОНП с неустановленной значимостью. Проведенное секвенирование ДНК больных с ЮМЭ подтверждает полигенный характер заболевания, что затрудняет клиническую интерпретацию результатов секвенирования в отягощенных семьях и определения риска передачи заболевания потомству.

Таблица 4 - Характеристика пациентов с ЮМЭ

Код пациента	86 ЮМЭ	87 ЮМЭ	69 ЮМЭ	71 ЮМЭ
Дата рождения	11.06.1999	30.12.1997	07.10.1997	11.02.1997
Пол	жен	муж	муж	жен
Возраст дебюта (лет)	8	12	14	15
Дебют	Абсансы	Миоклонии	Миоклонии	ГТКП
Фенотип ЮМЭ	2	1	1	1
Дебют ГТКП	12	14	15	15
Фотосенситивность	Есть	Нет	Есть	Есть
Наследственность по эпилепсии	Не отягощена	Отягощена со стороны отца	Отягощена со стороны отца	Не отягощена
МРТ	Микроаденома гипофиза	Нет изменений	Не проводилась	Латероventрикулоасимметрия
Интериктальная ЭЭГ (типичные паттерны)	диффузные спайк-полиспайк-волны 3,5 – 4 Гц	диффузные полиспайк-волны 3,5 Гц	генерализованные спайк-полиспайк-волны 3,5 – 4 Гц	диффузные полиспайк-волны 3,5 – 4 Гц
Интериктальная ЭЭГ (атипичные интериктальные паттерны)	МПА амплитуды разрядов; фокальные разряды	МПА амплитуды разрядов	МПА амплитуды разрядов	Фокальное начало разрядов; генерализованный пароксизмальный быстрый ритм

Клинико-генеалогический анализ показал отсутствие наследственной отягощенности у 62,7 % больных с ЮМЭ; у 8,5 % - отягощенность по отцовской линии; у 9,6 % - по материнской линии; 1,1 – по отцовской и материнской линиям, 18,1 % – данных недостаточно; выявлено, что 2-й фенотип ЮМЭ ассоциирован с передачей по материнской линии.

Исследование ассоциации ОНП rs206787 и rs516535 гена BRD2 и юношеской миоклонической эпилепсии

Частота носительства аллеля *T* rs206787 гена *BRD2* в основной группе составила 62,0 %, в группе контроля – 64,8 % (ОШ 0,89; 95% ДИ 0,58 – 1,35; $p=0,58$); аллеля *A* в основной и контрольной группах – 38 % и 35,2 % соответственно (ОШ 1,13; 95% ДИ 0,74 – 1,74; $p=0,58$). Частота носительства генотипа *TT* в основной группе - 35,4 % случаев, в контрольной - в 38,3 % случаев; генотипа *AT* в основной - 53,2 %, в контрольной – 53 % ($p>0,05$); генотипа *AA* в основной - 11,4 %, контрольной – в 8,7 % случаев. Частота носительства аллеля *T* rs516535 гена *BRD2* в основной группе составила 62 %, в группе контроля – 64,8 % (ОШ 0,89; 95% ДИ 0,58 – 1,35); аллеля *C* в основной и контрольной группах - 38 % и 35,2 % соответственно (ОШ 1,13; 95% ДИ 0,74 – 1,71). Частота носительства генотипа *TT* в основной группе - 35,4 % случаев, в группе контроля - в 38,3 % случаев; генотипа *CT* в основной группе - 53,2 %, в контрольной - 53 % случаев; генотипа *CC* в основной группе - 11,4 %, в группе контроля - 8,7 % случаев ($p>0,05$). Не было 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*, но наблюдается полное неравновесное сцепление между локусами как среди пациентов с ЮМЭ, так и среди здоровых людей. При исследовании частоты носительства ОНП rs206787 и rs516535 гена *BRD2* отмечена тенденция к увеличению частоты гаплотипов с генотипами *AA* по rs206787 и *CC* rs516535 у мужчин с ЮМЭ в сравнении с группой контроля, но без статистически значимых гендерных отличий ($p>0,05$). При исследовании гендерных отличий носительства ОНП rs3743123 гена *GJD2* статистически значимых межгрупповых различий не выявлено ($p>0,05$). Статистически значимой ассоциации носительства исследуемых гаплотипов гена *BRD2* с фенотипами, изменениями на МРТ у пациентов с ЮМЭ также не выявлено ($p>0,05$). Выявлена ассоциация

