Шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй гэр бүлд *SCN1A* генийн c.530G>A болон *SLC6A1* генийн c.863C>T мутациудыг тодорхойлсон дүн

С.Тулгаа[1], Д.Сугаржав[1], О.Хонгорзул[1], А.Улаанхүү[2], Д.Сансармаа[3], Х.Энхгэрэл[4], А.Товуудорж[5], Л.Пүрэвсүрэн[1], И.Пүрэвдорж[1], Ж.Жамбалдорж[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим
[2] ХААИС, Улсын мал эмнэлэг ариун цэврийн төв лаборатори
[3]АШУҮИС, Дорноговь АУС
[4]Эрдэнэт хот, Нейрон эмнэлэг
[5]АШУҮИС, АУС, Дотрын тэнхим
Цахим шуудан: tulgaa@mnums.edu.mn, *Утас: 89453525*

Түлхүүр үг:

Драветын хамшинж
Халууралт таталт бүхий ерөнхий эпилепси
Миоклоник-атоник таталт
Клиник генеалоги
Эмнэлзүйн шинж тэмдэг

Товч утга:

Үндэслэл: Эпилепси үүсэхэд дотоод шалтгааны дийлэнх хувийг удмын хүчин зүйл эзэлдэг бөгөөд эпилепситэй холбоотой 500 гаруй генүүд илрээд байна. Одоогийн байдлаар 10 өөр төрлийн ионы сувгийн дэд нэгжүүдийг кодлодог генүүдийн мутациуд нь шалтгаан тодорхойгүй эпилепси үүсэхэд оролцдог болох нь тогтоогджээ. **Зорилго:** Шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй гэр бүлд *SCN1A* генийн c.530G>A болон *SLC6A1* генийн c.863C>T мутациудыг тодорхойлж, удамшлын онцлогийг судлах **Арга, аргачлал:** Энэхүү судалгааг аналитик судалгааны нэг агшингийн загвараар хийж, шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй 6, гэр бүлийн эрүүл 6 нийт 12 хүнийг хамруулсан. Судалгаанд оролцогчдын захын судаснаас 3-5 мл бүхэл цус авч, үйлдвэрлэгчийн стандарт протоколын дагуу геномын ДНХ-ийг цэврээр ялган авч, полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын аргаар генийн өвөрмөц дарааллыг олшруулсан. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг цэвэршүүлж, сангерын аргаар ДНХ-ийн нуклеотидын дарааллыг тодорхойлов. Дээрх аргын үр дүнг CodonCodeAligner ver.9.0.1 програм ашиглан үр дүнгийн боловсруулалт хийсэн. **Үр дүн:** Судалгаанд оролцогчдын дундаж нас нь 18.6±8.2 жил, хүйсийн бүтцээр авч үзэхэд 58% (n=7) эмэгтэй, 42% (n=5) нь эрэгтэй хүмүүс байв. Эмнэлзүйн уналтын хэлбэрүүд дундаас хамгийн өндөр буюу 33.3% (n=6) хэсэгчилсэн уналт, 22.2% (n=4) тоник-клоник, 16.7% (n=3) клоник таталтууд тус тус эзэлж байна. **Дүгнэлт:** Шалтгаан тодорхойгүй эпилепси өвчин удамшлын олон хэлбэрээр тохиолдож байна. Б, В, Е гэр бүлүүдэд аутосомын доминант, харин А, Г, Д гэр бүлүүдэд аутосомын рецессив хэлбэрээр удамшсан байж болзошгүй юм. Тухайн гэр бүлүүдэд *SCN1A* генийн c.530G>A (p.Gly177Glu), *SLC6A1* генийн c.863C>T (p.Ala288Val) мутациуд илэрсэнгүй.

