

Вариация содержания трех tandemных повторов в ДНК лейкоцитов крови детей с психическими нарушениями как потенциальный маркер дифференциальной диагностики шизофрении и расстройств аутистического спектра

Е.С. Ершова¹, Ю.М. Чудакова¹, Н.Н. Вейко¹, А.В. Мартынов¹, С.Э. Костюк¹, С.В. Костюк¹, С.Г. Никитина², Е.Е. Балакирева²

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

² ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Автор для корреспонденции: Светлана Викторовна Костюк, svet-vk@yandex.ru

Резюме

Актуальность: проблемным вопросом детской психиатрии является дифференциальная диагностика шизофрении, начавшейся в детском возрасте, и расстройств аутистического спектра (РАС). Ранее авторами было показано, что геномы детей с шизофренией, как и геномы взрослых пациентов с шизофренией, содержат больше копий рибосомных генов, чем геномы детей с РАС. У взрослых пациентов с шизофренией также снижено содержание сателлита III (1q12) и короче средняя длина теломера в лейкоцитах крови. **Цель работы:** анализ содержания трех повторов генома (рибосомного, сателлита III и теломерного) в образцах ДНК лейкоцитов крови детей с эндогенными психическими нарушениями с целью поиска генетического маркера, позволяющего проводить дифференциальную диагностику между шизофренией и РАС. **Пациенты, группы контроля, методы исследования:** изучены две выборки пациентов общим количеством 136 человек с диагнозами F84.x и F20.8 по МКБ-10. Группу контроля составили 93 ребенка и 78 взрослых без признаков психических расстройств. Выделение ДНК проводили методом экстракции органическими растворителями. Содержание трех повторов в ДНК определяли методом нерадиоактивной количественной гибридизации. Данные анализировали с использованием пакета «StatPlus2007 Professional software», «MedCalc», Excel Microsoft Office, «StatGraph». **Результаты:** образцы ДНК детей с шизофренией содержат больше рибосомных генов и меньше сателлита III, чем ДНК детей с РАС и здоровых детей ($p < 0,001$, U-тест). Кровь пациентов с РАС и шизофренией содержит меньше теломерного повтора, чем кровь здоровых доноров ($p < 10^{-10}$). Показатель K_{sh} , равный отношению $R^2/(S-T)$, который учитывает повышенное содержание рибосомного повтора и сниженное содержание сателлита и теломерного повтора в ДНК детей с шизофренией, обнаружил максимальные различия между группами пациентов детского возраста с шизофренией и РАС ($p < 10^{-11}$, U-тест; ROC-анализ: AUC = 0,88, $p < 0,001$). **Выводы:** показатель K_{sh} потенциально может быть применен в практике для подтверждения диагноза шизофрении у детей с психической патологией.

Ключевые слова: РАС, детский аутизм, детская шизофрения, рибосомные гены, сателлит III(1q12), теломера

Для цитирования: Ершова Е.С., Чудакова Ю.М., Вейко Н.Н., Мартынов А.В., Костюк С.Э., Костюк С.В., Никитина С.Г., Балакирева Е.Е. Вариация содержания трех tandemных повторов (рибосомного, сателлита III и теломерного) в ДНК лейкоцитов крови детей с психическими нарушениями как потенциальный маркер дифференциальной диагностики шизофрении и расстройств аутистического спектра. *Психиатрия*. 2024;22(6):16–26. <https://doi.org/10.30629/2618-6667-2024-22-6-16-26>

RESEARCH

UDC 616.89-02-085; 616-002.2

<https://doi.org/10.30629/2618-6667-2024-22-6-16-26>

Variation in the Content of Three Tandem Repeats (Ribosomal, Satellite III and Telomeric) in the DNA of Blood Leukocytes of Children with Mental Disorders, as a Potential Marker for the Differential Diagnosis of Childhood Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders

E.S. Ershova¹, Yu.M. Chudakova¹, N.N. Veiko¹, A.V. Martynov¹, S.E. Kostyuk¹, S.V. Kostyuk¹, S.G. Nikitina², E.E. Balakireva²

¹ FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

² FSBSI Mental Health Research Centre, Moscow, Russia

Corresponding author: Svetlana V. Kostyuk, svet-vk@yandex.ru

Summary

Background: a problematic issue in child psychiatry is the differential diagnosis of early childhood schizophrenia and autism spectrum disorders (ASD). Previously, the authors showed that the genomes of children with schizophrenia, like the genomes of adult patients, contain more copies of ribosomal genes than the genomes of children with ASD. For adult patients with

schizophrenia, a decrease in the content of satellite III repeat (1q12) in blood leukocytes and a decrease in the average telomere length were also shown. **The aim of study** was an analysis of the content of three genome repeats (ribosomal, satellite III and telomeric) in DNA samples of blood leukocytes of children with endogenous mental disorders in order to search for a genetic marker that allows for differential diagnosis of early childhood schizophrenia and ASD. **Patients, Control groups and Methods:** blood samples from 136 patients with ASD (F84.0 and F84.1 according to ICD-10) and childhood-onset schizophrenia (F20.8x3 according to ICD-10) were obtained from the Department of Child Psychiatry of the Mental Health Research Centre. DNA samples from the healthy control group (93 children and 78 adults) were taken from the collection of samples of Research Centre for Medical Genetics. The selection of patients was carried out using the clinical-psychopathological method. DNA was isolated by extraction with organic solvents. The content of three repeats in DNA was carried out using non-radioactive quantitative hybridization. Data were analyzed using the package "StatPlus2007 Professional software", "MedCalc", Excel Microsoft Office, "StatGraph". **Results:** patients DNA samples from children with schizophrenia contain more ribosomal genes and less satellite III than DNA from children with ASD and DNA from healthy children ($p < 0.001$, U test). DNA samples of patients with ASD and schizophrenia contain fewer telomeric repeats than healthy child controls ($p < 10^{-10}$). The Ksz indicator, equal to the ratio $R2/(S-T)$, which takes into account the increased content of the ribosomal repeat and the reduced content of the satellite and telomeric repeat in the DNA of children diagnosed with childhood schizophrenia, showed the maximum differences between the group of children with schizophrenia and the group of children with ASD ($p < 10^{-11}$, U test; ROC analysis: AUC = 0.88, $p < 0.001$). **Conclusion:** the Ksz indicator can potentially be used in practice to confirm the diagnosis of schizophrenia in children with mental pathology.

Keywords: ASD, childhood autism, childhood schizophrenia, ribosomal genes, satellite III(1q12), telomere

For citation: Ershova S.V., Chudakova Yu.M., Veiko N.N., Martynov A.V., Kostyuk S.E., Kostyuk S.V., Nikitina S.G., Balakireva E.E. Variation in the Content of Three Tandem Repeats (Ribosomal, Satellite III and Telomeric) in the DNA of Blood Leukocytes of Children with Mental Disorders, as a Potential Marker for the Differential Diagnosis of Childhood Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders. *Psychiatry (Moscow) (Psikhiatriya)*. 2024;22(6):16–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.30629/2618-6667-2024-22-6-16-26>

ВВЕДЕНИЕ

Шизофрения, манифестирующая в детском возрасте, и расстройства аутистического спектра (РАС) относятся к мультифакторным заболеваниям нервной системы человека. Психическая патология возникает как следствие комбинации генетических особенностей, пре- и интранатальной патологии и негативных факторов среды. Исследование этиологии РАС и шизофрении, своевременная диагностика этих заболеваний являются важными задачами детской психиатрии. Однако вопрос дифференциальной диагностики между

двумя нозологическими формами остается нерешенным [1–4].

