

# **АУТИЗМ:**

# **Информация к размышлению**

**Трифенова Екатерина Александровна**

**Расстройства аутистического спектра являются отдельной группой дефектов развития с очень высокой генетической компонентой.**

**Основные симптомы аутизма можно разделить на две части: 1) значительное снижение коммуникативных и социальных функций, в том числе и речевой коммуникации и 2) значительное повышение стереотипии в поведении и речи, крайняя ограниченность интересов.**

**Существует феномен преобладания мальчиков над девочками в соотношении 4:1 для аутизма Каннера и до 14:1 в случае аутизма Аспергера. Считается, что 80% аутистов мальчики.**

**С развитием полноэкзомного секвенирования и его применения для анализа геномов аутистов стало ясно, что более 25% случаев РАС может быть объяснено моногенными мутациями. Возможно, около 70% случаев так называемого типичного аутизма имеют другую генетическую природу.**

# Рост диагностики аутизма

| Страна               | Превалентность 2012 |
|----------------------|---------------------|
| Австралия            | 1 из 50             |
| Канада               | 1 из 51             |
| Южная Корея          | 1 из 38             |
| Великобритания       | 1 из 60             |
| США                  | 1 из 88             |
| Российская Федерация | 1 из 3500 ???       |
| Япония               | 1 из 61             |

В 2016 году по данным CDC ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)) в США превалентность аутизма сохранилась на уровне 1 из 68



# **Мифы, связанные с аутизмом**

- 1. Все дети с аутизмом невербальные.**
- 2. Все дети с аутизмом не смотрят в глаза, терпеть не могут, когда к ним прикасаются и избегают общения с людьми.**
- 3. Люди с аутизмом невероятно талантливы, в Силиконовой долине работают в основном аутисты.**
- 4. Невербальные аутисты также невероятно талантливы и даже способны создавать глубокие философские произведения в стихах и прозе.**
- 5. Аутизм неизлечим, если ребенок демонстрирует прогресс в развитие, то это не аутист.**
- 6. Аутизм – это детская шизофрения, это уже давно известно советской школе психиатрии.**
- 7. Мозг аутистов распадается без лечения нейрорептиками.**



# **Диагностика аутизма**

**Для диагностики РАС пока неприменимы ни аналитические методы, ни диагностические приборы. Современная диагностика РАС основана исключительно на наблюдениях за поведением человека.**

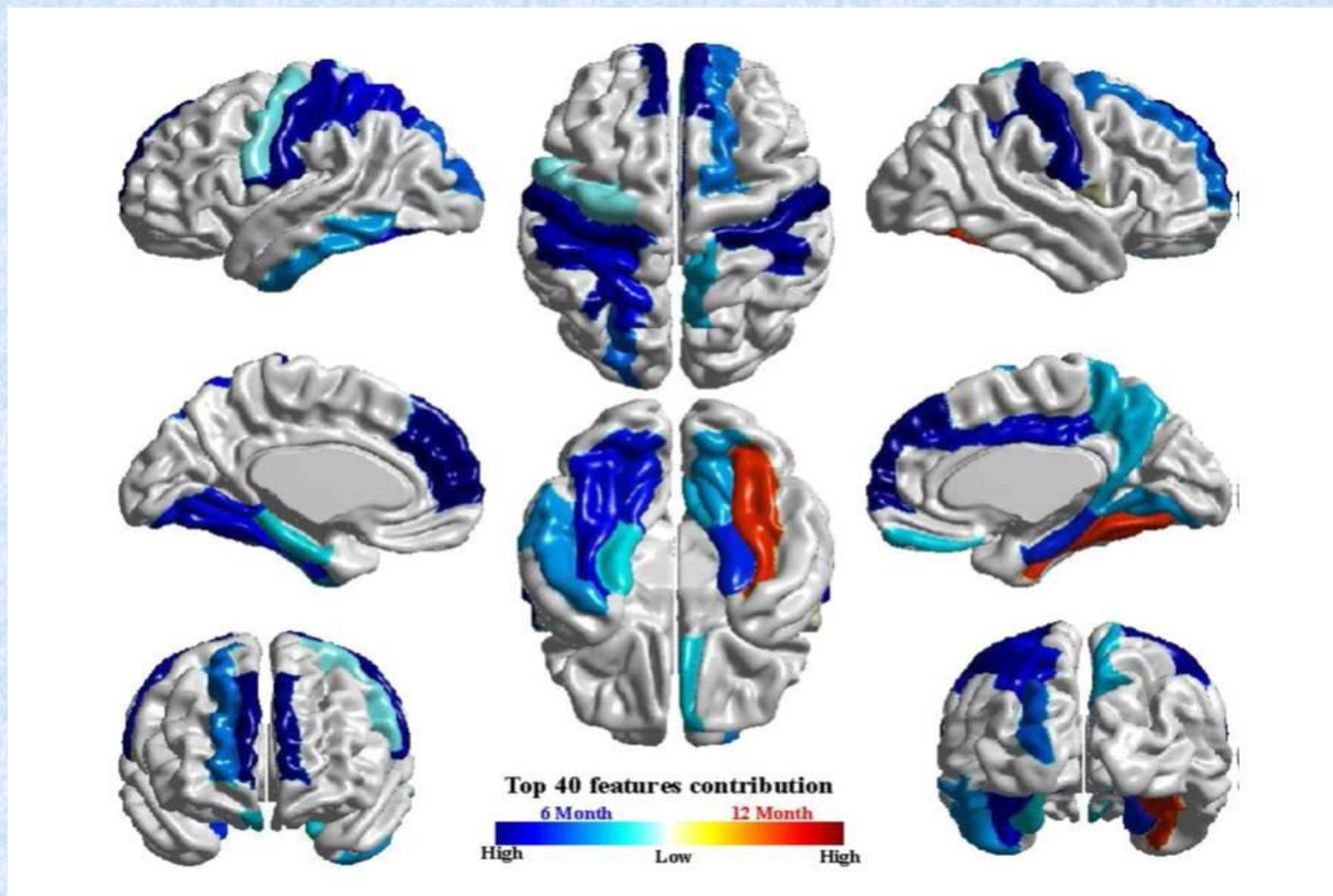
**План диагностического обследования при аутизме (ADOS), разработанный коллективом специалистов под руководством Кэтрин Лорд, является стандартным, структурированным методом обследования лиц в связи с возможным наличием у них расстройства аутистического спектра (РАС).**

**Последний вариант ADOS включает пять модулей, каждый из которых содержит детально разработанный протокол, рассчитанный на 40-60 минутное обследование.**

**В настоящее время ADOS является единственным объективным научно обоснованным инструментом диагностики аутизма.**

**Тотальная диагностика испытуемых по ADOS является обязательным элементом абсолютно всех исследований аутизма в последнее десятилетие.**