носительства гаплотипа *TT/TT* и фотосенситивности у пациентов с ЮМЭ (ОШ=3,6; 95% CI 1,37 – 9,48; $p=0,02$). Носительство гаплотипа *AT/CT* не оказывало статистически значимого влияния на фотосенситивность (ОШ=0,47; 95% CI 0,19 – 1,17). Аналогичные результаты получены для гаплотипа *AA/CC* (ОШ=0,32; 95% CI 0,06 – 1,65). Не выявлено статистически значимых гендерных различий по частоте встречаемости фотосенситивности и ее ассоциации с носительством исследуемых ОНП гена *BRD2* у пациентов с ЮМЭ.

Исследование ассоциации ОНП гена *Cx-36 (GJD2)* и юношеской миоклонической эпилепсии

Частота носительства аллеля *C* в основной группе составила 58,2 %, в группе контроля – 66,7 % (ОШ 0,7; 95% ДИ 0,47 – ,04); аллеля *T* в основной группе - 41,8 %, в контрольной - 33,3 % (ОШ 1,43; 95% ДИ 0,96 – 2,13). Не было выявлено статистически значимых различий носительства аллелей ($\chi^2=3,19$; $p=0,07$). Генотип *CC* в основной группе встречался в 38 % случаев, в группе контроля - в 42,7 % ($p>0,05$); генотип *CT* в основной группе - в 40,5 % случаев, в контрольной - в 48 %; генотип *TT* в основной группе – в 21,5 %, в контрольной – в 9,3 % ($p=0,04$). ОШ для генотипа *TT* составило 2,66 (95% ДИ 1,24 – 5,74), для генотипа *CT* – 0,74 (95% ДИ 0,42 – 1,28), для генотипа *CC* – 0,82 (95% ДИ 0,47 – 1,44). Гомозиготное носительство аллеля *T* гена *GJD2 (rs3743123)* статистически значимо ассоциировано с развитием ЮМЭ в исследуемой популяции, ОШ=2,66 (95% ДИ 1,24 – 5,74); $p=0,04$. При исследовании гендерных особенностей носительства ОНП *rs3743123* гена *GJD2* статистически значимых межгрупповых различий не выявлено ($p>0,05$).

Анализ фармакогенетического профиля пациентов с юношеской миоклонической эпилепсии

ДНК-исследование проведено 53/177 (30%) пациентам: 58,5 % были распространёнными метаболиторами (генотип *CYP2C9*1/*1*); 39,6 % - медленными метаболиторами (генотипы *CYP2C9*1/*2*, *CYP2C9*1/*3*); 1,9 % - сверхмедленными метаболиторами (генотипы *CYP2C9*2/*2*, *CYP2C9*3/*3* или

СУР2С9*2/*3). Токсический уровень ВК в крови (по данным ТЛМ) чаще регистрировался у медленных метаболизаторов по сравнению с распространенными метаболизаторами (40,9 % против 12,9 %, $p < 0,05$) (Таблица 5).

Таблица 5 - Результаты ТЛМ у больных с ЮМЭ

Результаты ТЛМ	Распространенные метаболизаторы, n=31	Медленные метаболизаторы, n=22	p (критерий Фишера)
ВК < 100 мкг/мл	25 (80,6 %)	13 (59,1 %)	-
ВК > 100 мкг/мл	4 (12,9 %)	9 (40,9 %)	$p < 0,05^*$
Данных достаточно не	2 (6,5 %)	-	-

Примечание. *Статистически значимые межгрупповые показатели ($p < 0,05$)

Данное исследование определяет дальнейшие перспективы применения ассоциативных генетических исследований носительства ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* для выделения групп больных с высоким риском фотосенситивности и более широкого внедрения клинического секвенирования экзома для поиска распространенных гаплотипов в различных этнических группах в РФ.

ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости ЮМЭ среди лиц мужского пола ниже, чем среди лиц женского пола (соотношение лиц мужского и женского полов 1 : 2,4). Средний возраст дебюта ЮМЭ приходится на подростковый возраст ($13,52 \pm 0,38$ лет). У лиц женского пола по сравнению с мужским заболевание чаще дебютирует с абсансов (32,0 % против 15,4 %), а у лиц мужского пола по сравнению с женским с ГТКП и миоклоний (46,2 % и 36,5 % против 36,0 % и 31,2 % соответственно). 1-й фенотип ЮМЭ чаще встречается у лиц мужского пола по сравнению с женским (55,8 % против 34,7 %), а 2-й фенотип - встречается чаще у лиц женского пола по сравнению с мужским (16,9 % против 5,8 %). Для 2-го фенотипа ЮМЭ

характерна низкая частота достижения ремиссии. Частота встречаемости тревожно-депрессивных расстройств выше у пациентов с ЮМЭ по сравнению с людьми без ЮМЭ.

2. ЮМЭ - полигенное заболевание, что ограничивает интерпретацию результатов секвенирования и скрининг ЮМЭ в отягощенных семьях. Отсутствует ассоциация носительства ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* с развитием ЮМЭ в исследуемой популяции. Выявлена ассоциация носительства гаплотипа *TT/TT* по ОНП *rs206787* и *rs516535* гена *BRD2* и фотопароксизмальной реакцией у пациентов с ЮМЭ. Гомозиготное носительство аллеля *T* гена *GJD2* (*rs3743123*) ассоциировано с развитием ЮМЭ в исследуемой популяции, ОШ=2,66 (95% ДИ 1,24 – 5,74).

3. Фармакогенетический статус медленных метаболизаторов имеют 41,5 % больных ЮМЭ, что является фактором риска псевдофармакорезистентности и развития НПР.

4. С учетом выявленных клинических и генетических особенностей ЮМЭ разработано учебное пособие и внедрено в практическое здравоохранение на региональном и межрегиональном уровнях.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Участковым педиатрам, семейным врачам, неврологам: тщательный сбор анамнеза при развитии приступов у подростков с акцентированием внимания на наличие миоклоний и абсансов.

2. Неврологам и психиатрам, участвующим в ведении больных с эпилепсией: в семьях с отягощенным анамнезом по ГГЭ у лиц женского пола видео-ЭЭГ-мониторинг проводить в старшем дошкольном возрасте с обязательным тестированием уровня сознания во время нагрузочных проб (РФС, ТФС и ГВ) для ранней диагностики абсансов, и миоклоний; исследовать фармакогенетический профиль больных с ЮМЭ в случае выбора ВК с последующей консультацией клинического фармаколога; своевременно диагностировать и корректировать коморбидные ЮМЭ психические расстройства; проводить видео-ЭЭГ-мониторинг при

снижении и отмене ПЭП у больных с ЮМЭ для минимизации срыва ремиссии.

3. Врачам функциональной диагностики: учитывать типичные и атипичные паттерны ЭЭГ при ЮМЭ.

4. Клиническим фармакологам: усилить взаимодействие с неврологами и психиатрам, оказывающими помощь больным с ЮМЭ.

5. В медицинских ВУЗах: включить в программу последипломной подготовки неврологов и психиатров вопросы генетики и особенностей ЭЭГ паттернов при ЮМЭ; вопросы о фармакогенетике ПЭП и о системе мониторинга НПР.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Баланс между эффективностью и безопасностью антиконвульсантов как основа реабилитации детей с юношеской миоклонической эпилепсией / Н. А. Шнайдер, О. С. Шилкина, И. П. Артюхов, А. В. Дюжакова, Р. Ф. Насырова, Л. В. Липатова, Е. Н. Бочанова // Фарматека. – 2018. – № 1. – С. 8–14.

