

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА КАК ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

*Марчук С.А., Докукина Т.В., Гилеп А.А.*

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр психического здоровья»,  
Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** В работе представлены результаты изучения роли полиморфизма генов металлотиионеина в этиопатогенезе расстройств аутистического спектра (РАС). Было проведено клиническое, патопсихологическое и молекулярно-генетическое обследование 29 семей с детьми, которым установлен диагноз РАС, и 20 семей со здоровыми детьми, не имеющими нарушений психического и физического развития. Проведено клинико-генетическое сопоставление полученных данных, указывающее на корреляцию SNP<sub>rs45570941</sub> во втором интроне гена МТ3 с частотой развития у детей РАС. Установлено, что изменения в структуре гена МТ3 и, как следствие, нарушенное функционирование белка металлотиионеина являются этиопатогенетическими факторами развития РАС.

**Ключевые слова:** расстройства аутистического спектра, аутизм, металлотиионеин, МТ3, молекулярно-генетическое исследование.

**Summary.** The results of studying the role of metallothionein gene polymorphism in the etiopathogenesis of autism spectrum disorders (ASD) are presented in the work. Clinical, pathopsychological and molecular genetic testing was conducted on 29 families with children diagnosed with ASD, and 20 families with healthy children who do not have mental illnesses and disorders of physical development. A study of clinical and genetic comparison of the data indicates a correlation between SNP<sub>rs45570941</sub> in the second intron of the gene MT3 with a frequency of ASD in children. It was found that changes in gene structure MT3 and malfunction of the protein metallothionein are factors of development ASD.

**Keywords:** autism spectrum disorder, autism, metallothionein, MT3, molecular genetic testing.

**Введение.** Расстройства аутистического спектра (РАС) относятся к числу наиболее тяжелых, инвалидизирующих и социально значимых психических заболеваний детского возраста. По данным ВОЗ, на конец 2014 г. распространенность РАС составляет 63 случая на 10000 дет-

ского населения, в Республике Беларусь — 2–3 случая. В настоящее время аутистическими расстройствами страдает каждый 160-й ребенок в мире, причем у мальчиков подобные состояния отмечаются примерно в 4 раза чаще, чем у девочек. Данная патология встречается чаще, чем детская онкология, сахарный диабет или синдром Дауна (Шоплер Э., 2005). Число детей с диагнозом РАС резко выросло с 1980-х гг., отчасти из-за повышенного внимания к этой проблеме и изменившихся подходов к диагностике. По данным мировой статистики, распространенность аутистических расстройств за последние 10 лет выросла в 10 раз, в Беларуси — в 3 раза [1].

Причины РАС до сих пор не ясны. Согласно современным представлениям, это одно из идиопатических заболеваний, этиологическими предпосылками которых является совместное действие генетических и экзогенных (средовых) факторов. Долгое время считалось, что характерная для РАС симптоматика вызывается некоей общей причиной, действующей на генетическом, когнитивном и нейрональном уровнях. Однако в настоящее время все большую силу набирает предположение о том, что аутизм, напротив, представляет собой сложное расстройство, ключевые аспекты которого порождаются отдельными причинами, часто действующими одновременно. В большой степени развитие РАС связано с генами, однако генетика аутизма сложна и неясно, что оказывает превалирующее влияние на появление аутистического расстройства — взаимодействие множества генов либо редкие мутации, имеющие сильный эффект. Сложность обусловлена многосторонними взаимодействиями большого количества генов, внешней среды и эпигенетических факторов, которые сами по себе не меняют код ДНК, однако могут наследоваться и модифицировать экспрессию генов [1, 2].