Үндэслэл: 2019 онд Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллага (ДЭМБ)-ын мэдээллэснээр дэлхий дээр нийт 50 сая гаруй эпилепситэй хүмүүс амьдарч байгаагийн 25% нь 15-аас доош насны хүүхдүүд байдаг. Дэлхийн нийт хүн амын 20-иос доош насны хүмүүсийн 1%, 75-аас дээш насны хүмүүсийн 3% нь эпилепсигээр өвчилдөг гэсэн судалгаа бий.[1] Дэлхийн улс орнуудад эпилепсийн тархалт, нас баралтын үзүүлэлт өндөр байгаа нь (тархалт 1000 хүн амд 6.0, 1 хүртэлх насанд нийт нас баралтын 6.6%) оношлогоо эмчилгээ, нийгмийн халамжийн асуудлыг боловсронгуй болгохыг шаардаж байна.[2] Сүүлийн жилүүдэд эпилепси өвчин судлалын асуудал өргөн цар хүрээг хамарч, эмнэлзүйн электроэнцефалографи (ЭЭГ)-ийн судалгаанаас удамзүй, молекул биологийн түвшинд тавигдан, дэлхий нийтийн өнөөгийн шаардлагын дагуу даяарчлан судлагдах хандлагатай болж байна. Эпилепсийн дотоод хүчин зүйлийн шалтгаанд удмын

хүчин зүйл голлож байгааг олон орны эрдэмтэд судлан тогтоосон. Удамшлын шалтгааны дийлэнхийг ионы суваг уургийн генүүд эзэлж байна. Тухайлбал, хүчдэл хамааралт натрийн ионы сувгийг кодлогч *SCN1A, SCN2A*, хүчдэл хамааралт калийн ионы сувгийг кодлогч *KCNC1, KCNQ2* болон гамма амин бутилын тосны хүчил зөөвөрлөгч уураг (GAT1)-ийг кодлогч *SLC6A1* гэх мэт олон генүүдийн тодорхой хэв шинжүүдийг тогтоогоод байна.[3,4] Одоогоор мэдэгдэж буй дээрх ионы суваг хамааралт генүүд дотроос *SCN1A, SLC6A1* генүүд нь эмнэлзүйн хувьд чухал ач холбогдолтойгоос гадна популяцийн дундах тархалт өндөр (жишээлбэл; Драветын хамшинжийн тархалт 1:20,000-40,000) бөгөөд эпилепси хамааралт олон тооны мутациуд тодорхойлогдсон.[5] Манай орны хувьд эдгээр генүүдийг эмнэлзүйн онцлогтой уялдуулан судлах шаардлага тулгарч байна.

Зорилго: Шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй гэр бүлд *SCN1A* генийн c.530G>A болон *SLC6A1* генийн c.863C>T мутациудыг тодорхойлж, удамшлын онцлогийг судлах

Зорилт:

1. Шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй гэр бүлд удамшлын онцлогийг клиник генеалогийн аргаар тодорхойлох
2. Пробанд болон түүний гэр бүлийн зарим гишүүдэд *SCN1A* болон *SLC6A1* генийн түгээмэл тохиолдох мутациудыг илрүүлэх

Арга, аргачлал: Бид энэхүү судалгааг аналитик судалгааны нэг агшингийн загвараар хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд шалтгаан тодорхойгүй эпилепси оноштой 6, тэдний эцэг эх, садан төрлийн эрүүл 6 нийт 12 хүнийг 1989 оны Олон Улсын Эпилепситэй Тэмцэх Холбоо (ILAE)-ны гаргасан хасах, хамруулах шалгуур, багажийн шинжилгээ болон мэдрэлийн эмчийн үзлэгээр оношийг баталгаажуулан сайн дурын үндсэн дээр хамруулсан. Судалгаанд оролцогчдод *SCN1A* болон *SLC6A1* генүүдийн мутациудыг тодорхойлохдоо бүхэл цуснаас геномын ДНХ-ийг ялган авч, полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын аргаар өвөрмөц бай дарааллыг олшруулан гель электрофорезын аргаар үр дүнг шалгасан. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг цэвэршүүлж, Сангерын аргаар ДНХ-ийн нуклеотидын дарааллыг тодорхойлсон. Дээрх аргын үр дүнгийн боловсруулалтыг CodonCodeAligner ver.9.0.1 програм ашиглан хийж гүйцэтгэсэн болно.