# Возможность диагностики с помощью МРТ высокого разрешения



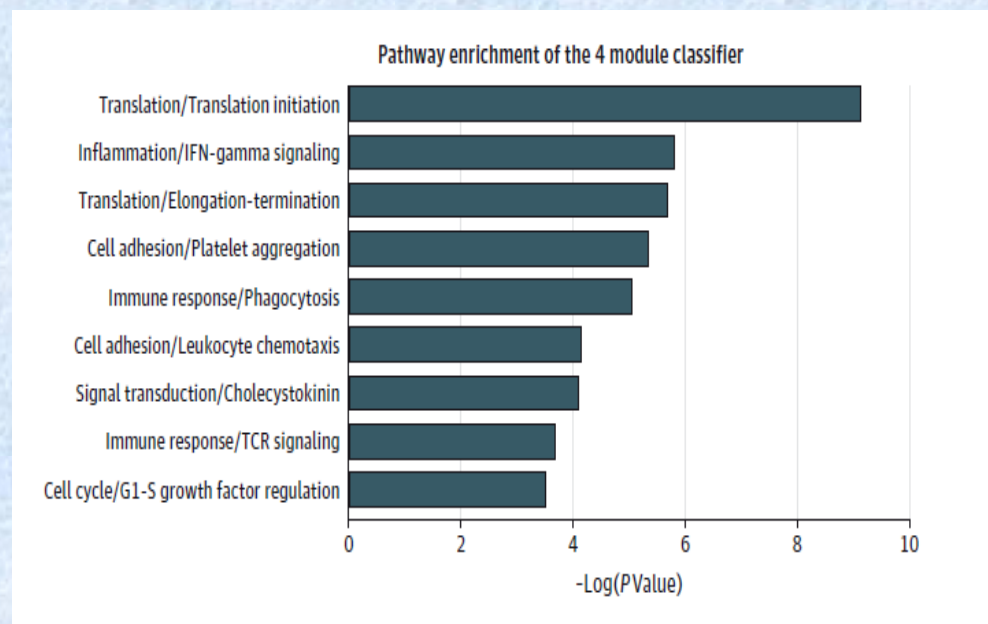
Показано увеличение темпов роста и размеров коры головного мозга у детей с высоким риском аутизма. Точность диагностики 81%.

Cody Hazlett H et al. Nature. 2017. 542:348-351. doi:10.1038/nature21369

# Возможность диагностики аутизма по уровню экспрессии РНК в лейкоцитах

Была показана принципиальная возможность диагностики аутизма по анализу крови. Авторами были обнаружены достоверные различия в уровнях РНК, связанных с регуляцией инициации трансляции и иммунитета. Сравнения проводились как аутистов с нормотипичными детьми, так и аутистов с детьми с задержками развития и речи другого типа. Точность диагностики составила 83%, это так называемое proof-of-principle study.

***JAMA Psychiatry*. 2015;72(4):386-394.  
doi:10.1001/jamapsychiatry.2014.3008**





# Что помогли узнать об аутизме эксперименты на модельных животных?

- Туберозный склероз – это моногенное расстройство, связанное с мутацией в одном из аллелей *TSC1* (9q34) или *TSC2* (16p13.3), расстройство часто сопровождается умственной отсталостью, аутизмом и эпилепсией. Для изучения данного заболевания были созданы трансгенные модельные мыши *Tsc2*<sup>+/-</sup>, которые продемонстрировали дефекты обучаемости и памяти, характерные для аутизма. На этих животных впервые была продемонстрирована обратимость аутизма, то есть поведение мышей значительно улучшалось даже во взрослом состоянии после терапии рапамицином.
- Экспрессия гена PTEN была нокаутирована в нейронах аудиокортекса Cre-опосредованной рекомбинацией у мышей. Полученные модельные мыши продемонстрировали гиперконнективность слуховой коры. Было высказано предположение, что гиперконнективность коры головного мозга может быть конечным результатом всех генетических нарушений, приводящих к аутизму. Было показано, что 10 дней терапии рапамицином нормализует проводимость аудиокортекса.





# Нарушения структуры и функций синапсов, связанные с измененным биосинтезом и деградацией белков

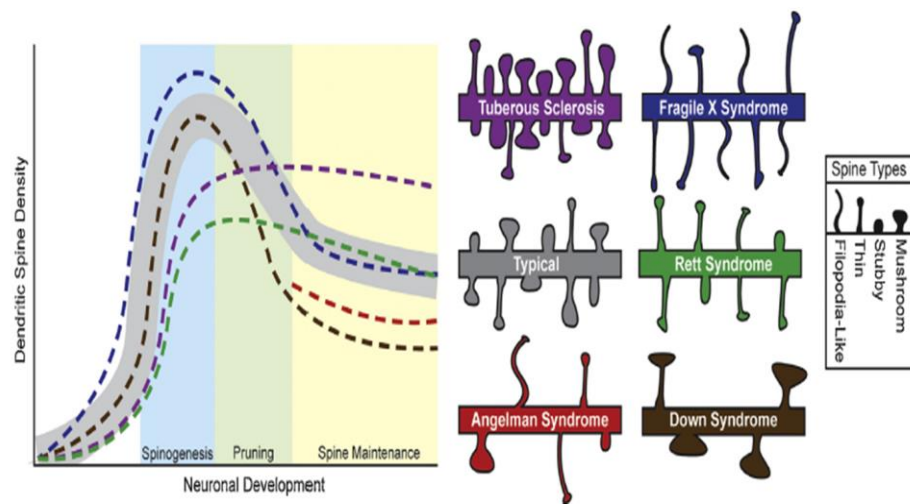
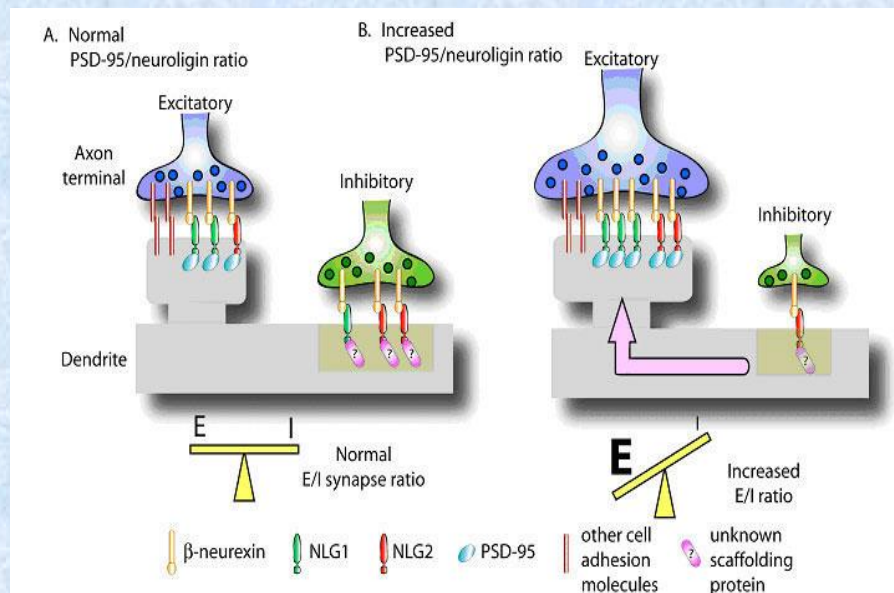


Fig. 1. Characterization of dendritic spines in autism related disorders.