2. Оценка информированности об эпилепсии у детей среди педагогов коррекционных учреждений / Н. А. Маруева, Ю. А. Ширшов, Н. М. Шибанова, Н. А. Шнайдер, И. П. Артюхов, А. В. Шульмин, О. С. Шилкина // Сибирское медицинское обозрение. – 2017. – № 1 (103). – С. 44–48.

3. Шилкина О. С. Эпидемиология юношеской миоклонической эпилепсии / О. С. Шилкина, Н. А. Шнайдер // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2017. – Т. 9, Спецвып. 1. – С. 26–31.

4. Сапронова М. Р. Клиническое наблюдение случая псевдоремиссии ювенильной миоклонической эпилепсии (синдрома Янца) / М. Р. Сапронова, Н. А. Шнайдер, О. С. Шилкина // Практическая медицина. – 2017. – Т. 1, № 1 (102). – С. 165–168.

5. Опыт регистрации нежелательных побочных реакций на противоэпилептические препараты в клинике Красноярского медицинского университета / Е. Н. Бочанова, Н. А. Шнайдер, Д. В. Дмитренко, Е. А. Шаповалова, О. Ф. Веселова, О. С. Шилкина, Т. В. Потупчик // Врач. – 2016. – № 4. – С. 6–8.

6. Возрастные и гендерные аспекты нежелательных побочных реакций у пациентов с эпилепсией и эпилептическими синдромами (по данным регистра университетской клиники) / Е. Н. Бочанова, Н. А. Шнайдер, С. К.

Зырянов, Д. В. Дмитренко, Е. А. Шаповалова, О. Ф. Веселова, О. С. Шилкина, Д. А. Журавлев // Фарматека. – 2016. – № 7 (320). – С. 71–75.

7. Использование регистра пациентов с эпилепсией и эпилептическими синдромами для анализа побочных эффектов противоэпилептических препаратов [Электронный ресурс] / Н. А. Шнайдер, Е. Н. Бочанова, С. К. Зырянов, Д. В. Дмитренко, Е. А. Шаповалова, О. Ф. Веселова, О. С. Шилкина, Д. А. Журавлев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – Режим доступа : <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24254>.

8. Клинико-генетическая гетерогенность юношеской миоклонической эпилепсии / Н. А. Шнайдер, О. С. Шилкина, К. В. Петров, И. А. Черных, А. В. Дюжакова // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 20–36.

9. Частота встречаемости клинических фенотипов юношеской миоклонической эпилепсии: пилотное исследование в Сибирском федеральном округе / Н. А. Шнайдер, О. С. Шилкина, К. В. Петров, А. В. Дюжакова, Н. А. Маруева // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 27–33.

10. Process of personalized prescription of valproic acid as the main element of the management of epilepsy / E. N. Bochanova, N. A. Shnayder, D. V. Dmitrenko, I. P. Artyukhov, S. D. Gusev, E. A. Yurjeva, O. S. Shilkina // International Journal of Biomedicine. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 26–32.

11. Cognitive disorders in juvenile myoclonic epilepsy / O. S. Shilkina, I. P. Artyukhov, P. V. Moskaleva, I. G. Strotskaya, N. A. Shnayder // International Journal of Biomedicine. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 9–14.

12. Nonpsychotic psychiatric disorders in juvenile myoclonic epilepsy / P. V. Moskaleva, O. S. Shilkina, I. P. Artyukhov, I. G. Strotskaya, D. V. Dmitrenko, N. A. Shnayder // International Journal of Biomedicine. – 2017. – Vol. 7, № 2. – P. 85–90.

13. Frequency of juvenile myoclonic epilepsy phenotypes in Siberia / O. S. Shilkina, K. V. Petrov, A. V. Diuzhakova, N. A. Marueva, N. A. Shnayder // World Journal of Neuroscience. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 32–36.

14. Проблемы дифференциальной диагностики миоклонус-эпилепсии, ассоциированной с мутацией гена POLG1, и юношеской миоклонической эпилепсии: клинический случай / О. С. Шилкина, Н. А. Шнайдер, И. П. Артюхов, П. В. Москалева., Ю. С. Панина // Русский журнал детской неврологии. - 2018. - Т.13. - №1. - С. 57-63.