Ранее мы установили, что и дети, и взрослые пациенты с шизофренией отличаются от здоровых людей и пациентов с РАС большим содержанием в геноме рибосомного повтора (показатель R) [5, 6]. Геном человека содержит сотни копий рДНК, которые расположены в виде тандемных повторов на пяти парах акроцентрических хромосом (7–11). Единица повтора включает транскрибируемую область и нетранскрибируемый межгенный спейсер (рис. 1). Транскрибируемая область кодирует 47S пре-рРНК, которая далее процессируется

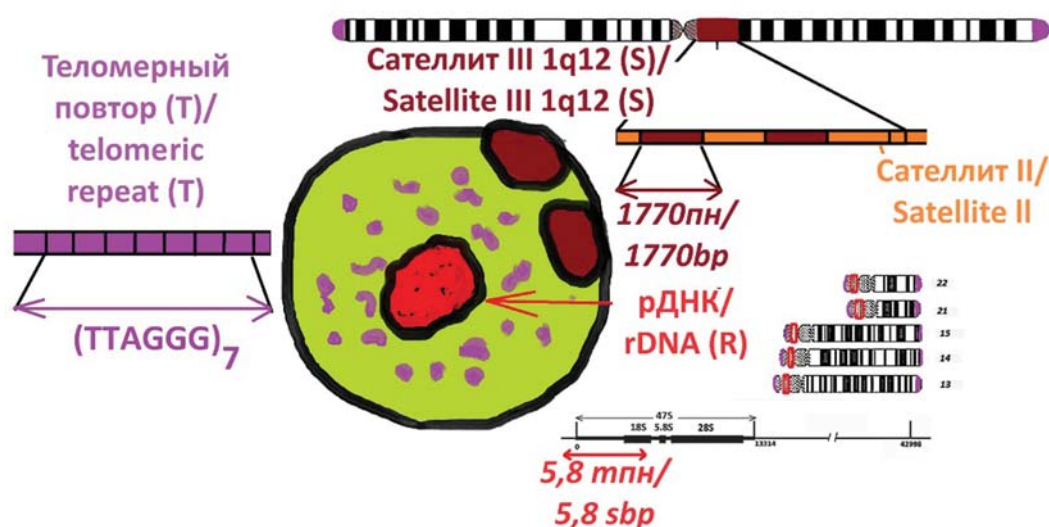


Рис. 1. Схема анализируемых тандемных повторов генома человека

Примечание: расположение повторов в интерфазном ядре схематично изображено по данным ранее опубликованной работы авторов [12]. Показаны используемые для гибридизации ДНК-зонды.

Fig. 1 Scheme of analyzed tandem repeats in the human genome

Note: the location of repeats in the interphase nucleus is schematically depicted according to previously published authors' work [12]. DNA probes used for hybridization are shown.

с образованием 18S рРНК (компонент малой субъединицы рибосомы) и 5.8S и 28S рРНК (компоненты большой субъединицы рибосомы). В интерфазном ядре повторы рДНК формируют структуру ядрышка, где происходит транскрипция рДНК и начальные этапы биогенеза рибосом [13–15].

Было также показано, что ДНК взрослых пациентов с шизофренией по сравнению с контролем содержит малое количество другого tandemного повтора — сателлита III (1q12) (показатель S) [16]. Район 1q12 включает максимальный в геноме человека фрагмент прицентромерного гетерохроматина, который состоит из длинных tandemных повторов сателлитов II и III. В отличие от рДНК содержание сателлита III в ДНК не является стабильным генетическим признаком. Количество сателлита в ДНК повышается при низком уровне стресса и снижается при увеличении интенсивности стрессорного воздействия. Этот эффект обусловлен гетерогенностью клеточных популяций по содержанию этого повтора. Снижение в популяции количества клеток с большим блоком сателлита III, которые не способны индуцировать адаптивный ответ на стресс, приводит к снижению количества повторов в выделенной ДНК [12, 17]. Рибосомный повтор r сателлит III (S) структурно связаны и взаимодействуют в интерфазном ядре в процессе клеточного цикла и ответа на стресс [7]. Размер кластера рДНК в ядре влияет на стабильность гетерохроматина. Именно дестабилизация гетерохроматина приводит к изменению содержания сателлита в клетках [8, 9, 18]. Ранее мы установили, что показатель R/S, который одновременно учитывает и увеличение содержания рДНК в геноме и снижение содержания сателлита III, позволяет повысить степень различия между пациентами, страдающими шизофренией, и здоровыми людьми [19]. Анализ содержания сателлита III в ДНК детей с психическими расстройствами ранее не проводили.

Развитие шизофрении и РАС ассоциировано со снижением содержания в ДНК еще одного tandemного повтора генома — теломерного [10, 11, 20–22]. Теломеры защищают концы хромосом от слипания или потери оснований и поддерживают стабильность клеточного цикла. В последние годы появляется все больше данных о структурно-функциональной связи теломерных и рибосомных повторов в клеточном ядре [23]. Снижение длины теломеры ассоциировано с деконденсацией и транскрипцией гетерохроматиновых участков (в том числе и участков прицентромерного гетерохроматина, куда входит сателлит III) и с развитием ряда заболеваний, вызванных старением организма человека [24–26]. Ранее мы обнаружили, что содержание в ДНК теломерного повтора (показатель T) отрицательно коррелирует с содержанием сателлита III при репликативном старении и в различных участках мозга пациента с шизофренией [10, 11].

Таким образом, три tandemных повтора (рибосомный, сателлит III и теломерный) взаимодействуют между собой в клетке, влияют на структуру хроматина,

а значит, и на профиль экспрессии генов в ядре. Роль этих повторов в функционировании клетки во многом зависит от размера кластеров повторов, т.е. от их количества в ядре.

Целью настоящего исследования был анализ содержания трех повторов генома (рибосомного, сателлита III и теломерного) в образцах ДНК лейкоцитов крови детей с психическими нарушениями, который позволил бы предложить генетический маркер для дифференциальной диагностики шизофрении и РАС.

Основная гипотеза настоящего исследования — совокупный анализ содержания трех повторов в ДНК детей с эндогенными психическими нарушениями позволит внести дополнительный вклад в дифференциальную диагностику шизофрении и РАС.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследованную выборку включены 136 детей с диагнозами РАС (F84.0x, F84.1x по МКБ-10) и шизофрении (F20.8xxb по МКБ-10) в возрасте от 5 до 12 лет (средний возраст 8,3 года), наблюдавшихся в отделе детской психиатрии ФГБНУ НЦПЗ. Выборка была разделена на две группы: пациенты с РАС ($n = 99$) и с шизофренией ($n = 37$).

