Ершова Е.С.¹, Вейко Н.Н.¹, Агафонова О.Н.¹, Захарова Н.В.², Костюк Г.П.²,
Мартынов А.В.¹, Малиновская Е.М.¹, Костюк С.В.¹
Копийность рибосомных генов при шизофрении

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

²ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница №1 им. Н.А. Алексеева
Департамента здравоохранения города Москвы»
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/lj-07-2021-18

Аннотация

Шизофрения - одно из наиболее дорогостоящих психических расстройств. Вопросам этиопатогенеза шизофрении уделяется особое внимание, поскольку риску развития заболевания подвержены взрослые социально активные люди. Выявление генетических факторов риска развития может способствовать проведению активных профилактических мер среди группы риска и снижению уровня заболевших. Была исследована выборка из популяции города Москвы, мужчины и женщины с диагнозом – шизофрения: пациенты в возрасте от 18 до 41 года с первым эпизодом психотического расстройства – (N=200); пациенты в возрасте от 18 до 83 лет с длительностью заболевания более 5 лет (N=164); и группа контроля (N = 105) - психически и соматически здоровые лица в возрасте от 18 до 78 лет. Методом нерадиоактивной количественной гибридизации исследована ДНК пациентов, показано, что геном пациентов с диагнозом «шизофрения» содержит увеличенное число копий рДНК по сравнению со здоровым контролем независимо от формы шизофрении и приема лекарственных препаратов.

Ключевые слова: шизофрения, рибосомные гены, копийность.

Abstract

Schizophrenia is one of the most expensive social burdens. Special attention is paid to the schizophrenia etiopathogenesis, since socially active people are at risk of the disease development. The identification of schizophrenia genetic traits can contribute to the active preventive measures among the risk group to reduce the morbidity. Moscow city population sample was studied, men and women with a schizophrenia diagnosis: patients with the first episode of psychotic disorder aged 18-41 years (N=200); patients with a disease duration more than 5 years aged 18-83 years (N=164); and the control group (N=105) - mentally and somatically healthy individuals aged 18-78 years. The DNA of patients was studied by the non-radioactive quantitative hybridization. It was shown that the genome of schizophrenia patients contains an increased number of rDNA copies compared to healthy controls, regardless of the schizophrenia form and the medication.

Keywords: Schizophrenia, Ribosomal Genes, Copy Number Variation.

Шизофрения - одно из наиболее дорогостоящих психических расстройств. Это связано с хроническим течением заболевания, необходимостью длительного поддерживающего лечения и частых госпитализаций. Кроме того, шизофрения часто приводит к стойкой утрате трудоспособности. Распространенность заболеваний в популяции на протяжении всех периодов ее изучения остается относительно стабильной, показатели выявления шизофрении, расстройств шизофренического спектра на протяжении жизни незначительно отличаются в регионах и составляют 1,45%, 0,5% и 1,6%, соответственно [1]. По данным ВОЗ, шизофрения входит в

десятку ведущих причин инвалидности, ее называют «наихудшим заболеванием, поражающим человека»[2].

Вопросам этиопатогенеза шизофрении уделяется особое внимание, поскольку риску развития заболевания подвержены взрослые социально активные люди. Выявление генетических факторов риска развития может способствовать проведению активных профилактических мер среди группы риска и снижению уровня заболевших.

В последние десятилетия в мировой научной литературе регулярно появляются данные о роли множества генов в этиологии и патогенезе шизофрении. Однако впоследствии эти данные, как правило, пересматриваются и опровергаются. Практически все авторы рассматривают только уникальные или малокопийные гены. Мы впервые обратили внимание на многокопийные гены, кодирующие рРНК рибосом (рДНК), у больных шизофренией [3-5].

Методы.

Критерии отбора пациентов в исследование:

Мужчины и женщины с диагнозом – шизофрения, русские по национальности, выборка из популяции города Москвы.

Исследуемые группы:

1. Группа сравнения 1 (N=200). Пациенты в возрасте от 18 до 41 года с первым эпизодом психотического расстройства – верифицированным стационарным обследованием диагнозом (по МКБ-10) F21.3 – малопрогредиентной шизофренией протекающая с аффективно-бредовыми фазами и суицидальными тенденциями; F20.0 – параноидной шизофренией с синдромом Кандинского-Клерамбо на высоте приступа; F20.2 – кататонической шизофренией; F25.1 шизоаффективного расстройства с депрессивно-бредовой симптоматикой на высоте приступа. с благоприятным прогнозом и после проведенного курса терапии (группа сравнения 1А, N=200).
2. Группа сравнения 2 (N = 164). Пациенты в возрасте от 18 до 83 лет с верифицированным стационарным обследованием диагнозом (по МКБ-10) психотического расстройства (шизофрения, различные формы) с длительностью заболевания более 5 лет.
3. Группа контроля (N = 105). Психически и соматически здоровые лица в возрасте от 18 до 78 лет, не имеющие семейной отягощенности шизофренией.

