

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ТРУШ
Роман Олегович

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ
ЭПИЛЕПСИИ У ДЕТЕЙ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
Воронкова Е.В.

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 45с., 5 рис., 4 табл., 59 источника.

Ключевые слова: Эпилепсия, мутация, фармакорезистентная эпилепсия, диагностика, происхождение мутации.

Объект исследования: мутации ДНК пациентов с установленной фармакорезистентной эпилепсией.

Цель: Идентифицировать генетические факторы, обуславливающие лекарственную устойчивость эпилепсии у детей.

Материалы и методы: Образцы буккального эпителия от 5 пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, полученные в ходе реализации проекта, выполнявшегося ранее в лаборатории нехромосомной наследственности ИГиЦ НАН Беларуси. Молекулярно-генетические методы (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, электрофорез в агарозном геле, биоинформационная—обработка данных NGS, секвенирование по Сэнгеру).

На основе блока данных, полученных при секвенировании с помощью системы Illumina пациентов с фармакорезистентной эпилепсией (клинический экзом Illumina) выявлены вероятные полиморфные локусы, связанные с наличием специфических мутаций, характерных для больных эпилепсией. Для подтверждения наличия мутаций у пяти пациентов были разработаны праймеры, позволяющие амплифицировать проблемные участки ДНК для последующего их секвенирования по Сэнгеру с целью подтверждения наличия возможных мутаций и осуществлена работа по верификации ранее полученных данных секвенирования клинического экзома данных пациентов.

В ходе выполнения исследования было подтверждено наличие мутаций ДНК у трех из пяти обследованных пациентов. При этом у пациента №1 обнаружена мутация *de novo*. У пациента № 2 выявлена аутосомно-рецессивная мутация, унаследованная от обоих родителей, а у пациента № 3 диагностирована мутация, сцепленная с X-хромосомой и унаследованная от гетерозиготной по данной мутации матери.

Выявленные варианты локализованы в генах: *TSEN54* (NM_207346:c.919G>T), *SYNGAP1* (NM_006772:c.1167_1168del), *DCX* (NM_178153:c.587G>A). Они представлены миссенс-мутациями с нуклеотидной заменой (G>T, G>A), а также делецией, вызывающей сдвиг рамки считывания.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 45с., 5 мал., 4 табл., 59 крыніцы.

Ключавыя словы: Эпілепсія, мутацыя, фармакарэзістэнтнасць эпілепсія, дыягностыка, паходжанне мутацыі.

Аб'ект даследавання: мутацыі ДНК пацыентаў з усталяванай фармакарэзістэнтнай эпілепсіяй.

Мэта: Ідэнтыфікаваць генетычныя фактары, якія абумаўляюць лекавую ўстойлівасць эпілепсіі ў дзяцей.

Матэрыялы і метады: Узоры букальнага эпітэлія ад 5 пацыентаў з фармакарэзістэнтнай эпілепсіяй, атрыманыя ў ходзе рэалізацыі праекта, які выконваўся раней у лабараторыі нехрамасомнай спадчыннасці ІГіЦ НАН Беларусі. Малекулярна-генетычныя метады (вылучэнне ДНК, палімеразную ланцуговая рэакцыя, электрофарэз у агарозным гелі, біяінфармацыйная апрацоўка дадзеных NGS, секвеніраванне па Сэнгер).

На аснове блока дадзеных, атрыманых пры секвеніраванні з дапамогай сістэмы Illumina пацыентаў з фармакарэзістэнтнай эпілепсіяй (клінічны экзом Illumina) выяўлены верагодныя паліморфныя локусы, звязаныя з наяўнасцю спецыфічных мутацый, характэрных для хворых эпілепсіяй. Для пацверджання наяўнасці мутацый у пяці пацыентаў былі распрацаваны праймер, якія дазваляюць ампліфікаваць проблемныя ўчасткі ДНК для наступнага іх секвеніравання па Сэнгер з мэтай пацверджання наяўнасці магчымых мутацый і ажыццёўлена праца па верыфікацыі раней атрыманых дадзеных секвеніравання клінічнага экзома дадзеных пацыентаў.

У ходзе выканання даследавання было пацверджана наяўнасць мутацый ДНК у трох з пяці абследаваных пацыентаў. Пры гэтым у пацыента № 1 выяўлена мутацыя *de novo*. У пацыента № 2 выяўлена аўтасомна-рэцэсывная мутацыя, успадкаваная ад абодвух бацькоў, а ў пацыента № 3 дыягнаставана мутацыя, счэпленая з X-храмасомай і ўспадкаваная ад гетэрозиготной па дадзенай мутацыі маці.

Выяўленыя варыянты лакалізаваны ў генах: *TSEN54* (NM_207346: с.919G> T), *SYNGAP1* (NM_006772: с.1167_1168del), *DCX* (NM_178153: с.587G> A). Яны прадстаўлены місэнс-мутацыямі з нуклеатыднай заменай (G>T, G>A), а таксама дэлюцыяй, якая выклікае зрух рамкі счытвання.

ABSTRACT

Diploma work 45 pages, 5 figures, 4 tables, 59 sources.

Key words: Epilepsy, mutation, drug-resistant epilepsy, diagnostics, origin of mutation.

Object of study: DNA mutations in patients with established drug-resistant epilepsy.

Objective: To identify genetic factors that determine drug resistance in children in epilepsy.

Materials and methods: Buccal epithelium samples from 5 patients with drug-resistant epilepsy obtained during the implementation of a project previously carried out in the Laboratory of Non-chromosomal Heredity of the Institute of Genetics and Clinical Research of the National Academy of Sciences of Belarus. Molecular genetic methods (DNA isolation, polymerase chain reaction, agarose gel electrophoresis, bioinformatics processing of NGS data, Sanger sequencing).

Based on the data block obtained during sequencing of patients with drug-resistant epilepsy using the Illumina system (Illumina clinical exome), probable polymorphic loci associated with the presence of specific mutations characteristic of epilepsy patients were identified. To confirm the presence of mutations in five patients, primers were developed to amplify problematic DNA regions for their subsequent Sanger sequencing in order to confirm the presence of possible mutations, and work was carried out to verify the previously obtained clinical exome sequencing data for these patients.

During the study, the presence of DNA mutations was confirmed in three of the five examined patients. In this case, patient #1 was found to have a de novo mutation. Patient #2 was found to have an autosomal recessive mutation inherited from both parents, and patient #3 was diagnosed with an X-linked mutation inherited from a mother heterozygous for this mutation. The identified variants are localized in the genes: *TSEN54* (NM_207346:c.919G>T), *SYNGAP1* (NM_006772:c.1167_1168del), *DCX* (NM_178153:c.587G>A). They are represented by missense mutations with a nucleotide substitution (G>T, G>A), as well as a deletion causing a shift in the reading frame.