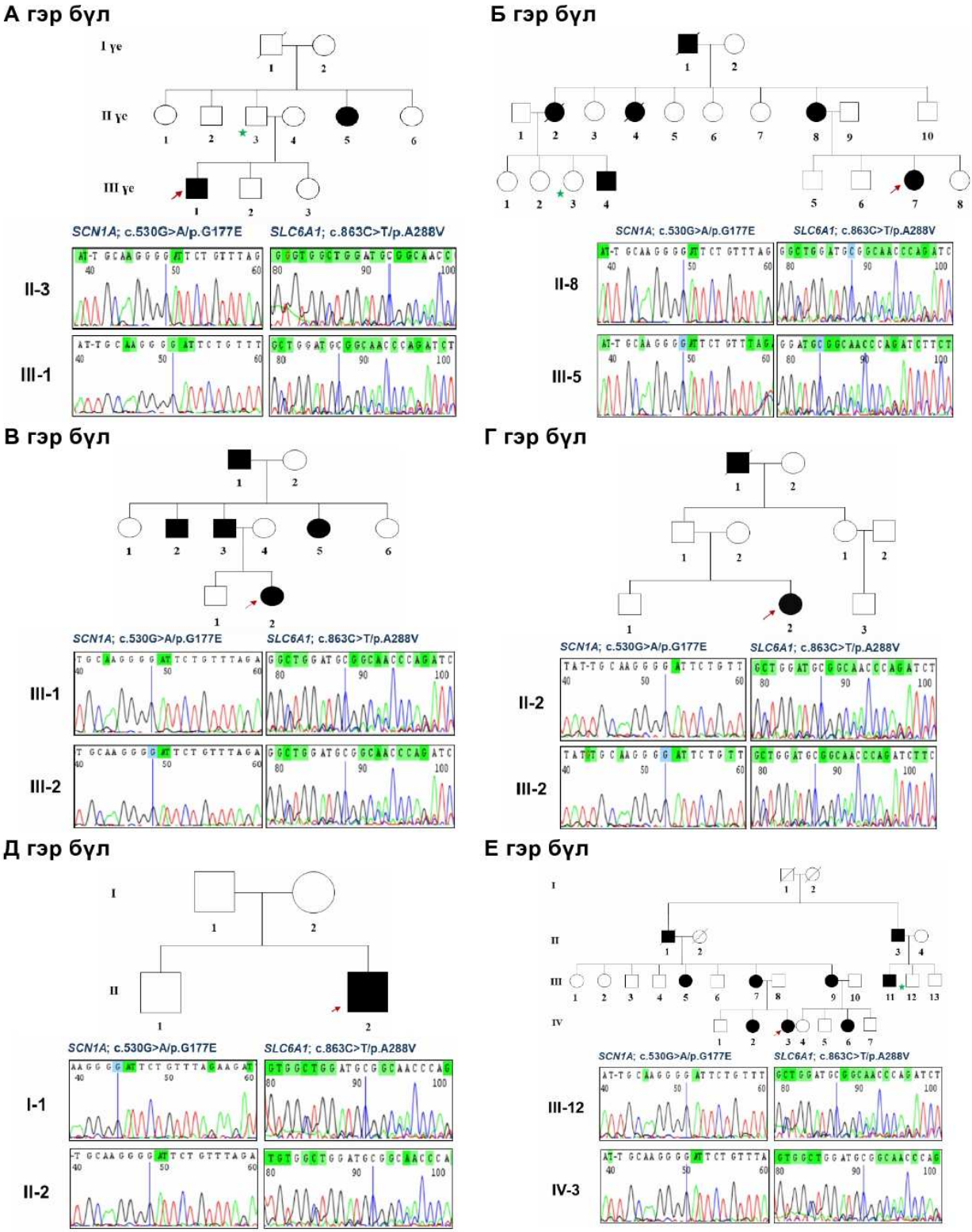
Үр дүн: Судалгаанд 6 гэр бүл тус бүрээс шалтгаан тодорхойгүй эпилепси оноштой 6 пробанд, тэдний эцэг эх, садан төрлийн эрүүл 6 нийт 12 хүн хамрагдсан ба дундаж нас нь 18.6±8.2, хүйсийн бүтцээр авч үзэхэд 58% (n=7) эмэгтэй, 42% (n=5) нь эрэгтэй хүмүүс байв. Мөн эмнэлзүйн үргэлжилсэн хугацаа нь 1 жил хүртэл 4.8% (n=1), 2-5 жил 16.8% (n=3), 6-10 жил 33.4% (n=6), 10-аас дээш жил 45% (n=8) байв. Эмнэлзүйн уналтын хэлбэрүүд дундаас хамгийн өндөр буюу 33.3% (n=6) хэсэгчилсэн уналт, 22.2% (n=4) тоник-клоник, 16.7% (n=3) клоник таталтууд тус тус эзэлж байна. Мөн шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй хүмүүсийн 44.4% (n=8) нь зан төрхийн өөрчлөлт илэрч байсан (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Судалгаанд оролцогчдын талаарх ерөнхий мэдээлэл