В ходе ранее проведенного в РНПЦ психического здоровья исследования микроэлементного статуса 86 детей с РАС и их родителей было установлено, что у каждого обследованного наблюдался дисэлементоз по содержанию цинка и меди либо в сторону дефицита, либо избыточного содержания [3]. Полученные данные сопоставимы с результатами исследований У. Уолша (Пфейффер-центр, США, 2000). Изучив анализы 503 пациентов с аутизмом в клинике, У. Уолш и его коллеги обнаружили, что 99% пациентов имели нарушенный метаболизм металлов, в частности, цинка и меди. Данные результаты ученый связывает с нарушением функции белка металлотионеина (МТ), выполняющего ряд важных функций в организме: защита от токсического действия тяжелых металлов и активных форм кислорода, поддержание гомеостаза цинка и меди, участие в развитии и функционировании иммунной системы, участие в развитии нейронов мозга, предотвращение кишечных инфекций, развитие эмоциональной сферы и социализации. Неблагоприятное воздействие среды во внутриутробном периоде, грудном периоде или в раннем детстве может нарушить систему МТ, результатом чего будет замедленное или приостановленное развитие нейронов и возможное начало аутизма [4, 5].

Поскольку МТ играет важную роль в регуляции баланса меди и цинка, тот факт, что у большинства обследованных на базе РНПЦ психического здоровья и в Пфейффер-центре детей с РАС обнаружен их дисбаланс, указывает на нарушение у них функционирования белка МТ. Возможно, имеет место сочетание генетического дефекта, нарушающего функцию МТ, и неблагоприятного воздействия среды в ранний период жизни. Полученные результаты позволяют предположить возможную роль изменений в структуре гена МТ как этиопатогенетического фактора развития РАС и дисэлементозов как симптомов данной патологии.

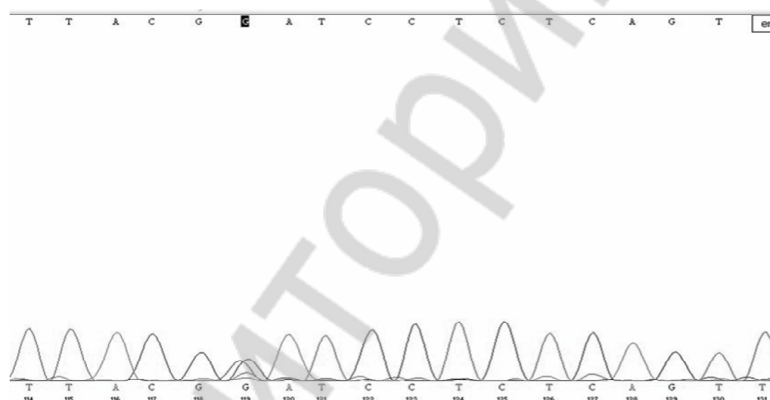
**Цель** исследования — изучение роли полиморфизма генов металлотионеина в этиопатогенезе расстройств аутистического спектра.

*Задачи исследования:*

1. Клинически обследовать детей с РАС в возрасте от 2 до 14 лет, родившихся и проживающих на территории Республики Беларусь и их родителей.
2. Исследовать полиморфизм генов МТ (однонуклеотидных замен в кодируемой части генов, а также изменений в регуляторных участках генов) у детей с РАС и их родителей.
3. Создать ДНК базы детей с РАС.
4. Интерпретировать полученные данные для оценки влияния полиморфизма гена МТ на развитие у детей РАС.

**Материалы и методы.** Проведено клиническое, патопсихологическое и молекулярно-генетическое обследование 29 семей с детьми, которым установлен диагноз РАС (рубрика F84 «Общие расстройства развития» — в соответствии с критериями МКБ-10, 1993), и 20 семей со здоровыми детьми, не имеющими нарушений психического и физического развития. Комплексное клиническое обследование включало объективный осмотр, сбор анамнестических сведений, тщательное клинико-лабораторное, функциональное и инструментальное обследование, консультации узкими специалистами. Проводилось патопсихологическое обследование с использованием шкалы CARS (Children Autistic Rating Scale, Шоплер, 1980); шкалы TEACCH-PEP (Psychoeducational Profile, Шоплер, 1979); Опросника анализа семейных взаимоотношений (АСВ). В качестве биологического материала для молекулярно-генетического исследования использовался буккальный эпителий. Забор материала проводится на базе РНПЦ психического здоровья, молекулярно-генетические исследования — на базе Института биоорганической химии Национальной академии наук Республики Беларусь. В работе были задействованы современные методы молекулярно-генетического анализа: полимеразная цепная реакция, секвенирование и др. Разработана методика молекулярно-генетического исследования с проведением клинико-генетических корреляций и определением генетических маркеров. Сконструированы олигонуклеотидные праймеры для генотипирования.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные указывают на то, что из 29 обследованных семей, в которых есть ребенок с РАС, в 26 (89,7%) отмечались мутации (G/C генотип) в SNP rs45570941 во втором интроне гена MT3. При генотипе G/C на секвенограмме детектировались два пика одинаковой интенсивности в месте локализации искомого SNP (рисунок 1).



