

УДК 616.896-053.2|465*4/*12|:611.018.53:577.213

Для цитирования: Ершова Е.С., Чудакова Ю.М., Вейко Н.Н., Мартынов А.В., Костюк С.Э., Костюк С.В., Балакирева Е.Е., Шушпанова О.В., Никитина С.Г., Блинова Т.Е., Шалина Н.С., Коваль-Зайцев А.А., Иванов М.В. Вариации содержания сателлита III (1q12) и рибосомного повтора в ДНК лейкоцитов крови детей с расстройствами аутистического спектра в процессе терапии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2024. № 4 (125). С. 17-26. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-4\(125\)-17-26](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-4(125)-17-26)

Вариации содержания сателлита III (1q12) и рибосомного повтора в ДНК лейкоцитов крови детей с расстройствами аутистического спектра в процессе терапии

Ершова Е.С.¹, Чудакова Ю.М.¹, Вейко Н.Н.¹, Мартынов А.В.¹, Костюк С.Э.¹, Костюк С.В.¹, Балакирева Е.Е.², Шушпанова О.В.², Никитина С.Г.², Блинова Т.Е.², Шалина Н.С.², Коваль-Зайцев А.А.², Иванов М.В.²

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова»
Россия, Москва, 115478, Москворечье ул., 1

² ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Известно, что обострение хронических психических заболеваний сопровождается высоким уровнем психоэмоционального стресса, а также связано с активацией неспецифического воспаления и усилением окислительного стресса. Дети с РАС более подвержены неблагоприятному влиянию стресса, чем нормотипичные дети, в связи с высоким уровнем коморбидности РАС с другими расстройствами. В более ранних работах описана взаимосвязь между окислительным стрессом и повторяющимися последовательностями ДНК (повторы), составляющими большую часть генома человека. Содержание сателлита III (1q12) в геномах детей с РАС и влияние терапии на этот показатель не определяли. В данном исследовании впервые установлено количество рибосомного повтора и сателлита III (1q12) в ДНК лейкоцитов крови детей с РАС, которые обращались в отдел детской психиатрии в связи с ухудшением психического состояния (нарастание сопутствующих расстройств поведения и/или настроения), и проанализировано влияние терапии на содержание этих повторов. **Цель:** анализ содержания повторов генома (рибосомного, сателлита III – 1q12) в образцах ДНК лейкоцитов крови детей с РАС и сопутствующими расстройствами в стадии обострения с целью анализа влияния терапии на содержание этих повторов. **Пациенты и методы.** В основную группу исследования вошло 35 детей от 4 до 12 лет (средний возраст $7,2 \pm 2,2$ года) с основным диагнозом по МКБ-10: детский аутизм (F84.0), атипичный аутизм (F84.1) и с сопутствующим диагнозом: другие тревожные расстройства (F41), реакция на тяжелый стресс и нарушения адаптации (F43), умственная отсталость со значительными нарушениями поведения (F7х.1), смешанные расстройства поведения и эмоций (F92). Группу контроля составили 91 ребенок и 100 взрослых. Отбор пациентов проводился с использованием клинико-психопатологического метода. Были взяты пробы венозной крови: проба 1 – образцы ДНК детей до начала новой терапии, пробы 2, 3 и 4 – образцы ДНК, полученные через 2, 4 и 6 недель терапии. Выделение ДНК проводили методом экстракции органическими растворителями. Содержание трех повторов в ДНК определяли методом нерадиоактивной количественной гибридизации. Данные анализировали с использованием пакета программ StatPlus2007 Professional software, MedCalc, Excel Microsoft Office, StatGraph. **Результаты.** Образцы ДНК детей с РАС не отличались по содержанию рибосомных повторов от группы контроля детей того же возраста. Содержание сателлита III существенно варьировало у большинства пациентов в процессе терапии: возрастало в 1,1-2 раза у 18 пациентов (51%), снижалось в 1,1-4,3 раза у 12 пациентов (34%), не изменялось у 5 пациентов. Содержание сателлита возрастало в случае исходно низкого уровня повтора и снижалось в случае исходно высокого уровня. В пробе 4 распределение для значений параметра S практически не отличалось от распределения в группе контроля. **Заключение.** Вне зависимости от первоначальных значений содержание сателлита III (1q12) в крови детей с РАС и обострением сопутствующей симптоматики стабилизируется на уровне группы контроля на фоне проводимой терапии антипсихотическими препаратами. Вероятно, данные изменения связаны с улучшением психического состояния и снижением общего уровня стресса. Параметр R (рибосомный повтор) на протяжении данного исследования не изменялся.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, дети, вариации содержания, сателлит III (1q12), рибосомный повтор, ДНК лейкоцитов крови, психофармакотерапия.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что обострение хронических психических заболеваний сопровождается высоким уровнем психоэмоционального стресса, а также связано с активацией неспецифического воспаления и усилением окислительного стресса [1]. Дети с РАС чаще, чем нормотипичные дети, подвержены неблагоприятному воздействию стресса в связи с высоким уровнем коморбидности РАС с другими расстройствами, в частности с тревожными расстройствами, ОКР, эмоциональными нарушениями. Кроме того, трудности социализации, замкнутость, стеснительность, сенсорные особенности, отсутствие благополучной среды для развития также в значительной степени усиливают

дистресс. Высокая степень тревожности у детей с РАС связана с повышенным уровнем гормонов стресса, что было показано в недавнем исследовании [2]. В более ранних работах была описана взаимосвязь между окислительным стрессом и повторяющимися последовательностями ДНК (повторы), которые составляют большую часть генома человека [3]. Многие повторы организованы по типу «голова-хвост» и относятся к типу тандемных повторов [4]. При исследовании геномов пациентов с шизофренией ранее нами обнаружены значительные изменения в содержании двух тандемных повторов у пациентов выборки по сравнению со здоровым контролем – рибосомного повтора и сателлита III (1q12) [5] (рис. 1).