Үзүүлэлтүүд	Эрүүл (n=6)	Эпилепси (n=6)	Хувь
Нас	30.2±12.1	6.6±4.3	-
Хүйс			
Эрэгтэй N (%)	3	2	42%
Эмэгтэй N (%)	3	4	58%
Үзүүлэлтүүд		**Эпилепси (n=18)**	**Хувь**
Эмнэлзүйн уналтын хэлбэр			
- Хэсэгчилсэн		6	(33.3%)
- Абсанс		2	(11.1%)
- Клоник		3	(16.7%)
- Тоник		2	(11.1%)
- Миоклоник		1	(5.6%)
- Тоник-клоник		4	(22.2%)
Эмгэг рефлекс		3	(16.7%)
Мэдрэхүйн өөрчлөлт		2	(11.1%)
Хөдөлгөөний өөрчлөлт		5	(27.8%)
Зан төрхийн өөрчлөлт		8	(44.4%)

Тайлбар: *Шалтгаан тодорхойгүй эпилепси; Хувьсагчууд бодит тоо (n) болон давтамжаар (f) илэрхийлэгдсэн.*

Судалгаанд хамрагдсан гэр бүлүүдийн удамшлын онцлогийг клиник генеалогийн аргаар тодорхойлохдоо 6 гэр бүлийн хэд хэдэн үе удмын нийт 49 хүнийг судалгаанд хамруулсан бөгөөд үүний 36.7% (n=18) эпилепситэй бусад нь эрүүл хэмээн тэмдэглэгдсэн болно. Шалтгаан тодорхойгүй эпилепситэй гэр бүлд *SCN1A* генийн c.530G>A болон *SLC6A1* генийн c.863C>T мутациуд илэрсэнгүй (Зураг 1).



Зураг 1. Удмын зураг ба ДНХ-ийн нуклеотидын дарааллыг тодорхойлсон үр дүн.

Тайлбар: Судалгаанд хамрагдсан 6 гэр бүлийг А, Б, В, Г, Д, Е гэх мэт монгол цагаан толгойн үсгээр тэмдэглэсэн. Бидний судалгаанд хамрагдсан гэр бүлүүдэд шалтгаан тодорхойгүй эпилепсийн удамшлын хэлбэр нь 3 гэр бүлд аутосомын доминант, 3 гэр бүлд аутосомын рецессив байв.

Хэлцэмж: Эпилепси нь бүх хэлбэрүүдээр удамших боломжтой бөгөөд түүнээс аутосомын доминант, Х-хромосом ба митохондрын хромосомын удамшил нь харьцангуй их байдаг. Аутосомын доминант хэлбэрээр удамших нь үндсэн 5 шинжүүдтэй байдаг. Үүнд үе бүхэнд өвчлөл илрэх, нэг үед өвчтэй хүүхэд хэд ч төрөх боломжтой, хүйс харгалзахгүй өвчлөл тохиолдох, эцэг эхийн хэн нэг нь өвчтэй тохиолдолд өвчтэй хүүхэд төрөх, эрүүл өвчтэй хүний харьцаа 1:1 дөхөж очих гэсэн шалгуурууд хамаардаг. Манай судалгаанд хамрагдсан удмын эпилепси удамших байдал нь дээрх шалгуурууд таарч байна.[6,7] *SCN1A* генийн rs121918770 мутаци нь c.530G>A нуклеотид солигдсоноор амин хүчлийн 177 дахь дараалалд глицин глутаматаар солигдоход нөлөөлж кодлогч уургийн үйл ажиллагааг алдагдуулдаг. Энэ тохиолдолд уургийн