Критерии включения: соответствие диагнозам F84.0x-F84.1x, F20.8xxb по МКБ-10.

Критерии не включения: наличие врожденных дефектов обмена веществ, хромосомных аномалий, прогрессирующих дегенеративных неврологических заболеваний.

В качестве контроля использованы образцы ДНК 93 детей и 78 взрослых из коллекции ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова».

Этические аспекты

Родители участников подписывали информированное согласие на отбор детей в исследование. Работа получила одобрение Локального Этического комитета ФГБНУ «НЦПЗ» (протокол № 314 от 21.10.2016), Локального Этического комитета ФГБНУ «МГНЦ» (протокол № 6/4 от 15.11.2016). Исследование проведено с соблюдением положений Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. по вопросам медицинской этики, пересмотренной в 1975–2013 гг.

Ethic aspects

The parents of all examined children signed the informed consent to take part in a study. The work received approval from the Local Ethics Committee of FSBSI Mental Health Research Centre (protocol No. 314 of October 21, 2016) and the Local Ethics Committee FSBSI Research Centre for Medical Genetics (protocol No. 6/4 of November 15, 2016). This study complies with the Principles of the WMA Helsinki Declaration 1964 amended 1975–2013.

Группа А (РАС)

В группу пациентов с РАС вошли обследованные с легкой и средней степенью тяжести аутизма. Возраст

пациентов варьировался от 4 до 14 лет, соотношение мальчиков и девочек 3:1. Тяжесть аутизма определяли по Шкале оценки детского аутизма (Childhood Autism Rating Scale, CARS). Среднегрупповой показатель составлял $34,2 \pm 2,1$ балла. У всех пациентов данной группы обнаруживались «осевые» симптомы РАС: нарушение коммуникации, поведенческие и двигательные стереотипии. Помимо этого, отмечались двигательные расстройства кататонического и гипердинамического характера, сопровождавшиеся двигательным возбуждением, негативизмом, импульсивностью. У 64,6% детей ($n = 64$) констатировали задержку речевого развития, у 35,3% ($n = 36$) экспрессивная речь отсутствовала.

Группа Ш (шизофрения у детей)

В группу пациентов с шизофренией, начавшейся в раннем детском возрасте, вошли дети в возрасте от 7 лет, с наличием умеренной позитивной и выраженной негативной симптоматики. Возраст пациентов варьировался от 7 до 14 лет, соотношение мальчиков и девочек 3:1. Количественная оценка психопатологических расстройств произведена по Шкале оценки позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS), согласно которой уровень позитивной симптоматики составлял в среднем $24,2 \pm 1,2$ балла, а негативной — $41,4 \pm 1,1$ балла. В клинической картине на первый план выступала галлюцинаторно-бредовая и кататоническая симптоматика с выраженным двигательным возбуждением, импульсивной агрессией, негативизмом, отрывочными идеями отношения, бреда чужих родителей, патологического фантазирования, отдельными обманами восприятия вербального и зрительного характера, а также отсутствие познавательного интереса, аутизация и быстрая истощаемость.

Группа контроля К1 включала 93 здоровых ребенка в возрасте от 3 до 14 лет, соотношение мальчиков и девочек 3:1.

Группа контроля К2

Поскольку известно, что содержание сателлита III и теломерного повтора в клетках человека нестабильно в условиях стресса и изменяется при старении, то для сравнения были использованы также образцы ДНК 78 взрослых людей в возрасте от 45 до 75 лет [27].

Образцы ДНК контрольных выборок были взяты из коллекции образцов ДНК здоровых людей (никогда не испытывавших проблем с психическим здоровьем и не имеющих родственников с психическими заболеваниями), которая была собрана в лаборатории Молекулярной биологии ФГБНУ «МГНЦ».

Для отбора пациентов использовали клинико-психопатологический и психометрический методы, а также анализ предоставленной медицинской документации. Из клеток крови обследуемых были выделены образцы клеточной ДНК. В каждом образце ДНК определили содержание трех повторов генома (рибосомного, сателлита III (1q12) и теломерного) с применением метода нерадиоактивной количественной гибридизации (NQН).

ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. *Выделение ДНК из лейкоцитов и определение концентрации ДНК.* Пять миллилитров крови отбирали из периферической вены в пробирку с гепарином (0,1 мл/5 мл крови). Лейкоциты отделяли по стандартной методике [28]. Для выделения ДНК использовали стандартный метод, подробно описанный ранее [6]. Метод включает лизис клеток (2% лаурил саркозилат натрия, 0,04 М ЭДТА), обработку РНКазой А (150 мкг/мл, 45 мин, 37 °C; Sigma, USA) и протеиназой К (200 мкг/мл, 24 часа, 37 °C; Promega, USA). Белки экстрагировали фенолом, фенол-хлороформом (1:1) и смесью хлороформ — изоамиловый спирт (24:1). ДНК из водного раствора осаждали (с добавлением 0,3 М ацетата натрия) двумя объемами этанола. Осадок ДНК промывали 70% этанолом и растворяли в воде. Концентрацию ДНК определяли двумя методами — измеряя спектры поглощения и затем, более точно, с применением флуоресцирующего в комплексе с ДНК красителя PicoGreen (Molecular Probes, Invitrogen, CA, USA).

2. *Определение количества повторов в образцах ДНК.* Метод нерадиоактивной количественной гибридизации (NQН) очень подробно изложен ранее [6] и использован без изменений. Этот метод позволяет количественно анализировать tandemные повторы генома, которые плохо поддаются анализу методом ПЦР и секвенирования.

ДНК-зонд для рДНК содержал EcoRI фрагмент транскрибируемой области (5836 пар нуклеотидов (п.н.), позиции от –515 до 5321 п.н.; GenBank № U13369), клонированный в плазмиду pBR322. Содержание рДНК выражали как число копий повтора на диплоидный геном (параметр R).

Зонд на сателлит III — клонированный в плазмиду EcoRI фрагмент области 1q12 длиной 1,77 тыс. п.н. (известный как pUC1.77 [29]). Доктор Н. Cook (MRC, Edinburgh, UK) любезно предоставил этот зонд. ДНК-зонды метили биотином путем ник-трансляции с использованием biotin-11-dUTP. Содержание сателлита III представляли как количество пикограмм повтора (длиной 1,77 тыс. п.н.) в 1 нанограмме ДНК (параметр S). 1 пг повтора/1 нг ДНК соответствует примерно 1600 копиям повтора на диплоидный геном.

Зонд на теломерный повтор — биотинированный по 5'-концу олигонуклеотид состава (TTAGGG)₇ — был синтезирован фирмой «Синтол» (Москва). Содержание теломерного повтора представляли как количество пикограмм повтора в 1 микрограмме ДНК (параметр T). 1 пг повтора /1 мкг ДНК соответствует средней длине теломеры 17 п.н.