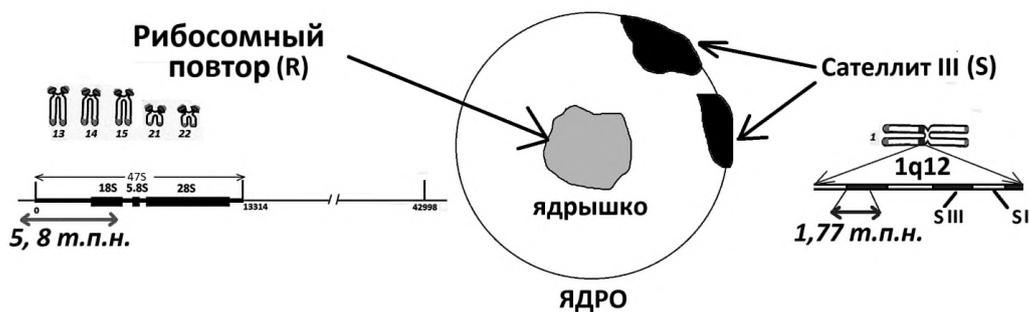


Рисунок 1. Схема анализируемых тандемных повторов генома человека. Показаны используемые для гибридизации ДНК-зонды.

Рибосомный повтор локализован в р-районах 5 пар акроцентрических хромосом и кодирует РНК рибосом [6]. Сателлит III (1q12) входит в состав прицентромерного гетерохроматина первой хромосомы. В условиях стресса и при старении этот повтор транскрибируется [7]. Транскрипция сателлита может приводить к амплификации повтора. В процессе задействована обратная транскриптаза [8]. Кровь пациентов с шизофренией содержит повышенные количества рибосомного повтора и низкие количества сателлита III (1q12) [5]. Содержание сателлита III (1q12) коррелирует с тяжестью психического состояния пациентов [9]. Было показано, что содержание рибосомного повтора в геномах детей с шизофренией статистически значимо повышено по сравнению с геномами детей с РАС и здоровых детей, что потенциально может быть использовано в дифференциальной диагностике этих заболеваний [10]. Однако содержание сателлита III (1q12) в геномах детей с РАС и влияние терапии на этот показатель не определяли. В настоящем исследовании нами впервые установлено количество рибосомного повтора и сателлита III (1q12) в лейкоцитах крови детей с РАС, которые были госпита-

лизованы в связи с ухудшением психического состояния, и проанализировано влияние терапии на содержание этих повторов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ содержания повторов генома (рибосомного, сателлита III – 1q12) в образцах ДНК лейкоцитов крови детей с РАС и сопутствующими расстройствами в стадии обострения с целью анализа влияния терапии на содержание этих повторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе отдела детской психиатрии (ФГБНУ «Научный центр психического здоровья») и лаборатории молекулярной биологии (ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова»).

Основная выборка исследования (основная группа) включала 35 детей в возрасте от 4 до 12 лет (средний возраст $7,2 \pm 2,2$ года), обратившихся в отдел детской психиатрии ФГБНУ НЦПЗ в связи с обострением психического состояния. Для отбора и включения пациентов в исследование использовали клинко-психопатологический метод, который предполагает психопатологическую оценку поведения пациента в различных ситуаци-

ях, анализ эмоциональных и когнитивных реакций и особенностей социального поведения. Состояние пациентов количественно оценивалось по следующим шкалам: тяжесть заболевания – по шкале оценки тяжести (CGI-ADHD-Severity), выраженность клинических проявлений аутистических расстройств – по шкале оценки детского аутизма (Childhood Autism Rating Scale – CARS [11]), выраженность когнитивных нарушений – по шкале оценки развития, психолого-педагогический профиль (PEP-3) [10].

Состояние пациентов оценивалось при поступлении, через 2, 4 и 6 недель терапии. Также были взяты пробы венозной крови: проба 1 (n=35) – образцы ДНК детей до начала новой терапии, пробы 2 (n=32), 3 (n=28) и 4 (n=26) – соответственно образцы ДНК, полученные через 2, 4 и 6 недель терапии. Часть детей (n=9) выбыла из эксперимента в силу различных причин.

Критерии включения: пациенты с верифицированными диагнозами по МКБ-10: основной диагноз – детский аутизм (F84.0), атипичный аутизм (F84.1), сопутствующий диагноз – другие тревожные расстройства (F41), реакция на тяжелый стресс и нарушения адаптации (F43), умственная отсталость со значительными нарушениями поведения (F7x.1), смешанные расстройства поведения и эмоций (F92), наличие подписанной формы информированного согласия законных представителей ребенка на участие в исследовании.

Критерии не включения: пациенты с синдромальными формами атипичного аутизма (врожденные дефекты обмена веществ, хромосомные аномалии), прогрессирующие дегенеративные заболевания, органические заболевания ЦНС, эпилепсия, наличие клинических признаков обострения аллергических, воспалительных и аутоиммунных заболеваний, проведение вакцинопрофилактики в течение предшествующих обследованию 2 месяцев, медикаментозная или иная интоксикация, гиперчувствительность к любому из компонентов применяемых в исследовании препаратов, участие в других клинических исследованиях в течение 4 недель перед включением в данное исследование.

Терапия

Все пациенты получали терапию нейрорепетитивными препаратами с целью снятия избыточной раздражительности, психомоторного возбуждения, а также в качестве тимостабилизирующих средств. Были использованы следующие препараты в таблетированной или жидкой форме в качестве монотерапии или аугментации: рisperидон до 2 мг/сут, арипипразол до 15 мг/сут, палиперидон до 9 мг/сут, перфеназин до 30 мг/сут, хлорпромазин до 100 мг/сут, перициазин до 15 мг/сут, хлорпромазин до 100 мг/сут, перициазин до 15 мг/сут, алимемазин до 20

мг/сут. Было получено информированное согласие на применение лекарств off-label от законных представителей пациентов, а также получено разрешение врачебной комиссии ФГБНУ НЦПЗ. В процессе лечения проводилась коррекция доз препаратов для достижения оптимального лечебного эффекта, которая окончательно завершалась к выписке из стационара, при этом все пациенты продемонстрировали стабильную положительную динамику в виде улучшения настроения, снижения тревоги и агрессии.