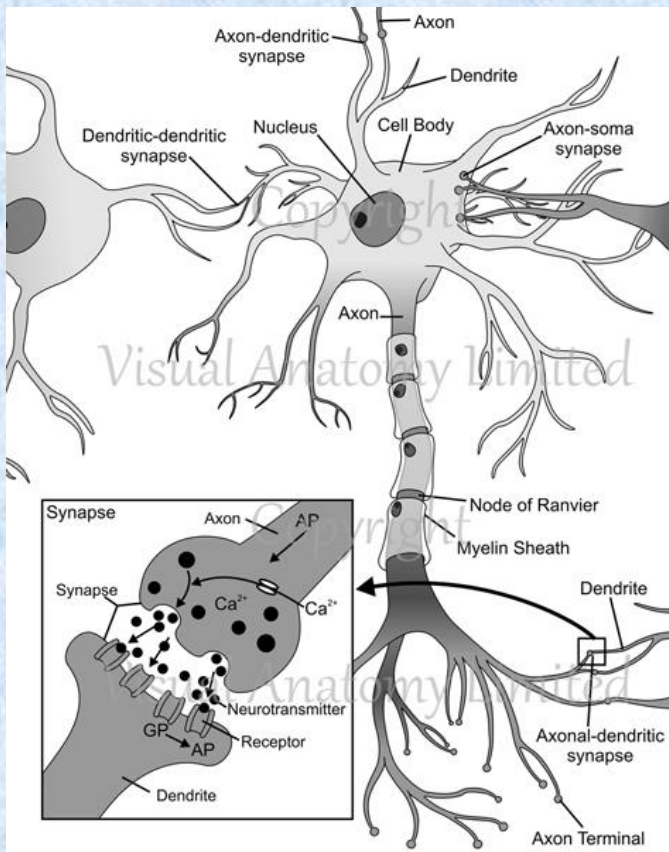
**Модификации дендритных шипиков при различных типах синдромного аутизма**



**Нарушения соотношения возбуждения и торможения при гиперактивированном mTOR**

# Синапс

**Синапс – это место электрохимической коммуникации между нейронами и необходимая субъединица для обучения и формирования памяти. Межнейронная коммуникативная связь пластична. Это означает, что сила синаптического соединения изменяется с течением времени.**

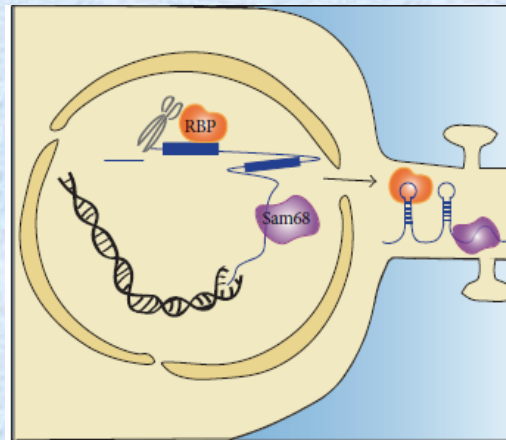
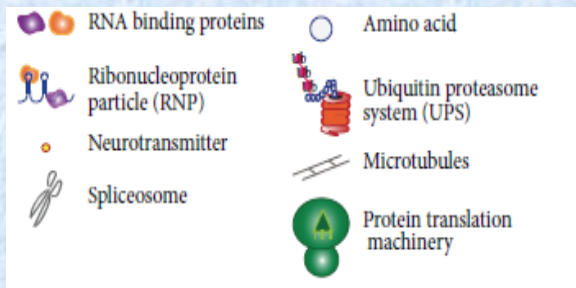


**Наиболее стойкие формы синаптической пластичности сопровождаются изменениями в биосинтезе и деградации белка, как в теле нейронов, так и локально в дендритах. Биосинтез белка или трансляция – это тщательно регулируемый процесс, центральную роль в регуляции инициации трансляции играет механистическая или типичная для млекопитающих мишень для рапамицина mTOR (mammalian or mechanistic target of rapamycin).**

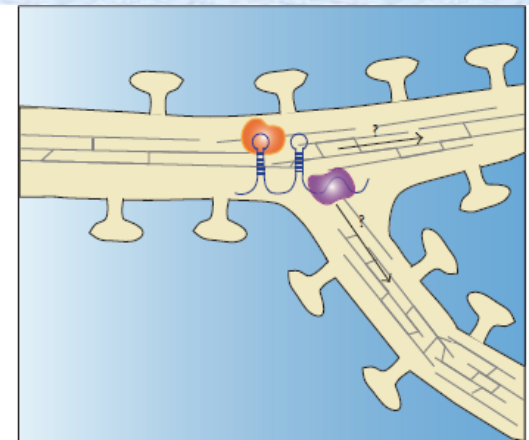
# Транспорт мРНК из ядра нейронов в синапсы или дендриты

РНК-связывающие белки присоединяются к целевым РНК в ядрах нейронов. Белки распознают специальные последовательности в мРНК, направляющие их транспорт в дендриты вдоль микротрубочек. После стимуляции синапсов, судьба мРНК решается специфическим связывающим белком (Sam68 или FMRP). мРНК транслируется и быстро деградируется протеосомами убиквитиновой системы.

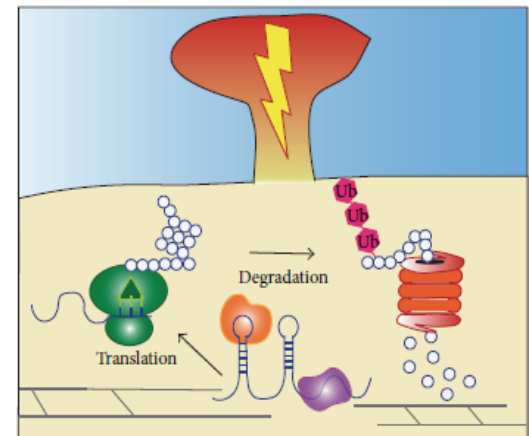
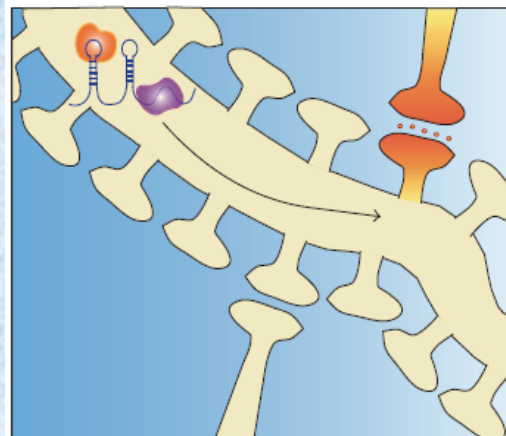
Neural Plasticity V. 2016,  
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/3857934>



(a)



(b)





# Приводящие к РАС мутации в генах, связанных с регуляцией трансляции

С нарушениями регуляции локальной трансляции в дендритах связаны следующие моногенные расстройства аутистического спектра: нейрофиброматоз 1-го типа, синдром Нунана, синдром Костелло, синдром Каудена, туберозный склероз, синдром ломкой X-хромосомы и синдром Ретта. Это далеко неполный перечень моногенных мутаций, связанных с регуляцией трансляции, которые приводят к РАС.