3. *Статистический анализ данных.* В рамках одного опыта с применением NQН на фильтр наносили по четыре параллельные пробы одного образца ДНК. Опыт повторяли 2–3 раза. Для определения содержания повторов по результатам гибридизации использовали программу «Image 6.0» (МГНЦ). В табл. 1 приводится описательная статистика для трех параметров,

Таблица 1. Описательная статистика для показателей R, S и T в исследуемых группах
Table 1 Descriptive statistics for R, S and T indices in the analyzed groups of children with ASD (A), children with schizophrenia (Ш), childhood controls (K1) and adult controls (K2)

Параметр/Parameter	ГруппаGroup	Среднее ± SD/ Mean ± SD	Интервал/ Interval	Медиана/ Median	Коэффициент вариации/Coefficient of variation
Число копий рДНК (R)/Number of copies rDNA (R)	Ш	551 ± 158	303–986	514	0,31
	A	435 ± 125	223–751	440	0,29
	K1	423 ± 73	171–659	424	0,17
	K2	433 ± 109	223–711	430	0,25
Сателлит пг/нг ДНК (S)/Satellite pg/ mkg DNA (S)	Ш	14,4 ± 1,5	10,81–6,9	14,6	0,10
	A	17,4 ± 5,6	10,9–45,5	16,3	0,33
	K1	14,1 ± 1,8	11–19	14,0	0,12
	K2	22,1 ± 4,5	10–33	22,0	0,20
Теломерный повтор пг/мкг ДНК (T)/ Telomeric repeat pg/mkg DNA (T)	Ш	290 ± 65	99–375	302	0,23
	A	314 ± 53	934–51	328	0,17
	K1	374 ± 42	234–544	373	0,11
	K2	344 ± 74	210–510	330	0,22
R/S	Ш	38 ± 12	20–75	36	0,32
	A	27 ± 9	5–49	26	0,35
	K1	30 ± 6	12–47	30	0,18
R/T	Ш	1,9 ± 0,5	1,2–3,1	2,0	0,26
	A	1,4 ± 0,5	0,7–3,4	1,4	0,49
	K1	1,2 ± 0,2	0,5–2,2	1,1	0,22
(R/S)·(R/T)	Ш	72 ± 29	39–123	71	0,28
	A	38 ± 19	5–94	35	0,49
	K1	35 ± 9	12–68	34	0,26

отражающих содержание повторов в ДНК. В табл. 2 проводится сравнение групп с использованием методов непараметрической статистики Манна–Уитни (сравнение групп по содержанию повторов), Колмогорова–Смирнова (сравнение распределений образцов по содержанию повторов) и ROC-анализа. Различия считали достоверными при $p < 0,01$. Для анализа корреляций между величинами применили статистику Спирмена. Данные анализировали с использованием пакета «StatPlus2007 Professional software» (<http://www.analystsoft.com>). ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic) проводили с применением программного обеспечения фирмы MedCalc (<https://www.medcalc.org/manual/roc-curves.php>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 2 (A1–B1) приведены экспериментальные данные, полученные при анализе содержания трех повторов в ДНК, выделенной из лейкоцитов крови обследованных. В табл. 1 приведена описательная статистика для трех параметров. На рис. 2 (A2–B2) даны распределения для образцов ДНК в группах по содержанию повторов. В табл. 2 отражены результаты сравнения групп по значениям показателей R, S и T.

Показатель R. Число копий рДНК в исследуемой выборке ($n = 307$) варьируется от 171 копии

до 986 копий на диплоидный геном. Показатель R в группе Ш больше по сравнению с группой A ($p < 10^{-3}$) и группой контроля K1 ($p < 10^{-4}$). Группы A и K1 не различаются по количеству рДНК в геноме ($p > 0,05$). Однако распределения параметра R в группах A и K1 значительно различаются ($p < 0,01$). Для группы A наблюдается диспропорционирование образцов ДНК по значениям R. Для 40% образцов ДНК показатель меньше, чем в контроле K1, для 60% — больше (рис. 2A2).

Показатель S. Содержание сателлита III минимально в культивируемых клетках первых пассажей и в клетках крови здоровых детей [17]. Репликативное и естественное старение сопровождается увеличением в клеточных популяциях количества клеток с большим содержанием сателлита. Контроль K1 (дети) содержит меньше повтора, чем контроль K2 (взрослые) ($p < 10^{-4}$). Группа A занимает промежуточное положение между группами K1 и K2 по значениям параметра S. Содержание сателлита в ДНК группы Ш не отличается от содержания в ДНК контроля K1. Различия между группами K1, A и Ш, по-видимому, можно объяснить различным уровнем окислительного стресса.

Показатель T. Содержание теломерного повтора значительно снижено в образцах ДНК групп A и Ш по сравнению с контролем K1 ($p < 10^{-12}$). Наши данные подтверждают данные других авторов, которые описали эффект снижения показателя средней длины

теломер у детей с РАС и у взрослых пациентов с шизофренией [10, 11, 20–22]. Причиной уменьшения средней длины теломер у пациентов детского возраста является окислительный стресс, который вызывает повреждение ДНК.

На рис. 3 приводятся взаимозависимости трех показателей в трех группах одного возраста (Ш, А и К1). Обращает на себя внимание более компактное расположение точек для контрольной группы. 85% образцов ДНК попадают в диапазон значений R от 300 до 520