15. Advances in the management of sleep disorders in juvenile myoclonic epilepsy / P. V. Moskaleva, O. S. Shilkina, N. A. Shnayder, I. P. Artyukhov, D.

- V. Dmitrenko, E. A. Yuryeva // *International Journal of Biomedicine*. – 2018. – Vol. 8, № 2. – P. 108-114.
16. Moskaleva P. V. Individual neuropsychological characteristics in patients with juvenile myoclonic epilepsy / P. V. Moskaleva, O. S. Shilkina, N. A. Shnayder // *Psychology in Russia: State of the Art*. – 2018. – Vol. 11, № 2. – P. 42–54.
17. Нейрофизиологические аспекты юношеской миоклонической эпилепсии / О. С. Шилкина, Н. А. Шнайдер, Д. В. Дмитренко, К. Т. Ким // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. Спецвып. «Эпилепсия»*. – 2018. – Т. 10, № 1. – С. 31–37.
18. Paradigms in Management of Juvenile Myoclonic Epilepsy / I. P. Artyukhov, O. S. Shilkina, N. A. Shnayder, D. V. Dmitrenko, E. N. Bochanova, I. S. Babina I.S. // *Archiv Euromedica*. – 2016. – Vol. 6, № 2. – P. 2–7.
19. Case report of management problem of juvenile myoclonic epilepsy / I. P. Artyukhov, O. S. Shilkina, N. A. Shnayder, D. V. Dmitrenko, E. N. Bochanova, E. A. Shapovalova, I. G. Strotskaya // *Case Reports in Clinical Medicine*. – 2016. – Vol. 5, № 7. – P. 217–224.
20. Influence of anxiety on wrist tapping parameters and individual perception of one minute in healthy adults and patients with juvenile myoclonic epilepsy / E. A. Narodova, N. A. Shnayder, V. V. Narodova, E. E. Erahtin, O. S. Shilkina, P. V. Moskaleva // *Russian Open Medical Journal*. – 2018. – Vol. 7, № 4. – P. 415.
21. Диспансеризация взрослых пациентов с эпилепсией : учеб. пособие [Электронный ресурс] / Н. А. Шнайдер, Д. В. Дмитренко, Н. В. Исаева, О. С. Шилкина. – Красноярск : КрасГМУ, 2018. – 63 с. – Режим доступа : [http://krasgmu.ru/index.php?page\[common\]=elib&cat=catalog&res_id=90205](http://krasgmu.ru/index.php?page[common]=elib&cat=catalog&res_id=90205)
22. Шнайдер Н. А. Новый взгляд на особенности электроэнцефалографической картины юношеской миоклонической эпилепсии / Н. А. Шнайдер, О. С. Шилкина, Д. В. Дмитренко // *Медицинский алфавит. Современная функциональная диагностика*. - 2018. - Т.2. - №23/360. - С.6-12.
23. Влияние тревоги на параметры кистевого теппинга и индивидуальной минуты у здоровых взрослых и пациентов с юношеской миоклонической эпилепсией / Е. А. Народова, Н. А. Шнайдер, В. В. Народова, Е. Е. Ерахтин, О. С. Шилкина, П. В. Москалева // *Психосоматические и интегративные исследования*. - 2018. - Т.4. - №0404. - С.1-4.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВК – вальпроевая кислота

ГГЭ - генетическая генерализованная эпилепсия

ГТКП - генерализованные тонико–клонические приступы

КАШ – когнитивно-аффективная шкала

КМЗ – карбамазепин

ЛЕВ – леветирацетам

ЛТ – личностная тревожность

ЛТД – ламотриджин

НПР - нежелательные побочные реакции

ОНП - однонуклеотидный полиморфизм

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СТ – ситуативная тревожность

ТЛМ - терапевтический лекарственный мониторинг

ТПМ - топирамат

ТФАР – самооценка тревожности, фрустрированности, агрессивности и ригидности

ШС – шкала соматизации

ПЭП - противоэпилептический препарат

ЮМЭ – юношеская миоклоническая эпилепсия