J. Neurochem. 2016.

<http://dx.doi.org/10.1111/jnc.13723>

| Gene    | Disorder                                    | Function                               |
|---------|---------------------------------------------|----------------------------------------|
| FMR1    | Fragile X syndrome (ID, ASD)                | Translation repressor                  |
| CYFIP1  | ASD                                         | Translation repressor                  |
| SYNGAP1 | ID, ASD                                     | Ras-MAPK negative regulator            |
| NF1     | Neurofibromatosis type 1 (ID)               | Ras-MAPK negative regulator            |
| TSC1/2  | Tuberous sclerosis complex (ID, ASD)        | Rheb-mTOR negative regulator           |
| PTEN    | Cowden syndrome (ID, ASD)                   | PI3K-mTOR negative regulator           |
| RPL10   | ID, ASD                                     | Ribosomal protein                      |
| RPS6KA2 | ASD                                         | Ribosomal p90 S6 kinase (MAPK pathway) |
| RPS6KA3 | ID, ASD                                     | Ribosomal p90 S6 kinase (MAPK pathway) |
| EIF4E   | ASD                                         | Initiation factor                      |
| EEF1A2  | ASD/ID                                      | Elongation factor                      |
| RBMS3   | ASD                                         | RNA binding protein                    |
| HRAS    | Costello syndrome (ASD)                     | Ras GTPase                             |
| BRAF    | Costello syndrome/Noonan syndrome (ID, ASD) | MAPK activator                         |

# Приводящие к РАС мутации в генах, связанных с протеосомами убиквитиновой системы

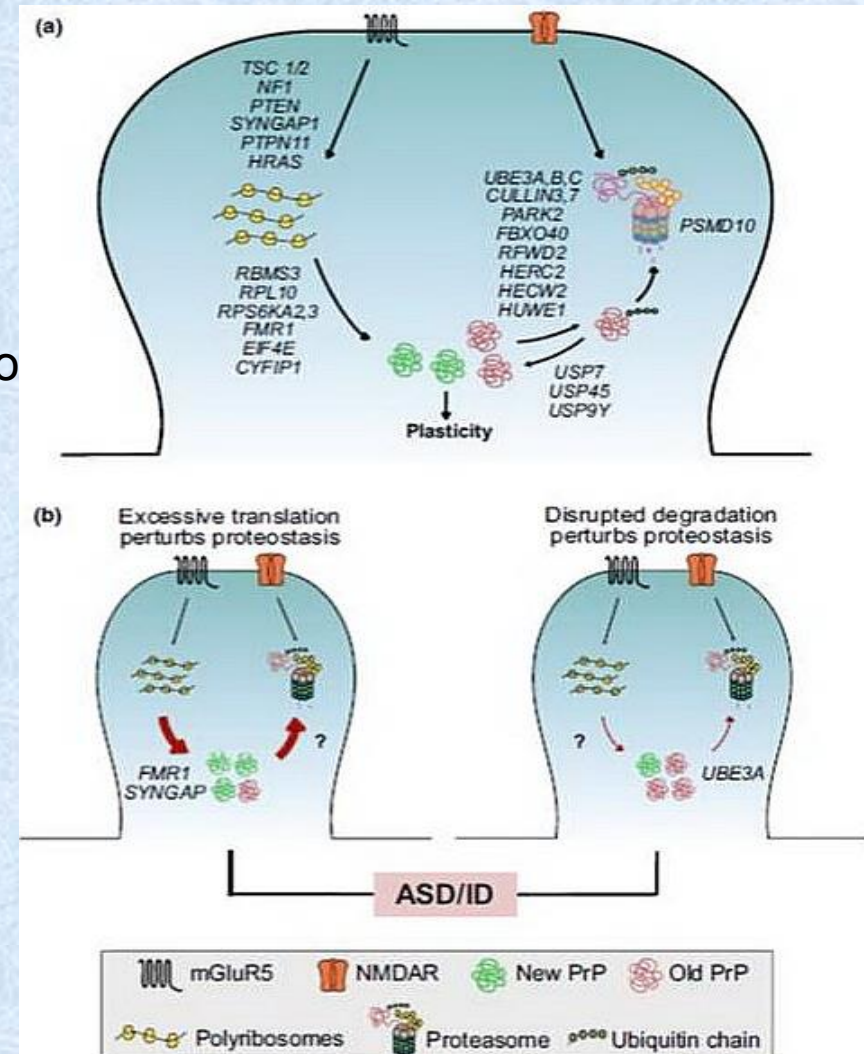
Процесс своевременной деградации белков очень важен для функционирования нейронов. Большинство белков ядра и цитоплазмы деградируется протеосомами убиквитиновой системы. Убиквитиновая система состоит из протеосомы, в которой выделяют регуляторную и каталитическую части, и трех типов убиквитин лигаз, которые метят белки, предназначенные для деградации. Самый известный синдром, связанный с мутацией в гене E3 убиквитин лигазы – это синдром Энгельмана (синдром счастливой куклы). Но мутаций в генах белков убиквитиновой системы, приводящих к РАС, гораздо больше. J. Neurochem. 2016.  
<http://dx.doi.org/10.1111/jnc.13723>

| Gene     | Disorder                         | Function                  |
|----------|----------------------------------|---------------------------|
| UBE3A    | Angelman syndrome (ID, ASD), ASD | E3 ubiquitin ligase       |
| UBE3B    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| UBE3C    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| UBR7     | ID                               | E3 ubiquitin ligase       |
| PARK2    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| FBXO40   | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| RFWD2    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| Cullin 3 | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| Cullin 7 | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| HECW2    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| HERC2    | ASD                              | E3 ubiquitin ligase       |
| HUWE1    | ID, ASD                          | E3 ubiquitin ligase       |
| UBL7     | ASD                              | Ubiquitin binding protein |
| PSMD10   | ASD                              | Proteasome protein        |
| USP9Y    | ASD                              | De-ubiquitinase           |
| USP45    | ASD                              | De-ubiquitinase           |
| USP7     | ASD                              | De-ubiquitinase           |



# Нарушения регуляции биосинтеза и деградации белков в синапсе при РАС

Для нормального развития и работы синапса необходима высокоточная регуляция как локальной трансляции, так и убиквитиновой системы деградации белков. Например, поздняя фаза долговременной потенциации (L-LTP) для своего правильного протекания требует как локального биосинтеза белка, так и убиквитиновой системы деградации. Известно, что убиквитиновая система деградации регулирует следующие важные для работы синапсов белки: PSD-95, Shank, NMDARs, AMPARs, mGluR1/5 и другие рецепторы.





# **Причины роста частоты диагностики аутизма**

- 1. Теория «трех ударов» – генетическая предрасположенность, экологические факторы, мужской пол (80% аутистов мужского пола) PNAS, 2017, [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.16193121142](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.16193121142).**
- 2. Рост частоты просто объясняется «модой» на данный диагноз и гипердиагностикой. Но в лучшем случае таким образом можно объяснить около 25% роста числа аутистов (Int J Epidemiol 2009, 38:1224–1234), в то время как на самом деле частота диагностики аутизма выросла более чем в 50 раз за последние 40 лет.**

# Экологические факторы

Экологические факторы действительно влияют на частоту диагностики аутизма, как показал Ржецкий с соавторами (Rzhetsky et al. 2014. PLoS Comput Biol 10: e1003518. doi:10.1371/journal.pcbi.1003518).