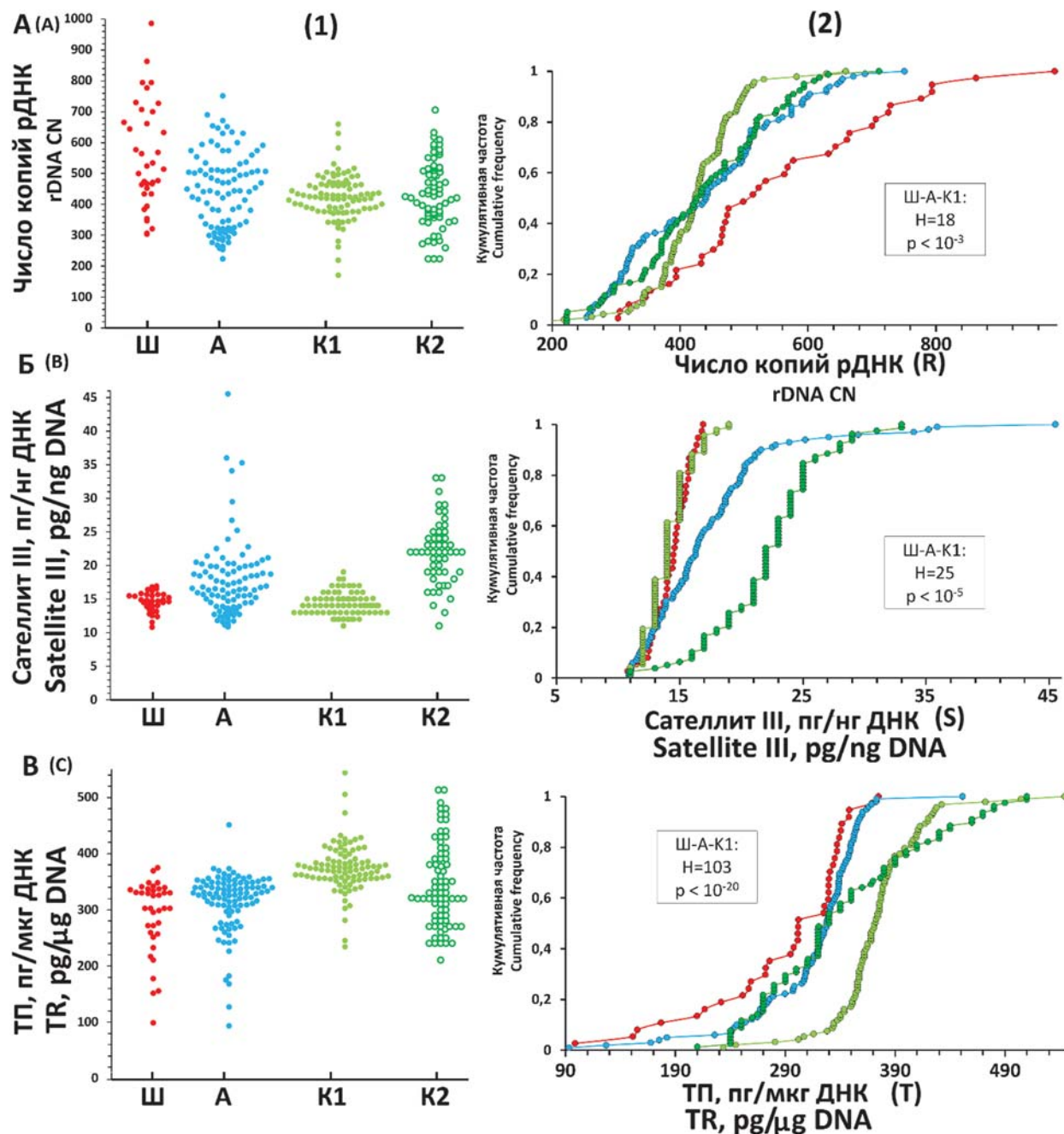


Рис. 2. Экспериментальные данные, отражающие содержание трех tandem повторов в ДНК в исследуемых группах. А (1), Б (1), В (1)

Примечания: содержание рибосомного, сателлитного и теломерного повторов в образцах ДНК групп (экспериментальные данные). А (2), Б (2), В (2) — кумулятивные распределения образцов ДНК по содержанию трех повторов. Ш — группа детей с диагнозом шизофрения; А — группа детей с диагнозом аутизм; К1 — группа условно здоровых детей; К2 — группа условно здоровых взрослых.

Fig. 2 Experimental data reflecting the content of three tandem repeats in DNA in the studied groups. А (1), В (1), С (1) *Notes:* Content of ribosomal, satellite and telomeric repeats in samples of DNA groups (experimental data). А (2), В (2), С (2) — Cumulative distributions of DNA samples by content of three repeats. Ш — group of children diagnosed with schizophrenia; А — group of children diagnosed with autism; К1 — group of healthy children; К2 — group of healthy adults.

Таблица 2. Сравнение экспериментально определенных и рассчитанных показателей, отражающих содержание трех повторов генома в анализируемых группах детей с РАС (А), детей с шизофренией (Ш), контролей детского возраста (К1) и контролей взрослого возраста (К2)
Table 2 Comparison of experimentally determined and calculated indicators reflecting the content of three genome repeats in the analyzed groups of children with ASD (A), children with schizophrenia (Ш), childhood controls (K1) and adult controls (K2)

№	Параметр/Parameter	Группы сравнения/Comparison groups		Тест Холмогорова–Смирнова/Test Kolmogorov–Smirnov		ROC-анализ/ROC-analysis		U-тест/U-test
		X1	X2	D	α	AUC	p	p
1	pДНК(R)/rDNA (R)	Ш	А	0,30	0,012	0,67	< 0,01	< 10 ⁻³
		Ш	К1	0,47	< 10 ⁻⁴	0,73	< 10 ⁻³	< 10 ⁻⁴
		А	К1	0,25	< 10 ⁻²	0,51	> 0,01	> 0,05
2	Сателлит III (S)/Satellite III (S)	Ш	А	-0,41	< 10 ⁻³	0,64	< 0,01	< 0,002
		Ш	К1	0,25	0,06	0,57	> 0,01	> 0,2
		А	К1	0,44	< 10 ⁻⁸	0,70	< 0,01	< 10 ⁻⁵
3	Теломерный повтор (T)/Telomeric repeat (T)	Ш	А	-0,24	0,07	0,62	> 0,01	0,03
		Ш	К1	-0,76	< 10 ⁻¹⁴	0,89	< 10 ⁻³	< 10 ⁻¹²
		А	К1	-0,65	< 10 ⁻¹⁸	0,87	< 10 ⁻³	< 10 ⁻²⁰
4	R/S	Ш	А	0,49	< 10 ⁻⁵	0,78	< 10 ⁻³	< 10 ⁻⁶
		Ш	К1	0,41	< 10 ⁻³	0,69	< 0,01	< 10 ⁻³
		А	К1	-0,35	< 10 ⁻⁴	0,65	< 0,01	< 10 ⁻³
5	R/T	Ш	А	0,49	< 10 ⁻⁵	0,78	< 10 ⁻³	< 10 ⁻⁶
		Ш	К1	0,80	< 10 ⁻¹⁵	0,93	< 10 ⁻³	< 10 ⁻¹³
		А	К1	0,45	< 10 ⁻⁸	0,69	< 0,01	< 10 ⁻⁵
6	(R/S)·(R/T)	Ш	А	0,65	< 10 ⁻¹⁰	0,88	< 10 ⁻³	< 10 ⁻¹¹
		Ш	К1	0,85	< 10 ⁻¹⁷	0,97	< 10 ⁻³	< 10 ⁻¹⁵
		А	К1	0,23	0,012	0,52	> 0,01	> 0,5