Группы контроля

В исследовании использовались образцы ДНК жителей Москвы и Московской области (n=191) в возрасте от 5 до 30 лет. Эти образцы были выделены из лейкоцитов крови ранее и хранились при -80°C в коллекции образцов ДНК лаборатории Молекулярной биологии Медико-генетического центра. 91 образец ДНК был выделен из крови детей в возрасте от 3 до 12 лет. 100 образцов ДНК выделены из крови здоровых людей в возрасте от 20 до 30 лет. У участников исследования отсутствовали явные психические или генетические нарушения и не было родственных связей с генетической патологией.

Лабораторные исследования

Количественный анализ тандемных повторов генома представляет значительные трудности. Метод ПЦР мало применим для этой цели [16]. Биоинформатический подход, основанный на анализе данных секвенирования генома, дает плохо воспроизводимые для одних и тех же образцов ДНК результаты. Авторы связывают этот факт с техническими особенностями метода приготовления библиотек для секвенирования, который включает использование ПЦР [17]. Кроме того, тандемные повторы незначительно представлены в базах данных, поэтому до сих пор составляют «серые зоны» генома [3, 4]. В МГНЦ для количественного анализа тандемных повторов разработан метод нерадиоактивной количественной гибридизации (NQH [14]). Метод положительно зарекомендовал себя при анализе рибосомного и сателлитного повторов [5, 9, 13, 14, 16]. Новый метод секвенирования, который не предполагает создание библиотек (оксфордская нанопора), полностью подтвердил данные для рибосомного повтора, полученные ранее с использованием метода NQH [18]. Метод NQH был применен в данном исследовании для количественного анализа двух повторов. Выделение ДНК из лизированной лейкоцитарной массы после обработки РНКазой А и протеиназой К (метод экстракции органическими растворителями), измерение концентрации ДНК в растворе (флуоресцентная микроскопия, краситель PicoGreen) и анализ содержания повторов в ДНК методом NQH подробно

описаны в наших предыдущих публикациях [13, 14] и проводились без изменений. Для анализа рибосомного повтора применяли ДНК-зонд, который содержал EcoRI фрагмент транскрибируемой области повтора (5836 п.н., позиции от -515 до 5321 п.н.; GenBank № U13369), клонированный в плазмиду pBR322 (рис. 1). Зонд на сателлит III – клонированный в плазмиду EcoRI фрагмент области 1q12 длиной 1,77 т.п.н. – известен как pUC1.77 [15]. ДНК-зонды метили никотинил-11-dUTP.

Статистические методы

В рамках одного NQN-опыта на фильтр наносили по 3 параллельных пробы каждого образца ДНК. Опыт повторяли 2 раза. Для определения содержания повторов по результатам гибридизации использовали программу Image 6.0 (Медико-генетический центр). Для анализа результатов применяли методы непараметрической статистики Манна-Уитни (сравнение выборок по содержанию повторов, вероятность p) и Колмогорова-Смирнова (сравнение распределений образцов ДНК по содержанию повторов, параметры D и α). Для анализа корреляций между величинами применяли статистику Спирмена. Данные анализировали с использованием пакета StatPlus2007 Professional software (<http://www.analystsoft.com/>).

Этический аспект

От участников старше 16 лет получено информированное согласие. Родители участников в возрасте от 5 до 16 лет подписывали информированное согласие на обследование, лечение, отбор венозной крови (6 мл) и проведение научно-исследовательских экспериментов с биоматериалом, взятым у ребенка (анализ ДНК).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала терапии в клинической картине заболевания, помимо аутистического симптомокомплекса, отмечались психомоторное возбуждение, импульсивность, негативизм, эпизоды агрессивного поведения, аффективная патология от непродуктивных гипоманий до депрессивных расстройств с незавершенной депрессивной триадой, раздражительностью и тревогой, нарушения ночного сна с частыми пробуждениями, когнитивный дефицит различной степени выраженности, сопровождаемый нарушением речевой функции. По данным анамнеза изменения в психическом состоянии происходили спонтанно или под влиянием внешней провокации (переезд, посещение новой группы или класса).

По результатам комплексного динамического психологического обследования с использованием стандартизированных методик по шкалам РЕР выявлено отставание по количественным показателям РЕР в сферах подражания и коммуникации в сочетании с выраженной диссоциацией указан-