Какие факторы были предложены в качестве основных:

1. Пренатальные вирусные инфекции.
2. Дефицит цинка, витамина Д3.
3. Диабет или ожирение у матери.
4. Токсины (антиконвульсанты, нейрорептики и пестициды).
5. Возраст родителей.
6. Тяжелые металлы, особенно ртуть и свинец.

Front Psychiatry. 2013;3:118. doi: 10.3389/fpsy.2012.00118

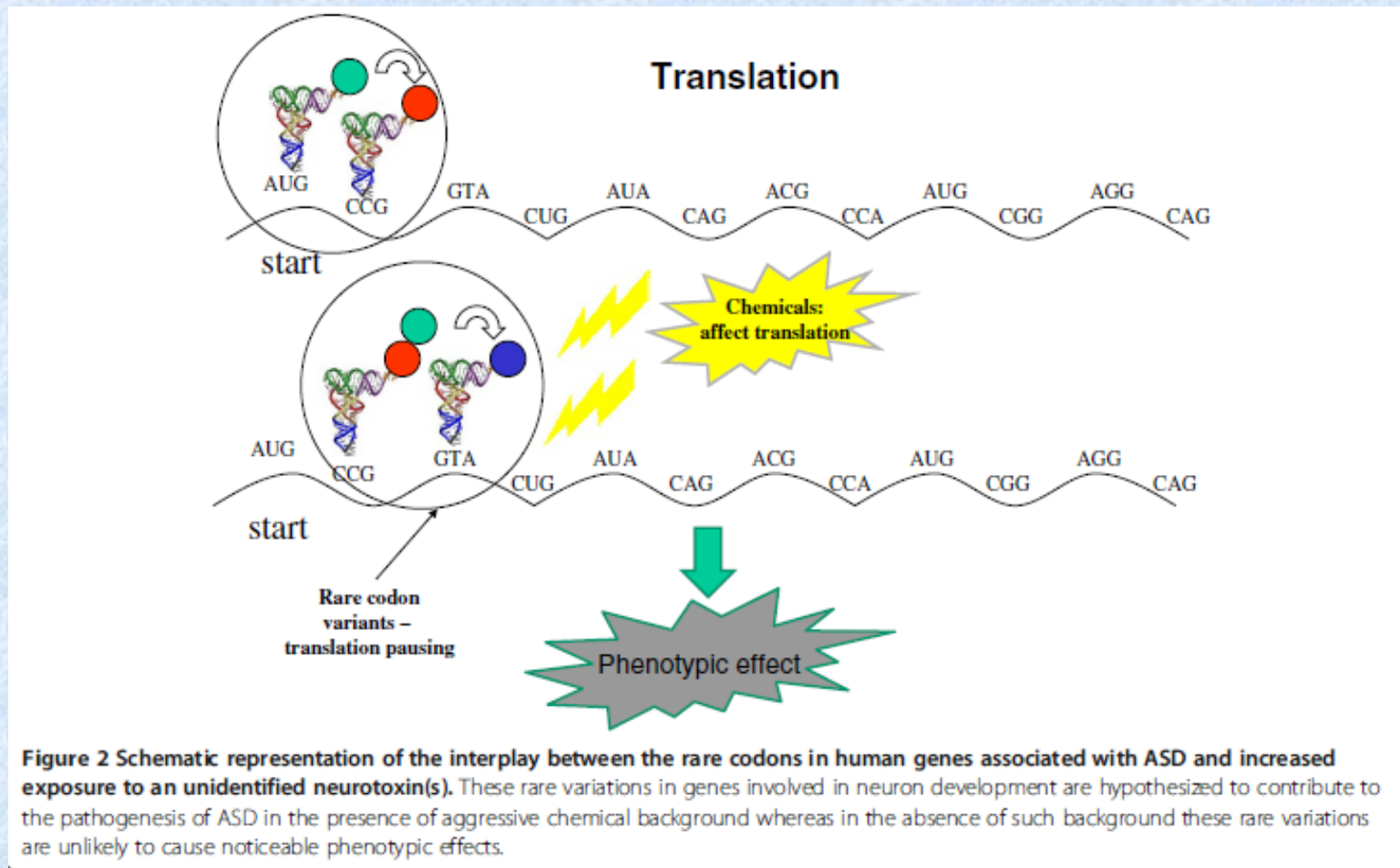
# **А может быть это эволюция?**

**На основе анализа полноэкзомных секвенирований были изучены характеристики 651 гена предрасположенности к аутизму. Авторы установили, что эти гены на 65% длиннее и на 20% менее вариабельны, чем не-РАС гены. Эти данные привели авторов к заключению о негативной селекции и исключительно «вредоносном» влиянии изученных РАС-генов. Behav Genet. 2016. doi: 10.1007/s10519-016-9804-4**

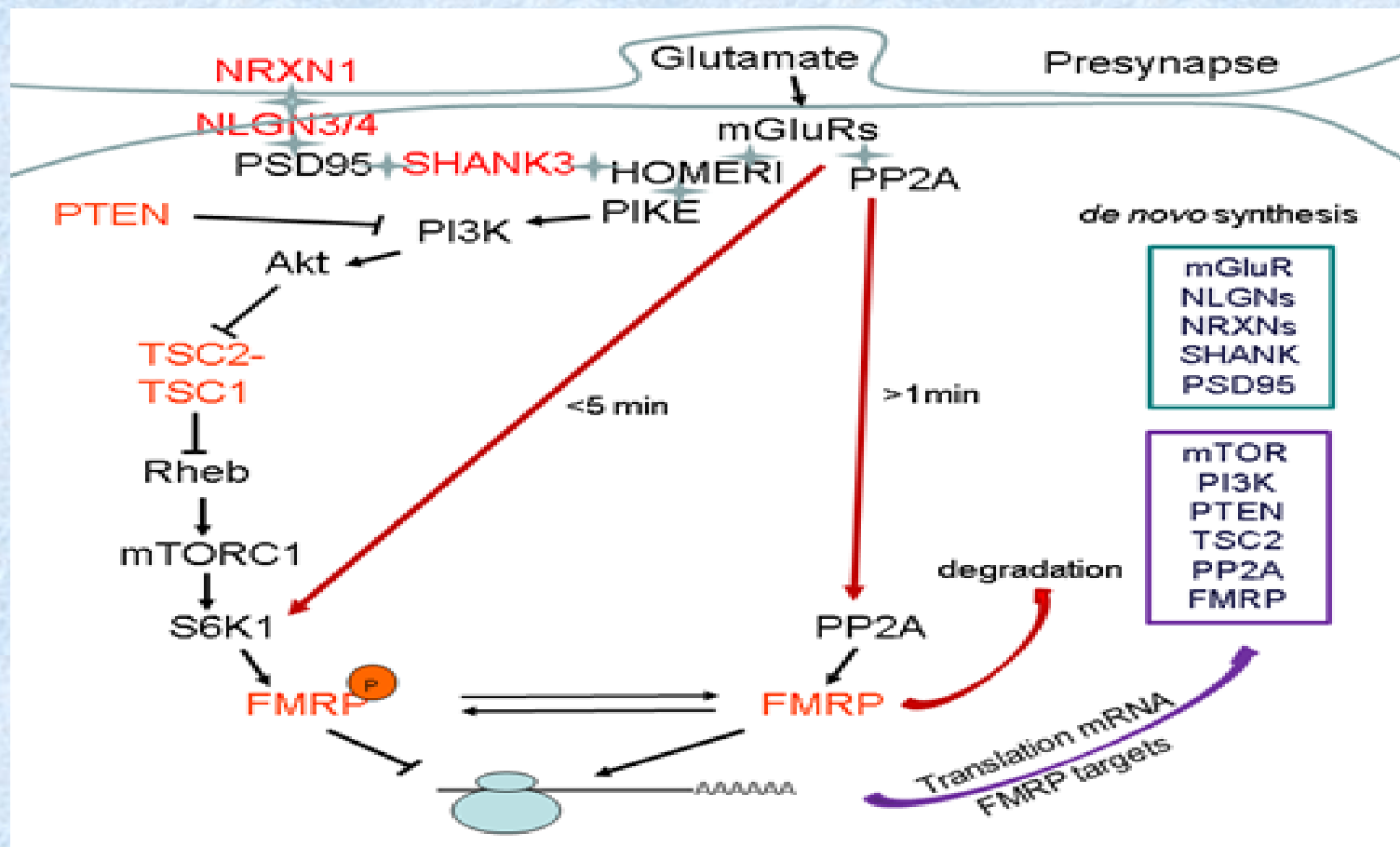
**Был проведен анализ статистики Psychiatric Genomics Consortium для нескольких заболеваний с целью исследования двух возможных сценариев эволюции: селекция полностью закончена и частота аллелей фиксирована, и селекция не закончена. Для РАС-генов с большой вероятностью предсказана неоконченная селекция в отличие от шизофрении. Кроме этого, неожиданностью для авторов стала ассоциация большинства из РАС-генов с повышенными когнитивными способностями, что, возможно, объясняет такую высокую частоту этих аллелей в популяции. Авторы предполагают, что в отношении РАС-генов реализуется два эволюционных сценария: 1. «вредоносные» гены элиминируются; 2. повышающие когнитивные способности гены фиксируются. PLoS Genet. 2017. 13: e1006618. doi:10.1371/journal.pgen.1006618**