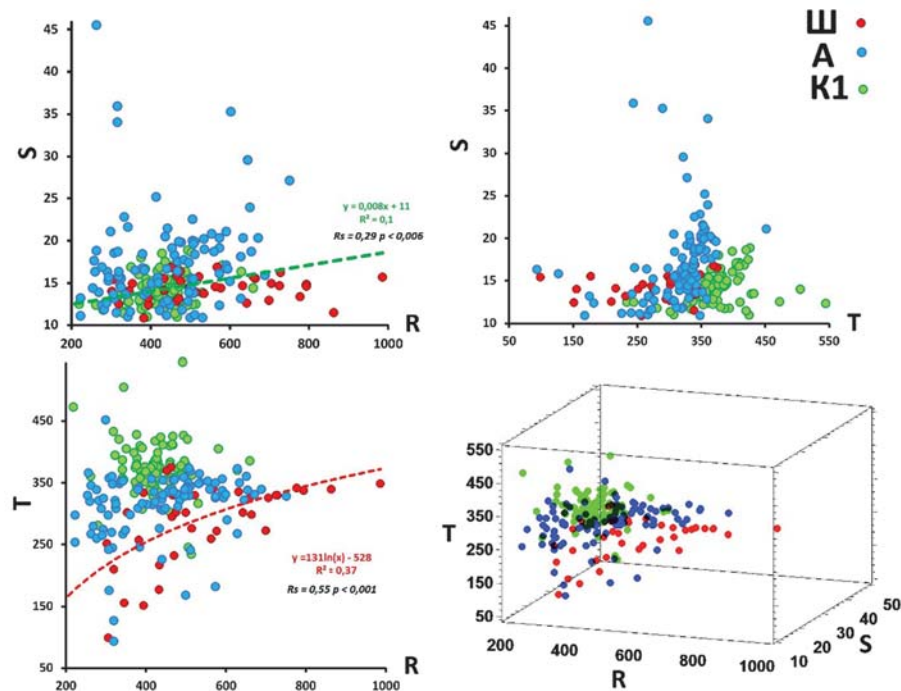


Рис. 3. Взаимозависимость содержания трех тандемных повторов в образцах ДНК человека. Ш — группа детей с диагнозом шизофрения; А — группа детей с диагнозом аутизм; К1 — группа условно здоровых детей
Fig. 3 Interdependence of the content of three tandem repeats in human DNA samples. Ш — group of children diagnosed with schizophrenia; А — group of children diagnosed with autism; К1 — group of healthy children

копий, S — от 11 до 17 пг/нг ДНК и T — от 300 до 500 пг/мкг ДНК. В этой области расположено только 21% образцов ДНК из группы Ш и 24% образцов из группы А. Для группы К1 обнаружена положительная корреляция между R и S. Чем больше в геноме рДНК, тем больше в популяции клеток с повышенным содержанием сателлита III. Аналогичные данные были получены нами ранее [19]. Большое число копий рДНК ассоциировано с более эффективным синтезом белка (большим количеством рибосом), особенно в условиях стресса. Наиболее выраженную корреляцию наблюдали в группе Ш между числом копий рДНК и содержанием теломерного повтора. Для других объектов ранее уже была описана положительная корреляция между длиной теломер и числом копий рДНК [23].

Определенные в эксперименте и рассчитанные показатели (см. табл. 1 и 2) распределяются по мере возрастания различий между группами Ш и А в ряд (в скобках — значения AUC):

T (0,62) — S(0,64) — R(0,67) — R/S, R/T(0,78) — $R^2/S \cdot T$ (0,88).

Максимальные различия между группами А и Ш демонстрирует показатель $K_{ш} = R^2/S \cdot T$. Этот показатель, равный произведению показателей (R/S) × (R/T), учитывает увеличенное число копий рДНК, уменьшенное

содержание сателлита III и более низкое содержание теломерного повтора в лейкоцитах крови группы Ш по сравнению с группой А. На рис. 4А приводят распределения этого показателя в трех группах, на рис. 4Б — зависимость показателя от экспериментально определяемых величин. В группе Ш показатель $K_{ш}$ по отдельности достоверно не коррелирует с величинами R, S и T. В группе А $K_{ш}$ положительно коррелирует с R ($R_s = 0,29, p = 0,004$) и отрицательно коррелирует с S ($R_s = -0,55, p < 0,0001$) и T ($R_s = -0,30, p = 0,003$).

Данные ROC-анализа показывают отчетливые различия (AUC = 0,88) между группами А и Ш по показателю $K_{ш}$ (рис. 4В). Наиболее оптимальное соотношение между чувствительностью (0,70) и специфичностью (0,87) достигается при пороговом значении $K_{ш} = 62$ ед. В область $K_{ш} > 62$ ед. попал только один образец группы К1 и 12 из 99 образцов группы А. Такие пациенты с РАС требуют дальнейшего наблюдения психиатра для подтверждения/изменения диагноза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью работы стал поиск показателя, который позволил бы максимально различать группы детей с психическими проблемами (детской шизофренией

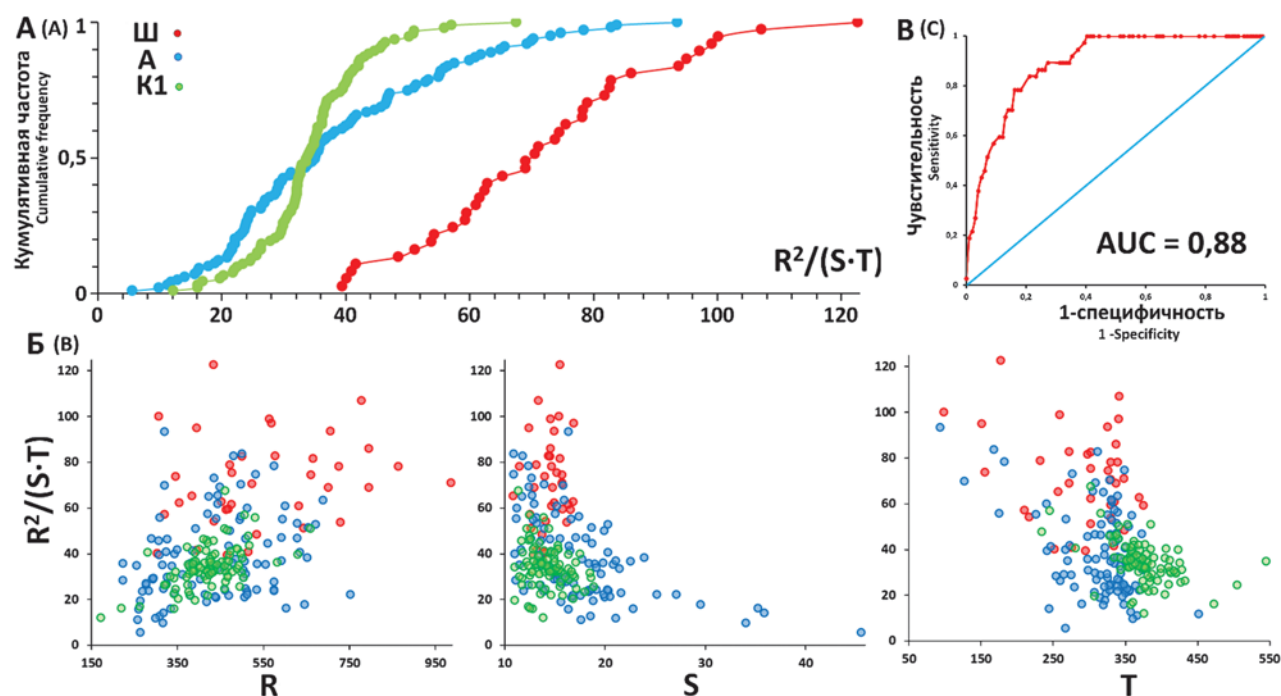


Рис. 4. Рассчитанный показатель $K_{ш} = R^2/S \cdot T$, позволяющий дифференцировать шизофрению и РАС по содержанию трех повторов генома в лейкоцитах крови детей. А. Кумулятивные распределения величины $K_{ш}$ в группах детей. Б. Зависимость величины $K_{ш}$ от значений параметров R, S и T. В. ROC-кривая, отражающая различия между группами Ш и А по значениям параметра $K_{ш}$. Ш — группа детей с диагнозом шизофрения; А — группа детей с диагнозом аутизм; К1 — группа условно здоровых детей