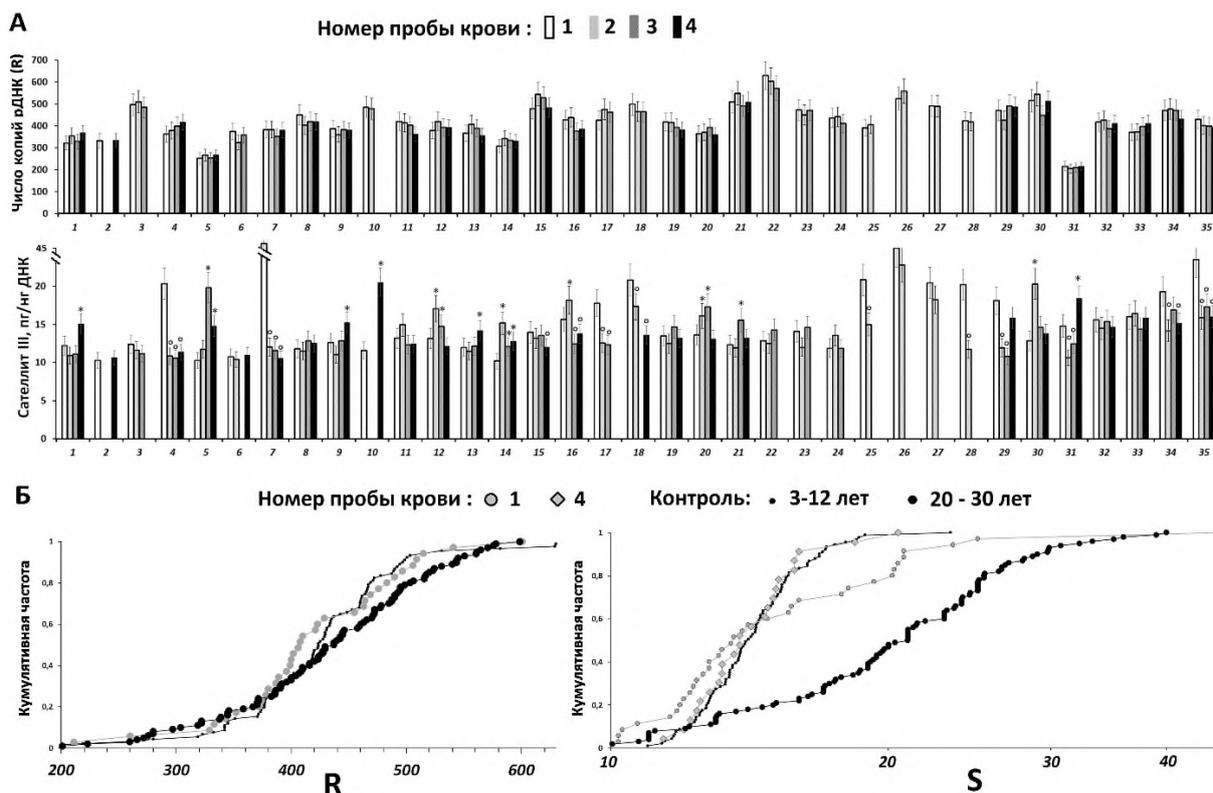
ных сфер. Исследование тонкой моторики, зрительно-двигательной координации и вербальной сферы показало небольшое снижение относительно значений нормы. Крупная моторика и восприятие отставали от нормы незначительно. Обследуемые демонстрировали низкую толерантность к нагрузкам, быструю истощаемость психической деятельности (внимания), непоследовательность в выполняемых действиях и, следовательно, низкую продуктивность работы. Наблюдалась небольшая тенденция в зоне ближайшего развития зрительно-двигательной координации. По шкале CARS существенного изменения общего балла не обнаружено. По шкале CGI-S тяжесть психического состояния на фоне проводимой терапии снизилась у всех пациентов основной группы за счет стабилизации настроения, снижения уровня психомоторного возбуждения и купирования агрессии и раздражительности.

На рисунке 2А приводятся данные о содержании рибосомного повтора (параметр R) и сателлита III (1q12) (параметр S) в образцах ДНК, выделенной из лейкоцитов крови детей с РАС. Первоначальная выборка включала 35 детей, госпитализированных в НЦПЗ в связи с обострением психического состояния. Пробы 1 ($n=35$) – образцы ДНК детей до начала новой терапии, пробы 2 ($n=32$), 3 ($n=28$) и 4 ($n=26$) – соответственно образцы ДНК, полученные через 2, 4 и 6 недель терапии. Часть детей выбыла из эксперимента в силу различных причин.

Содержание рибосомного повтора в ДНК детей варьирует от 211 до 601 копии на диплоидный геном (среднее 419 ± 78 , медиана 408 копий, коэффициент вариации 0,19). Пробы 2, 3 и 4 содержали такое же количество повтора, что и проба 1 (рис. 2). Варьирование параметра R в каждой точке не превышало стандартную ошибку опыта (рис. 3А). Таким образом, мы еще раз подтвердили стабильность содержания рибосомного повтора в геноме и независимость этого генетического параметра от терапии антипсихотиками и хронического стресса.

Распределение параметра R в группе обследуемых не отличалось от распределения в группе контроля детей того же возраста (рис. 2Б), что полностью воспроизводит ранее полученный результат [10]. Геномы детей с РАС содержат аналогичное количество копий рДНК, что и геномы здоровых детей.

Содержание сателлита III в ДНК детей с РАС до начала терапии (точка 1) варьирует от 10,2 до 45,5 пг/нг ДНК (среднее $14,4 \pm 2,0$, медиана 13,6 пг/нг ДНК, коэффициент вариации 0,41). В контрольной выборке детей параметр S варьирует от 11 до 23,3 пг/нг ДНК (среднее $16,9 \pm 6,5$, медиана 14,1 пг/нг ДНК, коэффициент вариации 0,14).



Р и с у н о к 2. Содержание рибосомного и сателлитного повторов в ДНК лейкоцитов крови детей с РАС

А. Экспериментальные данные, отражающие содержание рДНК (верхний график) и сателлита III (нижний график) в образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов крови детей. Для каждого пациента проводили от 2 до 4 заборов крови в течение нескольких недель (номера проб от 1 до 4). Ось X: указан порядковый номер обследованного. Приводятся средние значения и стандартное отклонение. Значки (*) и (°) отражают статистически значимые различия (соответственно увеличение или снижение, $p < 0,05$) в содержании повтора в пробах пациента 2, 3 и 4 по сравнению с пробой 1 (до начала терапии).

Б. Сравнение распределений содержания рДНК (слева) и сателлита III (справа) в образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов крови пациентов и здоровых детей группы контроля. Приводится также распределение параметров R и S в более старшей возрастной группе (20-30 лет, $n=100$). Ось X: количество копий рибосомной ДНК на диплоидный геном (слева), содержание сателлита III в ДНК пг/нг (справа). Ось Y: кумулятивная частота.