# Нарушение трансляции в нейронах из-за использования редких кодонов в РАС-генах

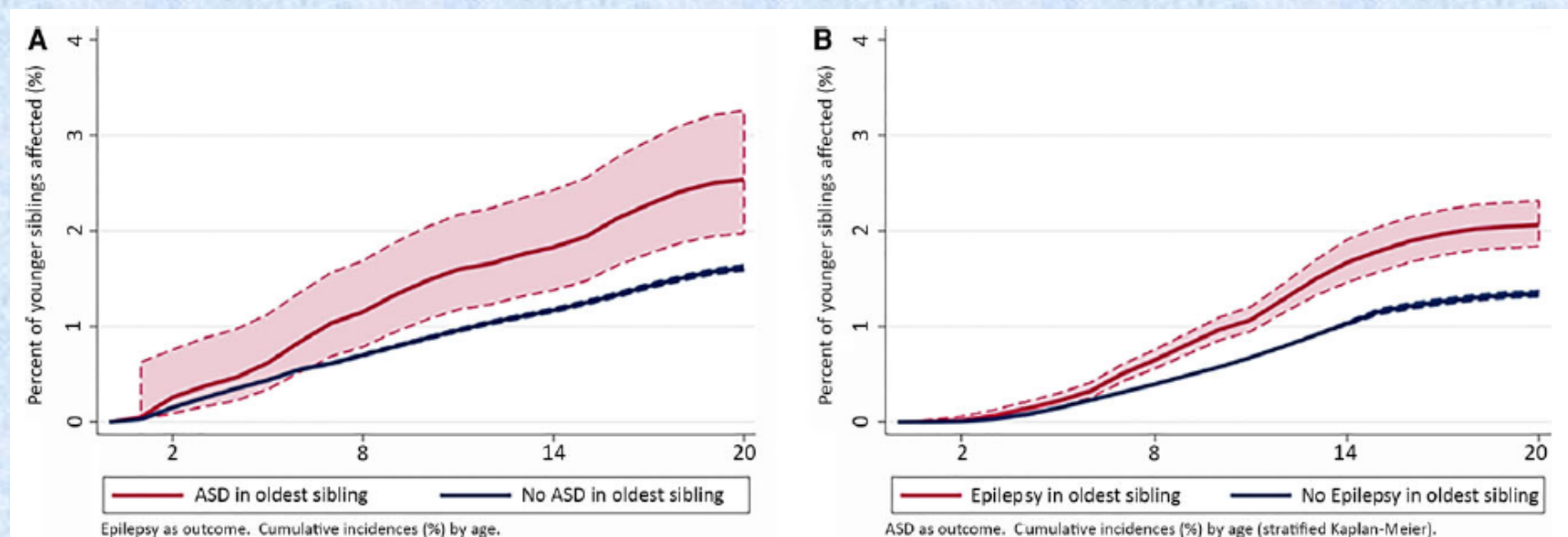


# Динамика FMRP-зависимой трансляции в ответ на стимуляцию mGluR рецепторов в глутаматергическом синапсе



Красным отмечены белки, мутации в генах которых ассоциируются с РАС. В бирюзовой рамке список структурных белков синапса, а в сиреневой – белков, компонентов mTOR сигнального пути, мРНК которых являются мишенью FMRP.