Fig. 4 Calculated indicator $K_{sz} = R^2/S \cdot T$, which makes it possible to differentiate childhood schizophrenia and ASD based on the content of three genome repeats in blood leukocytes. A. Cumulative distributions of K_{sz} values in groups of children. B. Dependence of the K_{sz} value on the values of the parameters R, S and T. B. ROC curve reflecting the differences between groups III and A in the values of the K_{sz} parameter. Ш — group of children diagnosed with schizophrenia; А — group of children diagnosed with autism; К1 — group of healthy children

и РАС). Наиболее вероятной причиной высоких значений показателя R в некоторых образцах ДНК детей из группы шизофрении является наличие в геноме генетической патологии, которая требует повышенного уровня синтеза белка (большого числа рибосом) для успешного эмбриогенеза [19, 27]. Ранее было показано, что в группе обследованных с шизофренией окислительный стресс и повреждения ДНК значительно выше, чем в группе детей с РАС [30]. Умеренный стресс (группа А) стимулирует накопление сателлита III по сравнению с контролем К1, более сильный стресс (группа Ш) снижает содержание повтора в ДНК, поскольку вызывает гибель клеток с большим содержанием сателлита [12]. Этот процесс является частью адаптивного ответа организма на эндогенный окислительный стресс, индуцированный заболеванием. Обобщенный результат исследования выражен в показателе $K_{ш}$, который демонстрирует увеличенное число копий рДНК, уменьшенное содержание сателлита III и более низкое содержание теломерного повтора в лейкоцитах крови группы Ш по сравнению с группой А.

Измененное количество повторов ДНК в лейкоцитах крови при психической патологии может потенциально рассматриваться в качестве одного из многих биомаркеров заболевания, а его применение в психиатрической (диагностической) практике допустимо в сочетании с другими клиническими и лабораторными показателями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показатель $K_{ш} = R^2/S \cdot T$, учитывающий содержание в ДНК лейкоцитов крови трех tandemных повторов (рибосомного, сателлита III (1q12) и теломерного), потенциально может быть применен в медицинской практике для подтверждения диагноза шизофрении или РАС у детей с эндогенной психической патологией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ/REFERENCES

1. Haker H, Schneebeli M, Stephan KE. Can Bayesian Theories of Autism Spectrum Disorder Help Improve Clinical Practice? *Front Psychiatry*. 2016;7:107. doi: 10.3389/fpsy.2016.00107 PMID: 27378955 PMCID: PMC4911361.
2. Fernandez A, Pasquet-Levy M, Laure G, Thümmel S, Askenazy F. Neurodevelopmental Disorders, Psychiatric Comorbidities and Associated Pathologies in Patients with Childhood-Onset Schizophrenia and Premorbid Autistic Symptoms. *Can J Psychiatry*. 2021;66(12):1042–1050. doi: 10.1177/0706743721990822 PMID: 33563032 PMCID: PMC8689449.
3. Unenge Hallerbäck M, Lugnegård T, Gillberg C. Is autism spectrum disorder common in schizophrenia? *Psychiatry Res*. 2012;7:107. doi: 10.3389/fpsy.2016.00107 PMID: 27378955 PMCID: PMC4911361.
4. Cochran DM, Dvir Y, Frazier JA. “Autism-plus” spectrum disorders: Intersection with psychosis and the schizophrenia spectrum. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2013;22(4):609–627. doi: 10.1016/j.chc.2013.04.005. PMID: 24012076.
5. Ershova ES, Veiko NN, Nikitina SG, Balakireva EE, Martynov AV, Chudakova JM, Shmarina GV, Kostyuk SE, Salimova NA, Veiko RV, Porokhovnik LN, Asanov AY, Izhevskaya VL, Kutsev SI, Simashkova NV, Kostyuk SV. Ribosomal DNA Abundance in the Patient’s Genome as a Feasible Marker in Differential Diagnostics of Autism and Childhood-Onset Schizophrenia. *J Pers Med*. 2022;12(11):1796. doi: 10.3390/jpm12111796. PMID: 36579513 PMCID: PMC9693473.
6. 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;197:305–314. doi: 10.1016/j.schres.2018.01.001. PMID: 29336872.
7. Léger I, Guillaud M, Krief B, Brugal G. Interactive computer-assisted analysis of chromosome 1 colocalization with nucleoli. *Cytometry*. 1994;16(4):313–323. doi: 10.1002/cyto.990160405. PMID: 7988293.
8. Paredes S, Maggert KA. Ribosomal DNA contributes to global chromatin regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(42):17829–17834. doi: 10.1073/pnas.0906811106. PMID: 19822756 PMCID: PMC2764911.
9. Kobayashi T. A new role of the rDNA and nucleolus in the nucleus-rDNA instability maintains genome integrity. *Bioessays*. 2008;30(3):267–272. doi: 10.1002/bies.20723. PMID: 18293366.
10. Ayora M, Fraguas D, Abregú-Crespo R, Recio S, Blasco MA, Moises A, Derevyanko A, Arango C, Díaz-Caneja CM. Leukocyte telomere length in patients with schizophrenia and related disorders: a meta-analysis of case-control studies. *Mol Psychiatry*. 2022;27(7):2968–2975. doi: 10.1038/s41380-022-01541-7. PMID: 35393557.
11. Wolkowitz OM, Jeste DV, Martin AS, Lin J, Daly RE, Reuter C, Kraemer H. Leukocyte telomere length: Effects of schizophrenia, age, and gender. *J Psychiatr Res*. 2017;85:42–48. doi: 10.1016/j.jpsychires.2016.10.015. PMID: 27835738.
12. 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.
13. McStay B, Grummt I. The epigenetics of rRNA genes: from molecular to chromosome biology. *Annu Rev*