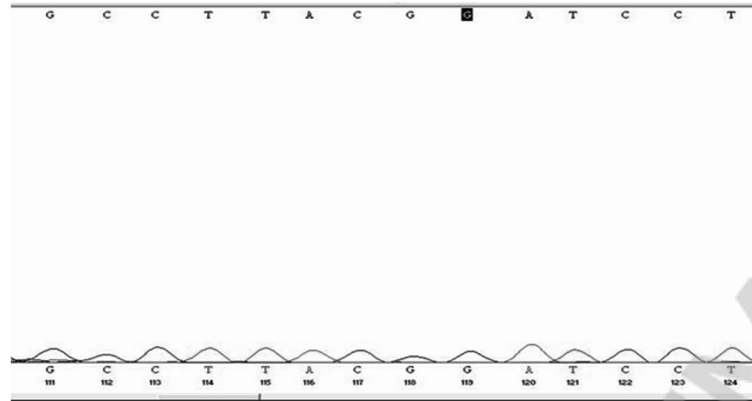
**Рисунок 1.** — Изображение секвенограммы участка интрона 2 гена MT3 в месте локализации SNP rs45570941 (выделен черным) при генотипе G/C

В 23 (79,3%) семьях данные мутации отмечались как у детей с РАС, так и у их родителей. В 6 (20,7%) семьях G/C генотип определялся либо только у ребенка с РАС, либо у ребенка и одного из родителей.

В 3 семьях с ребенком с РАС, а также в семьях со здоровыми детьми, не имеющими нарушений психического и физического развития, мутация в искомом SNP rs45570941 не установлена. В случае присутствия генотипа G/G детектировался один пик на секвенограмме (рисунок 2).

**Заключение.** Проведено клинико-генетическое сопоставление полученных данных, указывающее на корреляцию SNP rs45570941 во втором интроне гена MT3 (с.97+377G>C) с частотой развития у детей РАС. Искомый SNP rs45570941 был определен у 89,7% детей с установленным диагнозом РАС в результате клинического и патопсихологического обследования. В 79,3% случаях выявленный G/C генотип определялся как у ребенка с РАС, так и у его родителей.

Можно сделать вывод, что изменения в структуре гена MT3 и, как следствие, нарушенное функционирование белка металлотиионеина являются этиопатогенетическими факторами развития расстройств аутистического спектра.



**Рисунок 2. — Изображение секвенограммы участка интрона 2 гена MT3 в месте локализации SNP rs45570941 (выделен черным) при генотипе G/G**

### Литература

1. Башина, В.М. Современные подходы к проблеме детского и атипичного аутизма / В.М. Башина, Н.В. Симашкова // Материалы конгр. по детской психиатрии, Москва, 25–28 сент. 2001 г. — М., 2001. — С. 28.
2. Иванов, Е.С. Детский аутизм: диагностика и коррекция / Е.С. Иванов, Л.Н. Демьянчук, Р.В. Демьянчук. — СПб., 2004. — С. 8–25.
3. Марчук, С.А. О роли дисбаланса макро- и микроэлементов развитии расстройств аутистического спектра / С.А. Марчук // Вестн. Смоленск. гос. мед. акад. — Смоленск, 2013. — С. 162.
4. McCandless, J. Children with Starving Brains: A Medical Treatment Guide for Autism Spectrum Disorder / J. McCandless. — 4<sup>th</sup> ed. — Florida, 2009. — 262 p.
5. Metallothionein and Autism / W.J. Walsch [et al.]; Pfeiffer Treatment Center, Naperville. — Illinois, 2001.