Выборка здоровых детей (группа контроля) статистически значимо отличается от выборки здоровых взрослых меньшими значениями параметра S (рис. 2Б), что подтверждает ранее опубликованные данные [14]. Выборки детей с РАС до терапии и здоровых детей не различаются по значениям параметра S ($p > 0,5$), однако различаются (рис. 2Б) по характеру распределений ($D=0,28$, $\alpha=0,03$). Распределения пересекаются в точке 15 пг/нг ДНК. 40% образцов ДНК детей с РАС (точки 1) содержат повышенное количество сателлита III. Вместе с тем 60% образцов, напротив, содержат меньшее количество сателлита III по сравнению с группой контроля. Коэффициент вариации параметра S в основной группе обследуемых был в 3 раза выше, чем в выборке здоровых детей. Более высокое содержание сателлита III в ДНК ассоциировано с накоплением в клеточной популяции клеток с большими блоками сателлита III. Эти клетки

не отвечают на различные стимулы, не способны к развитию адаптивного ответа на стресс и демонстрируют низкую устойчивость к окислительному стрессу [19]. Количество таких клеток существенно возрастает при старении культивируемых клеток, в лейкоцитах крови пожилых людей и в условиях окислительного стресса [14, 19]. В то время как накопление таких клеток в лейкоцитах детей с РАС свидетельствует о снижении эффективности их элиминации из кровотока путем апоптоза и/или об усилении процессов, приводящих к накоплению сателлита III в клетках [20].

В отличие от параметра R, параметр S существенно варьировал у большинства пациентов в процессе терапии. Содержание сателлита III в ДНК возрастало в ходе терапии в 1,1-2 раза у 18 пациентов (51%), снижалось в 1,1-4,3 раза у 12 пациентов (34%) и оставалось неизменным у 5 пациентов (рис. 2А и рис. 3А).

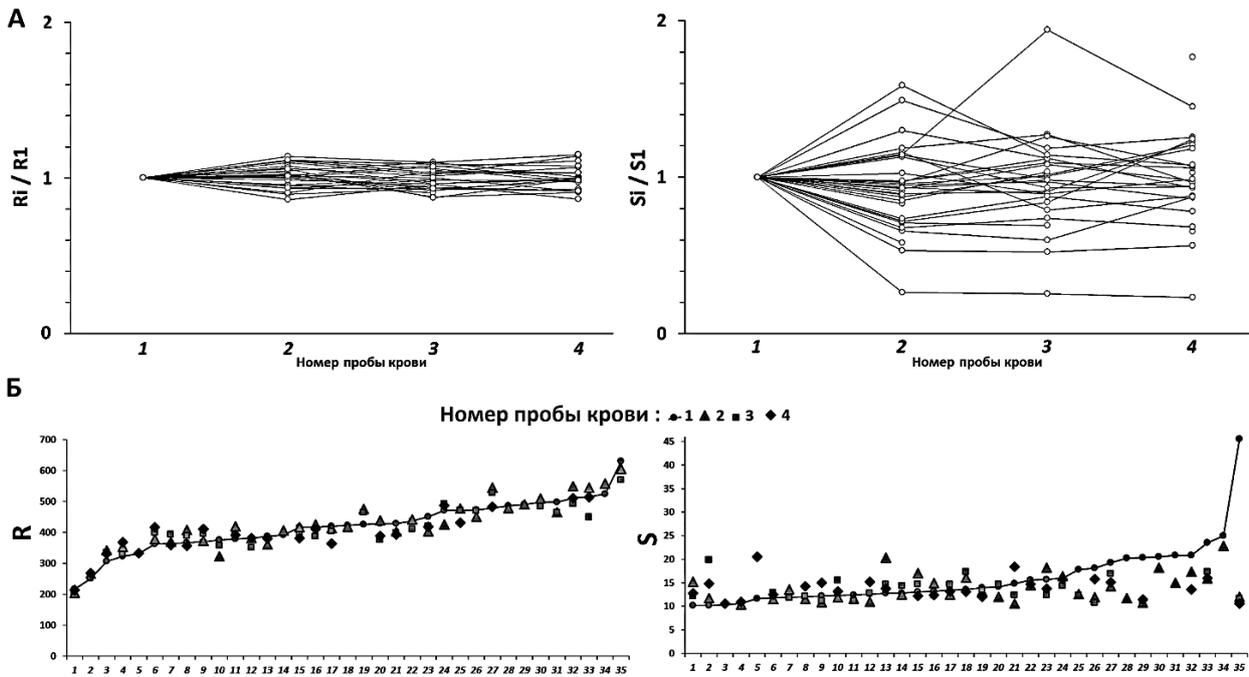


Рисунок 3. Анализ изменений в содержании двух повторов в образцах ДНК, выделенной из лейкоцитов крови детей с РАС

А. Изменения параметров R и S относительно первоначальных значений до терапии (точка 1).

Б. Иллюстрация изменений в параметрах R и S в зависимости от значений в точке 1. Значения, определенные в пробе 1, ранжированы.

Показано, что изменения параметра S отрицательно коррелируют со значениями в точке 1 (до начала терапии). Содержание сателлита возрастает в случае исходно низкого уровня повтора и снижается в случае исходно высокого уровня (рис. 3Б). В точке 4 распределение для значений S практически не отличается от распределения в группе контроля (рис. 2Б). Таким образом, терапия нейролептиками оказывает модулирующее действие на содержание сателлита III в лейкоцитах крови детей с РАС. Ранее аналогичный результат был продемонстрирован на материале выборки взрослых пациентов с шизофренией, которые впервые проходили курс терапии нейролептиками [9]. Также ранее на модельной системе (культивируемые фибробласты кожи) было показано, что нейролептики снижают содержание сателлита в ДНК клеток. Снижение происходит как за счет блокирования процесса амплификации сателлита, так и за счет ускорения процесса гибели и элиминации клеток с большими блоками сателлита из популяции [20].

Значения параметра S в конце терапии (точка 4) положительно коррелируют с показателями шкал CGI-S (коэффициент Спирмена $r=0,45$, $p=0,025$) и BFCRS ($r=0,52$, $p=0,012$). Изменения параметра S в течении 2 и 4 недель отрицательно коррелируют с показателем шкалы CGI-S ($r=-0,44$, $p=0,027$). Можно предположить, что повышенные значения

параметра S в точке 4 ассоциированы с более тяжелым психическим состоянием пациентов на фоне проводимой терапии.

Применение анализа содержания сателлита III (1q12) и рибосомного повтора в ДНК детей с психическими нарушениями перспективно с точки зрения постановки дифференциального диагноза (шизофрения или РАС), оценки состояния детей с РАС и оценки эффективности терапии нейролептиками или другими препаратами, что может лечь в основу будущих исследований. Ограничениями данного исследования являлись малое количество участников выборки, отсутствие оценки влияния каждого из препаратов в отдельности.