- Cell Dev Biol.* 2008;24:131–157. doi: 10.1146/annurev.cellbio.24.110707.175259. PMID: 18616426.
14. Moss T, Stefanovsky VY. At the center of eukaryotic life. *Cell.* 2002;109(5):545–548. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00761-4. PMID: 12062097.
 15. Grummt I. The nucleolus — guardian of cellular homeostasis and genome integrity. *Chromosoma.* 2013;122(6):487–497. doi: 10.1007/s00412-013-0430-0. PMID: 24022641.
 16. 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;22:10:1132. doi: 10.3389/fgene.2019.01132. PMID: 31850056. PMCID: PMC6902095.
 17. 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;10:704. doi: 10.3389/fgene.2019.00704. PMID: 31447880. PMCID: PMC6692473.
 18. 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 USA.* 2015;112(49):15148–1853. doi: 10.1073/pnas.1518008112. PMID: 26575630. PMCID: PMC4679016.
 19. 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;223:199–212. doi: 10.1016/j.schres.2020.07.022. PMID: 32773342.
 20. Li Z, Tang J, Li H, Chen S, He Y, Liao Y, Wei Z, Wan G, Xiang X, Xia K, Chen X. Shorter telomere length in peripheral blood leukocytes is associated with childhood autism. *Sci Rep.* 2014;4:7073. doi: 10.1038/srep07073. PMID: 25399515; PMCID: PMC4233346.
 21. Zhang T, Sun Y, Wei J, Zhao G, Hao W, Lv Z, Chen X, Liu Y, Wei F. Shorter telomere length in children with autism spectrum disorder is associated with oxidative stress. *Front Psychiatry.* 2023;14:1209638. doi: 10.3389/fpsy.2023.1209638. PMID: 37333916; PMCID: PMC10272824.
 22. Lewis CR, Taguinod F, Jepsen WM, Cohen J, Agrawal K, Huentelman MJ, Smith CJ, Ringenbach SDR, Braden BB. Telomere Length and Autism Spectrum Disorder within the Family: Relationships with Cognition and Sensory Symptoms. *Autism Res.* 2020;13(7):1094–1101. doi: 10.1002/aur.2307. PMID: 32323911.
 23. Valeeva LR, Abdulkina LR, Agabekian IA, Shakirov EV. Telomere biology and ribosome biogenesis: structural and functional interconnections. *Biochem Cell Biol.* 2023;101(5):394–409. doi: 10.1139/bcb-2022-0383
 24. Ye Q, Apsley AT, Etzel L, Hastings WJ, Kozlosky JT, Walker C, Wolf SE, Shalev I. Telomere length and chronological age across the human lifespan: A systematic review and meta-analysis of 414 study samples including 743,019 individuals. *Ageing Res Rev.* 2023;90:102031. doi: 10.1016/j.arr.2023.102031. PMID: 37567392. PMCID: PMC10529491.
 25. Rizvi S, Raza ST, Mahdi F. Telomere length variations in aging and age-related diseases. *Curr Aging Sci.* 2014;7(3):161–167. doi: 10.2174/1874609808666150122153151. PMID: 25612739.
 26. D’Mello MJ, Ross SA, Briel M, Anand SS, Gerstein H, Paré G. Association between shortened leukocyte telomere length and cardiometabolic outcomes: systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Genet.* 2015;8(1):82–90. doi: 10.1161/CIRCGENET-ICS.113.000485 PMID: 25406241.
 27. Veiko NN, Ershova ES, Veiko RV, Umriukhin PE, Kurmyshev MV, Kostyuk GP, Kutsev SI, Kostyuk SV. Mild cognitive impairment is associated with low copy number of ribosomal genes in the genomes of elderly people. *Front Genet.* 2022;13:967448. doi: 10.3389/fgene.2022.967448. PMID: 36199570. PMCID: PMC9527325.
 28. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1968;97:7. PMID: 5707208.
 29. Cooke HJ, Hindley J. Cloning of human satellite III DNA: different components are on different chromosomes. *Nucleic Acids Res.* 1979;6(10):3177–3197. doi: 10.1093/nar/6.10.3177. PMID: 573470 PMCID: PMC327928.
 30. Никитина СГ, Ершова ЕС, Чудакова ЮМ, Шмарина ГВ, Вейко НН, Мартынов АВ, Костюк СЭ, Модестов АА, Рожнова ТМ, Ижевская ВЛ, Костюк СВ, Симашкова НВ. Окислительные повреждения ДНК клеток периферической крови и внеклеточной ДНК плазмы крови как показатель тяжести окислительного стресса при расстройствах аутистического спектра и шизофрении у детей. *Психиатрия.* 2021;19(4):15–25. doi: 10.30629/2618-6667-2021-19-4-15-25
 - Nikitina SG, Ershova ES, Chudakova JM, Shmarina GV, Veiko NN, Martynov AV, Kostuk SE, Modestov AA, Rozhnova TM, Izhevskaya VL, Kostuk SV, Simashkova NV. Oxidative DNA Damage of Peripheral Blood Cells and Blood Plasma Cell-Free DNA as an Indicator of the Oxidative Stress Level in Children with Autism Spectrum Disorders and Schizophrenia. *Psychiatry (Moscow) (Psikhiatriya).* 2021;19(4):15–25. (In Russ.). doi: 10.30629/2618-6667-2021-19-4-15-25

Сведения об авторах

Елизавета Сергеевна Ершова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1206-5832>

es-ershova@rambler.ru

Юлия Михайловна Чудакова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0299-426X>

julia.chudakova@yandex.ru

Наталья Николаевна Вейко, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1847-0548>

satelit32006@yandex.ru

Андрей Владимирович Мартынов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6697-8306>

avlamar@mail.ru

Светлана Эдмундовна Костюк, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3659-3608>

lanak28@gmail.com

Светлана Викторовна Костюк, доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией, лаборатория молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6336-9900>

svet-vk@yandex.ru

Светлана Геннадьевна Никитина, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, отдел детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7775-1692>

nikitina.svt@mail.ru

Елена Евгеньевна Балакирева, кандидат медицинских наук, заведующая отделом, ведущий научный сотрудник, отдел детской психиатрии, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3919-7045>

balakirevalena@yandex.ru

Information about the authors

Elizaveta S. Ershova, Cand. Sci. (Biol.), Leading researcher, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/000-0003-1206-5832>

es-ershova@rambler.ru

Yulia M. Chudakova, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0299-426X>

julia.chudakova@yandex.ru

Natalya N. Veiko, Dr. Sci. (Biol.), Docent, Chief researcher, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1847-0548>

satelit32006@yandex.ru

Andrey V. Martynov, Cand. Sci. (Biol.), Senior researcher, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6697-8306>

avlamar@mail.ru

Svetlana E. Kostyuk, Laboratory researcher, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3659-3608>

lanak28@gmail.com

Svetlana V. Kostyuk, Dr. Sci. (Biol.), Docent, Head of laboratory, Molecular biology laboratory, FSBSI Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6336-9900>

Svetlana G. Nikitina, Cand. Sci. (Med.), Senior researcher, Department of Child Psychiatry, FSBSI Mental Health Research Centre, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7775-1692>

nikitina.svt@mail.ru

Elena E. Balakireva, Cand. Sci. (Med.), Leading researcher, Head of department, Department of Child Psychiatry, FSBSI Mental Health Research Centre, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3919-7045>

balakirevalena@yandex.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

There is no conflict of interests.

Дата поступления 15.06.2024
Received 15.06.2024

Дата рецензирования 09.08.2024
Revised 09.08.2024

Дата принятия к публикации 24.09.2024
Accepted for publication 24.09.2024