тогтвортой байдал алдагдаж натрийн ионы сувгийн S2-S3 сегментийн хооронд холбосон цитоплазмын гогцоонд мутаци үүсгэдэг бөгөөд энэ нь цаашлаад натрийн ионы сувгийн үйл ажиллагааны бүрэн алдагдалд хүргэдэг байна.[8,9] *SLC6A1* генийн c.281G>A, c.702C>T, c.863C>T, c.1334A>G, c.1487G>A, c.1648G>A гэх мэтчилэн олон мутациуд нь эпилепси үүсгэдэг.[10] Үүнээс манай судалгаанд 9-р домэйн дээр байрлах c.863C>T нуклеотид солигдсоноор амин хүчлийн 288 дах дараалын аланин валин (p.Ala288Val)-аар солигддог мутацийг эпилепситэй холбон судласан. c.863C>T мутаци тодорхойлсон дүнд эрүүл зургаа, эпилепситэй 6 тохиолдолд бүгдэд нь С аллель илэрсэн байгаа нь уг гэр бүлүүдэд тус мутаци эпилепси үүсэх шалтгаан болохгүй байгааг харуулж байна.

2015 онд Карвилл нарын судалгаагаар нийт 644 шалтгаан тодорхойгүй эпилепси оноштой хүмүүст судалгаа явуулахад 85 хүнд *SLC6A1* генийн 6 мутаци илэрсэн бөгөөд эдгээр 85 хүмүүс нь миоклоник-атоник таталттай байсан. Тухайлбал; миоклоник-атоник таталттай 8 болон 16 настай охинд гетерозигот *de novo* 131G>A, c.889G>A мутаци илэрсэн байсан бол эх болон охинд c.863C>T нуклеотидын солигдол тус тус илэрсэн байна. *SLC6A1* генийн 863C>T мутацийн тохиолдолууд нь *de novo* байсан бөгөөд бүгд эхээс удамшин дамжсан байна. Судлаачид энэхүү генийн мутациуд нь миоклоник-атоник таталт үүсэхэд илүүтэй нөлөөлж байна гэж үзсэн.[11] Энэ нь бидний судалгааны үр дүн болох эпилепси оноштой хүмүүсийн эрсдэл бүхий генотиптэй хүмүүсийн 33.3%-д нь эхээс удамшин дамжсан байгаатай дүйцэж байна. Цаашид энэхүү судалгааг илүү дэлгэрүүлэхийн тулд шалтгаан тодорхойгүй эпилепси оноштой хүмүүсийн тоог нэмэгдүүлж, бүхэл геномын шинжилгээг хийх шаардлагатай хэмээн үзэж байна.

Дүгнэлт:

1. Шалтгаан тодорхойгүй эпилепси өвчин удамшлын олон хэлбэрээр тохиолдож байна. Тухайлбал бидний судалгаанд хамрагдсан Б, В, Е гэр бүлүүдэд аутосомын доминант, харин А, Г, Д гэр бүлүүдэд аутосомын рецессив хэлбэрээр удамшсан байж болзошгүй юм.
2. Тухайн гэр бүлүүдэд SCN1A генийн c.530G>A (p.Gly177Glu), SLC6A1 генийн c.863C>T (p.Ala288Val) мутациуд илэрсэнгүй.

Ном зүй:

1. *WHO [webpage on the Internet]. WHO Fact Sheet on Epilepsy [updated February 2019]. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy Accessed 2019 Jan 10*
2. *Giussani G, Cricelli C, Mazzoleni F, Cricelli I, Pasqua A. Prevalence and Incidence of Epilepsy in Italy Based on a Nationwide Database. PubMed Commons below Neuroepidemiology 2014;43:228-232.*
3. *Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S, Dibbens LM, Berkovic SF, Harkin LA. SCN1A mutations and epilepsy. Human mutation. 2005;25(6):535-542.*
4. *Jentsch TJ. Neuronal KCNQ potassium channels: physislogy and role in disease. Nature Reviews Neuroscience. 2000;1(1):21-30.*
5. *Brunklaus A, Ellis R, Reavey E, Forbes GH, Zuberi SM. (2012) Prognostic, clinical and demographic features in SCN1A mutation-positive dravet syndrome. Brain 135: 2329-2336. 10.1093/brain/aws151; 10.1093/brain/aws151.*
6. *Hayman M, Scheffer I, Chinvarun Y, Berlangieri S, Berkovic S. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: demonstration of focal frontal onset and intrafamilial variation. Neurology. 1997;49(4):969-975.*
7. *Phillips H, Scheffer I, Berkovic S, Hollway G, Sutherland G, Mulley J. Localization of a gene for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy to chromosome 20q13. 2. Nature genetics. 1995;10(1):117-118.*
8. *Kwong AK, Fung CW, Chan SY, Wong VC. Identification of SCN1A and PCDH19 mutations in Chinese children with Dravet syndrome. PLoS One. 2012;7(7):e41802.*
9. *Nissenkorn A, Almog Y, Adler I, et al. In vivo, in vitro and in silico correlations of four de novo SCN1A missense mutations. PLoS One. 2019;14(2):e0211901*
10. *Usluer S, Salar S, Arslan M, et al. SCN1A gene sequencing in 46 Turkish epilepsy patients disclosed 12 novel mutations. Seizure. 2016;39:34-43.*
11. *Carvill GL, McMahon JM, Schneider A, Zemel M, Myers CT, Saykally J, Nguyen J, Robbiano A, Zara F, Specchio N, Mecarelli O, Smith RL, Leventer RJ. Mutations in the GABA Transporter SLC6A1 Cause Epilepsy with Myoclonic-Atonic Seizures. Am J Hum Genet 2015;96(5):808-15.*

Detection of *SCN1A* gene c.530G>A and *SLC6A1* gene c.863C>T mutations in families with idiopathic epilepsy

Tulgaa S[1], Sugarjav D[1], Khongorzul O[1], Ulaankhuu A[2], Sansarmaa D[3], Enkhgerel Kh[4], Tovuudorj A[5], Purevsuren L[1], Purevdorj I[1], Jambaldorj J[1]

[1]Department of Molecular Biology and Genetics, School of Biomedicine, MNUMS
[2]State Central Veterinary Laboratory, ADDSD
[3]Dornogovi branch, School of Medicine, MNUMS
[4]Neuron hospital, Erdenet city
[5]Department of Internal Medicine, School of Medicine, MNUMS
E-mail: tulgaa@mnums.edu.mn, Tel: 89453525

Background: Genetics factors account for the majority of internal causes of epilepsy, and more than 500 genes associated with epilepsy have been identified. To date, mutations in genes encoding 10 different types of ion channel subunits have been shown to be involved in the development of idiopathic epilepsy.
Aim: Identify *SCN1A* gene c.530G>A and *SLC6A1* gene c.863C>T mutations in families with idiopathic epilepsy and study hereditary features.
Materials and Methods: This study was conducted in cross sectional and analytical design and involved 6 individuals who diagnosed with epilepsy and 6 family members healthy with informed consent and questionnaire. In the study, mutations in the *SCN1A* and *SLC6A1* genes were identified by taking 3 to 5 ml of whole blood from peripheral blood, extracted gDNA according to the manufacturer's standard protocol, and amplified using specific sequences by polymerase chain reaction (PCR). The PCR product was purified and DNA nucleotide sequence was determined by the sanger method. The results of the above method were processed using the CodonCodeAligner ver.9.0.1 program.
Results: The mean age of the participants was 18.6±8.2 years, and in terms of gender structure, 58% (n=7) were women and 42% (n=5) were men. Among the clinical forms of seizures, 33.3% (n=6) were partial seizures, 22.2% (n=4) were tonic-clonic, and 16.7% (n=3) were clonic seizures.
Conclusion: Idiopathic epilepsy occurs in many hereditary forms. Families B, C, and F may be autosomal dominant, and families A, D, and E may be inherited as autosomal recessive. Mutations of c.530G> A (p.Gly177Glu) of the *SCN1A* gene and c.863C> T (p.Ala288Val) of the *SLC6A1* gene were not detected in these families.

Keywords: Dravet syndrome, generalized epilepsy with febrile seizures plus, myoclonic-atonic seizures, clinical genealogy, clinical symptoms.