ВЫВОДЫ

Вне зависимости от первоначальных значений содержание сателлита III (1q12) в крови детей с РАС и обострением сопутствующей симптоматики стабилизируется на уровне группы контроля на фоне проводимой терапии антипсихотическими препаратами. Вероятно, данные изменения связаны с улучшением психического состояния и снижением общего уровня стресса. Параметр R (рибосомный повтор) на протяжении данного исследования не изменялся.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки, выполнялось в рамках госзадания на осуществление научных исследований и разработок.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование соответствует этическим стандартам Хельсинкской Декларации ВМА, «Правилам клинической практики в РФ», утвержденным Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003 г., и одобрено Локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦПЗ (протокол № 314 от 21.10.2016).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ghaemi Kerahrodi J, Michal M. The fear-defense system, emotions, and oxidative stress. *Redox Biol.* 2020 Oct;37:101588. doi: 10.1016/j.redox.2020.101588. Epub 2020 Jul 17. PMID: 32739155; PMCID: PMC7767737.
- Ogawa S, Lee YA, Yamaguchi Y, Shibata Y, Goto Y. Associations of acute and chronic stress hormones with cognitive functions in autism spectrum disorder. *Neuroscience.* 2017 Feb 20;343:229-239. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.12.003. Epub 2016 Dec 10. PMID: 27956063.
- de Koning AP, Gu W, Castoe TA, Batzer MA, Pollock DD. Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome. *PLoS Genet.* 2011 Dec;7(12):e1002384. doi: 10.1371/journal.pgen.1002384. Epub 2011 Dec 1. PMID: 22144907; PMCID: PMC3228813.
- Warburton PE, Hasson D, Guillem F, Lescale C, Jin X, Abrusan G. Analysis of the largest tandemly repeated DNA families in the human genome. *BMC Genomics.* 2008 Nov 7;9:533. doi: 10.1186/1471-2164-9-533. PMID: 18992157; PMCID: PMC2588610.
- Ershova ES, Malinovskaya EM, Golimbet VE, Lezheiko TV, Zakharova NV, Shmarina GV, Veiko RV, Umriukhin PE, Kostyuk GP, Kutsev SI, Izhevskaya VL, Veiko NN, Kostyuk SV. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. *Schizophr Res.* 2020 Sep;223:199-212. doi: 10.1016/j.schres.2020.07.022. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32773342.
- Hall AN, Morton E, Queitsch C. First discovered, long out of sight, finally visible: ribosomal DNA. *Trends Genet.* 2022 Jun;38(6):587-597. doi: 10.1016/j.tig.2022.02.005. PMID: 35272860; PMCID: PMC10132741.
- Enukashvily NI, Donev R, Waisertreiger IS, Podgornaya OI. Human chromosome 1 satellite 3 DNA is decondensed, demethylated and transcribed in senescent cells and in A431 epithelial carcinoma cells. *Cytogenet Genome Res.* 2007;118(1):42-54. doi: 10.1159/000106440. PMID: 17901699.
- Bersani F, Lee E, Kharchenko PV, Xu AW, Liu M, Xega K, MacKenzie OC, Brannigan BW, Wittner BS, Jung H, Ramaswamy S, Park PJ, Maheswaran S, Ting DT, Haber DA. Pericentromeric satellite repeat expansions through RNA-derived DNA intermediates in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Dec 8;112(49):15148-53. doi: 10.1073/pnas.1518008112.
- Ershova ES, Agafonova ON, Zakharova NV, Bravve LV, Jestkova EM, Golimbet VE, Lezheiko TV, Morozova AY, Martynov AV, Veiko RV, Umriukhin PE, Kostyuk GP, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Copy number variation of satellite III (1q12) in patients with schizophrenia. *Front Genet.* 2019 Nov 22;10:1132. doi: 10.3389/fgene.2019.01132. PMID: 31850056; PMCID: PMC6902095.
- Способ дифференциальной диагностики детской шизофрении и детского аутизма по количеству копий генов, кодирующих рибосомную РНК, в геноме ребенка с психическими нарушениями. Патент на изобретение RU 2816043 C1, 26.03.2024. Method for differential diagnostics of childhood schizophrenia and childhood autism by the number of copies of genes encoding ribosomal RNA in the genome of a child with mental disorders. Patent for invention RU 2816043 C1, 26.03.2024 (in Russian).
- Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord.* 1980 Mar;10(1):91-103. doi: 10.1007/BF02408436. PMID: 6927682.
- Schopler E, Lansing M, Reichler R, Marcus L. Psychoeducational profile: TEACCH Individualized Psychoeducational Assessment for Children with Autism Spectrum Disorders. Third edition (PEP-3). Austin, TX: Pro-Ed, 2005.
- Ershova ES, Jestkova EM, Martynov AV, Shmarina GV, Umriukhin PE, Bravve LV, Zakharova NV, Kostyuk GP, Saveliev DV, Orlova MD, Bogush M, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Accumulation of Circulating Cell-Free CpG-Enriched Ribosomal DNA Fragments on the Background of High Endonuclease Activity of Blood Plasma in Schizophrenic Patients. *Int J Genomics.* 2019 Aug 5;2019:8390585. doi: 10.1155/2019/8390585. PMID: 31467866; PMCID: PMC6701307.
- Ershova ES, Malinovskaya EM, Konkova MS, Veiko RV, Umriukhin PE, Martynov AV, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Copy Number Variation of Human Satellite III (1q12) With Aging. *Front Genet.* 2019 Aug 7;10:704. doi: 10.3389/fgene.2019.00704. PMID: 31447880; PMCID: PMC6692473.
- Cooke HJ, Hindley J. Cloning of human satellite III DNA: different components are on different chromosomes. *Nucleic Acids Res.* 1979 Jul 25;6(10):3177-97. doi: 10.1093/nar/6.10.3177. PMID: 573470; PMCID: PMC327928.
- Chestkov IV, Jestkova EM, Ershova ES, Golimbet VE, Lezheiko TV, Kolesina NY, Porokhovnik LN, Lyapunova NA, Izhevskaya VL, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Abundance of ribosomal RNA gene copies in the genomes of schizophrenia patients. *Schizophr Res.* 2018 Jul;197:305-314. doi: 10.1016/j.schres.2018.01.001. Epub 2018 Jan 12. PMID: 29336872.
- Hall AN, Turner TN, Queitsch C. Thousands of high-quality sequencing samples fail to show meaningful correlation between 5S and 45S ribosomal DNA arrays in humans. *Sci Rep.* 2021 Jan 11;11(1):449. doi: 10.1038/s41598-020-80049-y. PMID: 33432083; PMCID: PMC7801704.