Критерии не включения в исследование и в группы контроля:

Наличие сопутствующих психических расстройств, таких как зависимость от наркотиков; органические психические расстройства любого генеза, кроме алкогольного, слабоумие, умственная отсталость; тяжелое соматическое и хроническое неврологическое заболевание; острое и хроническое тяжелое соматическое заболевание, препятствующее прохождению настоящего обследования; отказ сотрудничать в ходе выполнения процедур исследования.

Материалом для молекулярно-генетических исследований являлась периферическая кровь пациентов, взятая из кубитальной вены. Из каждого образца крови выделена клеточная ДНК (методом экстракции органическими растворителями). Копийность рибосомного повтора определяли методом нерадиоактивной количественной дот-гибридизации (NQH) с биотинилированными днк-зондами [6]. Для этого денатурированные образцы исследуемой днк и днк с известным содержанием повтора (калибровочные) наносили на нитроцеллюлозные

фильтры, иммобилизовали, и проводили гибридизацию с набором биотинилированных днк-зондов. Результаты гибридизации проявляли при помощи субстрата стрептавидин-щелочная фосфатаза и колориметрического субстрата BCIP-NBT.

Компьютерный анализ изображений проводили, используя написанную для данной технологии программу «Images ба». Содержание исследуемого повтора в составе днк пациента получали по калибровочной зависимости, построенной для днк с известным содержанием повтора.

Результаты.

На рисунке 1 представлен итоговый результат – сравнение числа копий генов рибосомного повтора у больных шизофренией 1-й группы – с диагнозом «шизофрения» с благоприятным прогнозом до лечения ($N=200$), группы пациентов, больных шизофренией с длительностью заболевания более 5 лет ($N = 164$) и группы контроля ($N = 105$) – здоровых доноров.

Распределения содержания рДНК геноме достоверно различаются для обеих групп больных шизофренией (группы пациентов, больных шизофренией до лечения и с благоприятным прогнозом и с длительностью заболевания более 5 лет) относительно контрольной группы ($p < 10^{-14}$ и $p < 10^{-17}$, соответственно, рис. 1). Распределение параметра рДНК для больных шизофренией в двух группах больных людей достоверно не различаются между собой ($p > 0,9$).

Рисунок 1. Определение числа копий рДНК методом NQH в трех независимых выборках: 1-й группы – с диагнозом «шизофрения» с благоприятным прогнозом до лечения ($N=200$, черные точки на графике), группы пациентов, больных шизофренией с длительностью заболевания более 5 лет ($N = 164$, красные точки на графике) и группы контроля ($N = 105$. Зеленые точки на графике) – психически и соматически здоровых доноров

Полученные результаты свидетельствуют о высоком содержании рибосомного повтора в выборке больных шизофренией относительно здорового контроля. При этом на данный показатель не оказывает влияние длительность течения заболевания. Данные описательной статистики сравнения числа повторов рДНК в выборке больных шизофренией (объединенной группы пациентов, больных шизофренией до лечения и с длительностью заболевания более 5 лет) относительно контрольной группы здоровых доноров приведены в таблице 1.

Таблица 1

Данные описательной статистики для параметра – числа повторов рДНК в объединенной выборке больных шизофренией относительно контрольной группы здоровых доноров.

Число копий рДНК	Здоровые	Больные
Число элементов ряда	105	364
Среднее	426	525
Стандартное отклонение	108	71
Стандартная ошибка (среднего)	10	6
Минимум	222	294
Максимум	694	974
Коэффициент вариации	0,25	0,14
Медиана	427	528
Ошибка медианы	1,29	0,55
U – test (значение p)	10^{-16}	

Таким образом, на основании проведенного исследования числа копий рибосомного гена у больных шизофренией по сравнению со здоровыми донорами, показали, что геном пациентов с диагнозом «шизофрения» содержит увеличенное число копий рДНК по сравнению со здоровым контролем независимо от формы шизофрении и приема лекарственных препаратов. Это стабильный генетический признак, который не меняется с течением заболевания и не зависит от возраста и лекарственной терапии. Этот показатель можно использовать как маркер дифференциальной диагностики таких сложно различимых состояний, как детский аутизм и шизофрения (поскольку при аутизме не выявлено увеличения числа копий рибосомного повтора).