# Аутизм и эпилепсия: коморбидность или общий механизм?



**Figure 1.**

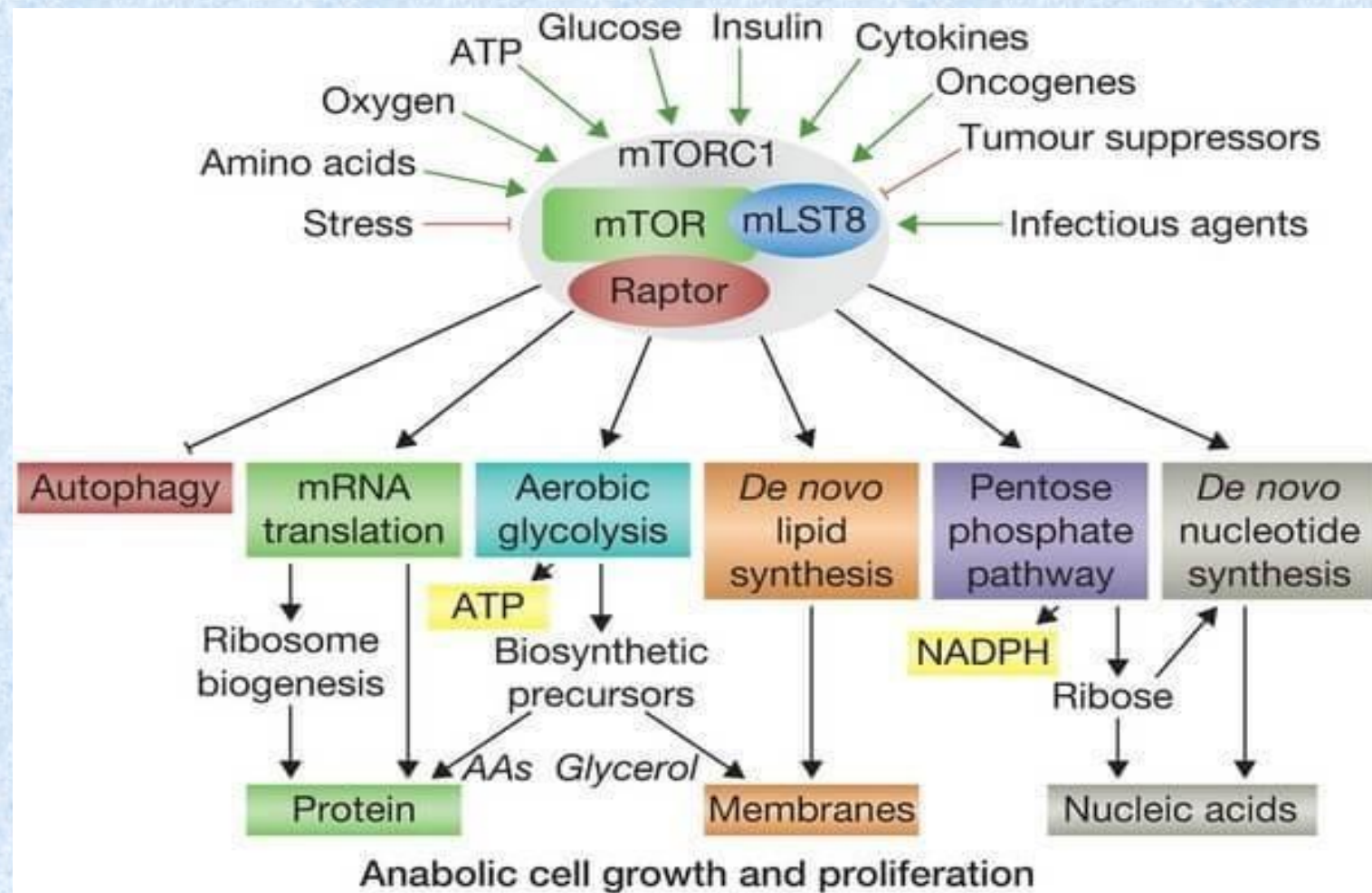
**(A)** Cumulative incidence of epilepsy in younger siblings of older siblings with ASD (Kaplan-Meier method). **(B)** Cumulative incidence of ASD in younger siblings of older siblings with epilepsy (stratified Kaplan-Meier method).

*Epilepsia* © ILAE

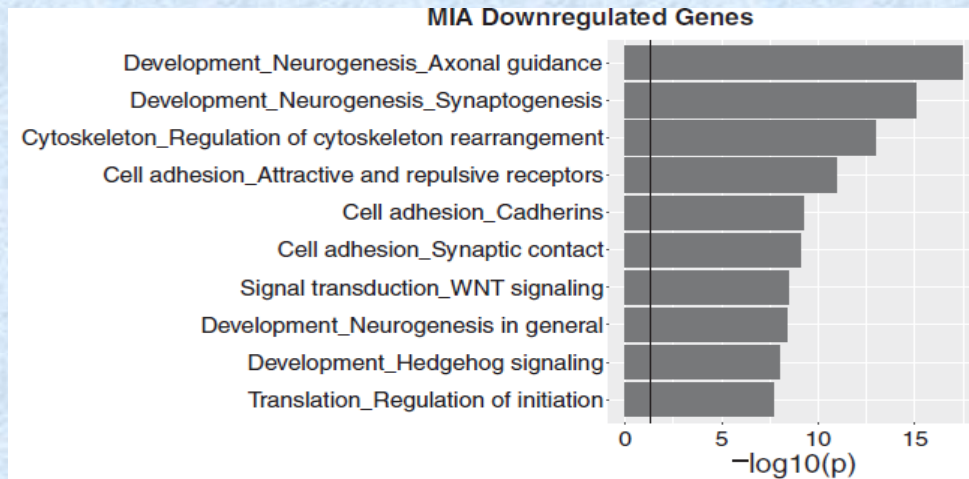
**Epilepsia, 57, 2016. doi: 10.1111/epi.13595**



# Активировать сигнальный путь mTOR могут не только мутации



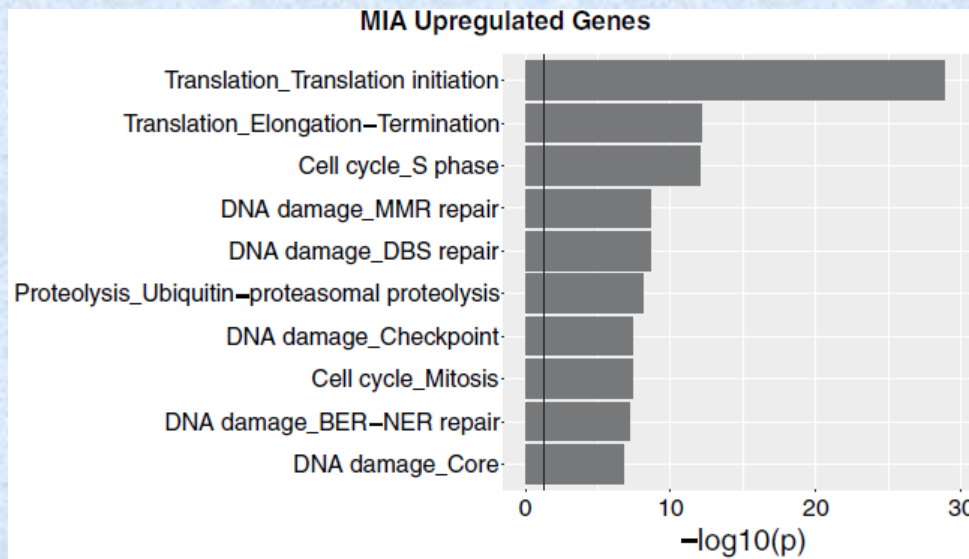
# Синдром материнской иммунной активации как причина роста аутизма