18. Hori Y, Shimamoto A, Kobayashi T. The human ribosomal DNA array is composed of highly homogenized tandem clusters. *Genome Res.* 2021 Nov;31(11):1971-1982. doi: 10.1101/gr.275838.121. Epub 2021 Aug 18. PMID: 34407983; PMCID: PMC8559705
19. Konkova MS, Ershova ES, Savinova EA, Malinovskaya EM, Shmarina GV, Martynov AV, Veiko RV, Zakharova NV, Umriukhin P, Kostyuk GP, Izhevskaya VL, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. 1Q12 loci movement in the interphase nucleus under the action of ROS is an important component of the mechanism that determines copy number variation of satellite III (1q12) in health and schizophrenia. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Jun 5;8:386. doi: 10.3389/fcell.2020.00386. PMID: 32714923; PMCID: PMC7346584.
20. Ershova ES, Savinova EA, Kameneva LV, Porokhovnik LN, Veiko RV, Salimova TA, Izhevskaya VL, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Antipsychotics affect satellite III (1q12) copy number variations in the cultured human skin fibroblasts. *Int J Mol Sci.* 2023 Jul 10;24(14):11283. doi: 10.3390/ijms241411283. PMID: 37511043; PMCID: PMC10380077.

Поступила в редакцию 14.06.2024
Утверждена к печати 02.12.2024

Ершова Елизавета Сергеевна, к.б.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0003-1206-5832. SPIN-код РИНЦ 5488-0201. Author ID РИНЦ 319793.

Чудакова Юлия Михайловна, к.б.н., научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-0299-426X. SPIN-код НВУЕ 2264-6347. Author ID РИНЦ 987771. julia.chudakova@yandex.ru

Вейко Наталья Николаевна, д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0003-1847-0548. SPIN-код РИНЦ 8477-2627. Author ID РИНЦ 88757. ribgene@rambler.ru

Мартынов Андрей Владимирович, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-6697-8306. SPIN-код РИНЦ 6642-6360. Author ID РИНЦ 82702. avm@med-gen.ru

Костюк Светлана Эдмундовна, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-3659-3608. lanaek28@gmail.com

Костюк Светлана Викторовна, д.б.н., доцент, заведующая лабораторией, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-6336-9900. SPIN-код РИНЦ 4022-8214. Author ID РИНЦ 600252. svet-vk@yandex.ru

Балакирева Елена Евгеньевна, к.м.н., заведующая отделом, ведущий научный сотрудник, отдел детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-3919-7045. SPIN-код РИНЦ 7735-2143. ResearcherID C-5777-2018. Author ID РИНЦ 705839. Author ID Scopus 8292474300. balakirevalena@yandex.ru

Никитина Светлана Геннадьевна, к.м.н., старший научный сотрудник, отдел детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-7775-1692. SPIN-код РИНЦ 2245-7703. Author ID РИНЦ 1045664. ResearcherID AAN-3145-2021. Author ID Scopus 57205876434. Nikitina.svt@mail.ru

Коваль-Зайцев Алексей Анатольевич, к.п.н., ведущий научный сотрудник отдела детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0001-5736-5519. SPIN-код РИНЦ 5430-4202. Author ID РИНЦ 685202. ResearcherID H-7116-2017. Author ID Scopus 51461586400. koval-zaitsev@mail.ru

Шушпанова Ольга Владимировна, к.м.н., научный сотрудник отдела детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья». SPIN-код РИНЦ 8979-9700. ResearcherID S-3346-2016. ORCID iD 0000-0003-3484-3447. sertraline@list.ru

Иванов Михаил Владимирович, к.п.н., ведущий научный сотрудник отдела детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-3853-4345. SPIN-код РИНЦ 4807-4178. Author ID РИНЦ 223697. ivanov-michael@mail.ru

Блинова Татьяна Евгеньевна, научный сотрудник отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0001-8750-8824. Author ID РИНЦ 605832. blinova.tania2015@yandex.ru

Шалина Наталья Сергеевна, научный сотрудник отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия. ORCID iD 0000-0002-2332-5591. SPIN-код РИНЦ 8220-0647. Author ID РИНЦ 1212236. shalinans@yandex.ru

✉ Ершова Елизавета Сергеевна, es-ershova@rambler.ru

UDC 616.896-053.2|465*4/*12|:611.018.53:577.213

For citation: Ershova E.S., Chudakova Yu.M., Veiko N.N., Martynov A.V., Kostyuk S.E., Kostyuk S.V., Balakireva E.E., Shushpanova O.V., Nikitina S.G., Blinova T.E., Shalina N.S., Koval-Zaitsev A.A., Ivanov M.V. Variations in the content of satellite III (1q12) and ribosomal repeat in the DNA of blood leukocytes of children with autism spectrum disorders during therapy. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2024; 4 (125): 17-26. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-4\(125\)-17-26](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-4(125)-17-26)

Variations in the content of satellite III (1q12) and ribosomal repeat in the DNA of blood leukocytes of children with autism spectrum disorders during therapy

Ershova E.S.¹, Chudakova Yu.M.¹, Veiko N.N.¹, Martynov A.V.¹, Kostyuk S.E.¹, Kostyuk S.V.¹, Balakireva E.E.², Shushpanova O.V.², Nikitina S.G.², Blinova T.E.², Shalina N.S.², Koval-Zaitsev A.A.², Ivanov M.V.²