Выявление генетических маркеров, изменяющихся в зависимости от лечения, продолжительности и тяжести течения заболевания может привести к разработке диагностических критериев, прогнозирующих эффективность терапии конкретного больного на ранних стадиях лечения, что позволит более эффективно проводить персонализированную терапию. Так, решение фундаментальных вопросов медико-биологических исследований будет иметь практическое применение.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 18-15-00437 (П)

1. Goldner E.M. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: a systematic review of the literature. / Goldner EM, Hsu L, Waraich P, Somers JM. // Can J Psychiatry. 2002 Nov;47(9):833-43. doi: 10.1177/070674370204700904..
2. Tandon R. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. Epidemiology and etiology. / Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. // Schizophr Res. 2008 Jul;102(1-3):1-18. doi: 10.1016/j.schres.2008.04.011
3. Malinovskaya E.M. Copy Number of Human Ribosomal Genes With Aging: Unchanged Mean, but Narrowed Range and Decreased Variance in Elderly / Malinovskaya EM, Ershova ES, Golimbet VE, Porokhovnik LN, Lyapunova NA, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV // Group. Front Genet. 2018 Aug 7;9:306. doi: 10.3389/fgene.2018.00306. eCollection 2018.
4. Konkova M.S. 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. / 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. // Front Cell Dev Biol. 2020 Jun 5;8:386. doi: 10.3389/fcell.2020.00386.
5. Ershova E.S. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. / 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. // Schizophr Res. 2020 Aug 6:S0920-9964(20)30415-1. doi: 10.1016/j.schres.2020.07.022.
 6. Veiko, N.N. Quantitative analysis of repetitive sequences in human genomic DNA and detection of an elevated ribosomal repeat copy number in patients with schizophrenia (the results of molecular and cytogenetic analysis / N.N. Veiko, N.A. Egolina, G.G. Radzivil, S.D. Nurbaev, N.V. Kosiakova, N.O. Shubaeva, N.A. Liapunova // Mol Biol (Mosk). 2003. V. 37, № 3. – P. 409-419.

Петров С.С., Петрова Т.И.

Экологическое образование учащихся и сохранение биологического разнообразия городских территорий Республики Башкортостан

*Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»
(Россия, Стерлитамак)*

doi: 10.18411/lj-07-2021-19

Аннотация

В данной статье рассматриваются теоретические вопросы экологического образования обучающихся и методика изучения городской флоры с использованием одной из форм образовательного процесса – экологическая тропа. Педагогам общеобразовательных организаций рекомендуется экологически образовывать учащихся на антропогенных, естественных и полустественных городских ландшафтах, в разной степени нарушенных человеком. Через такие ландшафты предлагается прокладывать экологические тропы. Во время экскурсий по экологической тропе необходимо представлять учащимся все экотопы, расположенные в пределах города: искусственные лесные насаждения, сообщества сорных видов растений, леса, прибрежно-водные фитоценозы, пойменные и суходольные луга, степи, насаждения жилых территорий микрорайона.

Ключевые слова: экологическое образование, экологическая тропа, синантропизация, адвентизация, редкие виды, урбанофлора, город.

Abstract

This article examines the theoretical issues of environmental education of students and the methodology for studying urban flora using one of the forms of the educational process – the ecological path. It is recommended that teachers of general education organizations educate students in an environmentally friendly manner on anthropogenic, natural and semi-natural urban landscapes, disturbed to varying degrees by humans. It is proposed to lay ecological paths through such landscapes. During excursions along the ecological path, it is necessary to introduce students to all ecotopes located within the city: artificial forest plantations, communities of weed plant species, forests, coastal water phytocenoses, floodplain and dry meadows, steppes, plantings of residential areas of the microdistrict.

Keywords: ecological education, ecological trail, synanthropization, adventisation, rare species, urban flora, city.

В настоящее время остро стоит вопрос об усилении экологического образования и воспитания учащихся с целью развития у них правильного мировоззрения на современные процессы, происходящие в природе, на состояние биологического разнообразия и перспективу его сохранения. В Российской Федерации и Республике Башкортостан вопросам охраны биоразнообразия уделяется большое внимание, что