**MIA на 12% повышает вероятность  
диагностики аутизма.**

**Brain Behav Immun. 2016.**

**doi: 10.1016/j.bbi.2016.06.005**



**Molecular Psychiatry. 2017.**

**doi:10.1038/mp.2017.15**

# Корреляция роста количества вакцинаций и частоты диагностики аутизма

## VACCINES DOSES for U.S. CHILDREN

| 1962                                          | 1983                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TOTAL DOSES: 5                                | TOTAL DOSES: 24                                                                                                                                                                                                                                                                 | TOTAL DOSES: 72                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Polio</b><br><b>Smallpox</b><br><b>DTP</b> | <b>DTP</b> (2 months)<br><b>OPV</b> (2 months)<br><b>DTP</b> (4 months)<br><b>OPV</b> (4 months)<br><b>DTP</b> (6 months)<br><b>MMR</b> (15 months)<br><b>DTP</b> (18 months)<br><b>OPV</b> (18 months)<br><b>DTP</b> (4 years)<br><b>OPV</b> (4 years)<br><b>Td</b> (15 years) | <b>Influenza</b> (pregnancy)<br><b>DTaP</b> (pregnancy)<br><b>Hep B</b> (birth)<br><b>Hep B</b> (2 months)<br><b>Rotavirus</b> (2 months)<br><b>DTaP</b> (2 months)<br><b>HIB</b> (2 months)<br><b>PCV</b> (2 months)<br><b>IPV</b> (2 months)<br><b>Rotavirus</b> (4 months)<br><b>DTaP</b> (4 months)<br><b>HIB</b> (4 months)<br><b>PCV</b> (4 months)<br><b>IPV</b> (4 months)<br><b>Hep B</b> (6 months)<br><b>Rotavirus</b> (6 months)<br><b>DTaP</b> (6 months)<br><b>HIB</b> (6 months)<br><b>PCV</b> (6 months)<br><b>IPV</b> (6 months)<br><b>Influenza</b> (6 months)<br><b>Influenza</b> (7 months)<br><b>HIB</b> (12 months)<br><b>PCV</b> (12 months)<br><b>MMR</b> (12 months)<br><b>Varicella</b> (12 months)<br><b>Hep A</b> (12 months)<br><b>DTaP</b> (18 months) | <b>Influenza</b> (18 months)<br><b>Hep A</b> (18 months)<br><b>Influenza</b> (30 months)<br><b>Influenza</b> (42 months)<br><b>DTaP</b> (4 years)<br><b>IPV</b> (4 years)<br><b>MMR</b> (4 years)<br><b>Varicella</b> (4 years)<br><b>Influenza</b> (5 years)<br><b>Influenza</b> (6 years)<br><b>Influenza</b> (7 years)<br><b>Influenza</b> (8 years)<br><b>Influenza</b> (9 years)<br><b>HPV</b> (9 years)<br><b>Influenza</b> (10 years)<br><b>HPV</b> (10 years)<br><b>Influenza</b> (11 years)<br><b>HPV</b> (11 years)<br><b>DTaP</b> (12 years)<br><b>Influenza</b> (12 years)<br><b>Meningococcal</b> (12 years)<br><b>Influenza</b> (13 years)<br><b>Influenza</b> (14 years)<br><b>Influenza</b> (15 years)<br><b>Influenza</b> (16 years)<br><b>Meningococcal</b> (16 years)<br><b>Influenza</b> (17 years)<br><b>Influenza</b> (18 years) |

*\*In 1986, Pharmaceutical manufacturers producing vaccines were freed from ALL liability resulting from vaccine injury or death by the Childhood Vaccine Injury Act.*

*With this, vaccines became HIGHLY profitable. There are 271 vaccines in development and mandatory vaccine laws for children — and ADULTS — being pushed in most states.*

The US gives 2-3x more vaccines to children than most developed countries, yet we have some of the highest rates of childhood issues that are NOT seen in other countries. Things like asthma, childhood diabetes, food allergies, childhood leukemia, developmental delays, tics, ADHD, autism, lupus, arthritis, eczema, epilepsy, Alzheimers, brain damage, etc... **IT's NOT a coincidence.**

Vaccines contain toxic chemicals that do NOT belong in our bodies, such as aluminum (known to cause brain and developmental damage even in small doses) and formaldehyde (known to cause cancer in humans).

**LEARN  
THE  
RISK**.org



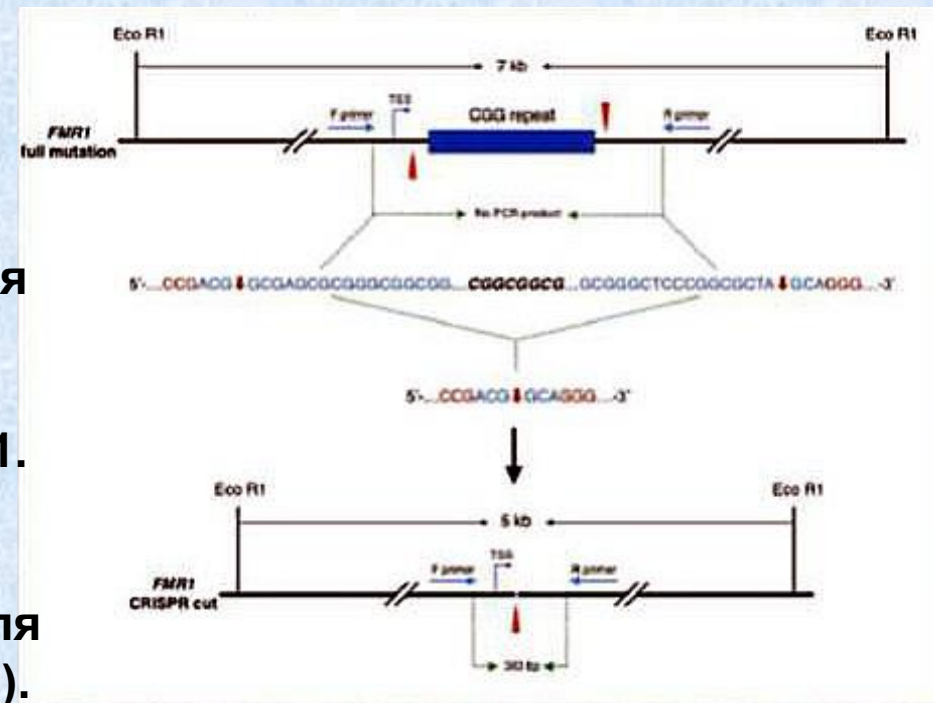
# Ингибировать сигнальный путь mTOR тоже можно

- Protein restriction
- Calorie restriction
- Ketogenic Diets
- Cortisol/Glucocorticoids
- Metformin by enhancing PRAS40's association with RAPTOR
- NAC profoundly reduced mTOR activity in T cells
- Resveratrol – increased the association between mTOR and its inhibitor, DEPTOR.
- Aspirin – colorectal cancer cells
- Cod liver/ Omega-3
- Extra Virgin Olive Oil
- EGCG/Tea – ATP-competitive inhibitor of both PI3K and mTOR
- Curcumin - unique mechanism – separates raptor from mTOR
- R-Lipoic Acid – also decreased p70S6 kinase
- Caffeine
- Apigenin (AMPK+, Akt-)
- Quercetin ( PI3K/Akt-, AMPK+, Hamartin+)

# Реактивация биосинтеза белка FMR1 после удаления расширенной области повтора CGG с помощью системы редактирования генома CRISPR / Cas9 при синдроме ломкой X-хромосомой

Авторы предположили, что иссечение расширенной области CGG-повтора при полной мутации в нетранслируемой области гена FMR1 приведет к постоянной реактивации транскрипции и трансляции этого гена.

Была использована соматическая гибридная клеточная линия (Y75), которая содержала одну человеческую X-хромосому (ломкий вариант) в СНО линии клеток грызунов. После удаления CGG-повтора около половины колоний этой клеточной линии восстановили транскрипцию и трансляцию гена FMR1. Такой же эксперимент был проделан с индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками человека, но доля реактивации гена был ниже (около 20%).



**Выражаю свою благодарность коллегам,  
которые принимали участие в работе**

**В.А. Лихошваю,  
Т.М. Хлебодаровой  
В.В. Когаю  
Н.Е. Грунтенко**



# Спасибо за внимание