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after Academician N.P. Bochkov" Moskvorechye Street 1, 115478, Moscow, Russian Federation

² Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Russian Academy of Sciences Kashirskoe Highway 34, 115522, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Background. It is known that exacerbation of chronic mental diseases is accompanied by a high level of psychoemotional stress, and is also associated with activation of nonspecific inflammation and increased oxidative stress. Children with ASD are more susceptible to the adverse effects of stress than average children due to the high level of comorbidity of ASD with other disorders. Earlier studies described the relationship between oxidative stress and repetitive DNA sequences (repeats) that make up a major part of the human genome. The content of satellite III (1q12) in the genomes of children with ASD and the effect of therapy on this parameter have not been determined. In this study, the amount of ribosomal repeat and satellite III (1q12) in the DNA of blood leukocytes of children with ASD who sought help at the Department of Child Psychiatry due to worsening their mental state (increasing concomitant behavioral and/or mood disorders) was established for the first time. The effect of the therapy on the content of these repeats was analyzed. **Objective:** to analyze the content of genomic repeats (ribosomal, satellite III – 1q12) in DNA samples of blood leukocytes of children with ASD and concomitant disorders in the acute stage in order to analyze the effect of the therapy on the content of these repeats. **Patients and Methods.** The main study group included 35 children aged 4 to 12 years (mean age 7.2±2.2 years) with the main diagnosis according to ICD-10: childhood autism (F84.0), atypical autism (F84.1) and with a concomitant diagnosis of other anxiety disorders (F41), reaction to severe stress, and adjustment disorders (F43), unspecified mental retardation with significant impairment of behaviour requiring attention or treatment (F7x.1), mixed disorders of conduct and emotions (F92). The control group consisted of 91 children and 100 adults. Patients were selected using the clinical and psychopathological method. Venous blood samples were taken: sample 1 – DNA samples of children before the start of new therapy, samples 2, 3 and 4 – DNA samples obtained by week 2, 4 and 6 of the therapy. DNA was isolated by extraction with organic solvents. The content of three repeats in DNA was determined by non-radioactive quantitative hybridization. The data were analyzed using the StatPlus2007 Professional software, MedCalc, Excel Microsoft Office, StatGraph. **Results.** DNA samples of children with ASD did not differ in the content of ribosomal repeats from the control group of children of the same age. The content of satellite III varied significantly in most patients during therapy: it increased by 1.1-2 times in 18 patients (51%), decreased by 1.1-4.3 times in 12 patients (34%), and did not change in 5 patients. The content of the satellite increased in case of an initially low repeat level and decreased in case of an initially high level. In sample 4, the distribution for S values was virtually identical to the control distribution. **Conclusion.** Irrespective from the initial values, under antipsychotic therapy, the content of satellite III (1q12) in the blood of children with ASD and exacerbation of concomitant symptoms stabilize at the level of the control group. These changes are likely associated with an improvement in mental state and a decrease in the overall stress level. The R parameter (ribosomal repeat) did not change throughout this study.

Keywords: autism spectrum disorders, children, content variations, satellite III (1q12), ribosomal repeat, blood leukocyte DNA, psychopharmacotherapy.

Received June 14, 2024

Accepted December 02, 2024

Ershova Elizaveta S., Cand. Sc. (Biology), lead researcher, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1206-5832. SPIN-code RSCI 5488-0201. Author ID RSCI 319793.

Chudakova Yulia M., Cand. Sc. (Biology), researcher, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-0299-426X. SPIN-code RSCI 2264-6347. Author ID RSCI 987771. julia.chudakova@yandex.ru

Veiko Natalia N., D. Sc. (Biology), associate professor, chief researcher, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1847-0548. SPIN-code RSCI 8477-2627. Author ID RSCI 88757. ribgene@rambler.ru

Martynov Andrey V., Cand. Sc. (Biology), senior research fellow, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-6697-8306. SPIN-code RSCI 6642-6360. Author ID RSCI 82702. avm@med-gen.ru

Kostyuk Svetlana E., laboratory research assistant, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3659-3608. lanaek28@gmail.com

Kostyuk Svetlana V., D. Sc. (Biology), associate professor, head of laboratory, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Medical and Genetic Research Center named after academician N.P. Bochkov", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-6336-9900. SPIN-code RSCI 4022-8214. Author ID RSCI 600252. svet-vk@yandex.ru

Balakireva Elena E., Cand. Sc. (Medicine), acting head of Department, lead researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3919-7045. SPIN-code RSCI 7735-2143. ResearcherID C-5777-2018. Author ID RSCI 705839. Author ID Scopus 8292474300. balakirevalena@yandex.ru

Nikitina Svetlana G., Cand. Sc. (Medicine), senior researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7775-1692. SPIN-code RSCI 2245-7703. Author ID RSCI 1045664. ResearcherID AAN-3145-2021. Scopus Author ID 57205876434. Nikitina.svt@mail.ru

Koval-Zaitsev Alexey A., Cand. Sc. (Psychology), lead researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5736-5519. SPIN-code RSCI 5430-4202. Author ID RSCI 685202. ResearcherID H-7116-2017. Scopus Author ID 51461586400. koval-zaitsev@mail.ru

Shushpanova Olga V., Cand. Sc. (Medicine), researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. SPIN-code RSCI 8979-9700. ResearcherID S-3346-2016. ORCID iD 0000-0003-3484-3447. sertraline@list.ru

Ivanov Mikhail V., Cand. Sc. (Psychology), lead researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-3853-4345. SPIN-code RSCI 4807-4178. Author ID RSCI 223697. ivanov-michael@mail.ru

Blinova Tatiana E., researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8750-8824. Author ID RSCI 605832. blinova.tania2015@yandex.ru

Shalina Natalia S., junior researcher of the Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2332-5591. SPIN-code RSCI 8220-0647. Author ID RSCI 1212236. shalinans@yandex.ru

✉ Ershova Elizaveta S., es-ershova@rambler.ru