



Полулях О.Е.¹, Марчук С.А.², Митюкова Т.А.¹✉, Доукина Т.В.²

¹ Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр психического здоровья,
Минск, Беларусь

Оценка уровней микроРНК miR181, miR195 и miR132 в плазме крови детей с нарушениями психоречевого развития

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Полулях О.Е. – обзор литературы, выполнение лабораторных исследований; Марчук С.А. – клиничко-психологическая диагностика пациентов, формирование групп исследуемых; Митюкова Т.А. – обработка результатов, редактирование; Доукина Т.В. – концепция и дизайн исследования.

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект M20-058).

Подана: 28.02.2022

Принята: 06.06.2022

Контакты: mityukovat@gmail.com

Резюме

Введение. В основе развития психоречевых расстройств у детей могут лежать механизмы, связанные с нарушением нейрогенеза, синаптической передачи, синтеза нейротрофинов, дисфункцией нейромедиаторов. Специфические белки, задействованные в этих процессах, экспрессируются под влиянием факторов внешней среды посредством эпигенетических механизмов, в том числе микроРНК. Участие miR181b, miR195, miR132 в формировании аутизма подтверждается рядом исследований. Однако сведения относительно направленности изменений уровней их экспрессии при аутизме носят противоречивый характер, в них не учитывается половой состав групп; к тому же проводилось сравнительное исследование экспрессии этих микроРНК у детей с аутизмом и другими когнитивно-поведенческими нарушениями.

Цель. Оценить особенности экспрессии микроРНК по результатам определения в плазме крови miR181b, miR195 и miR132 у детей с аутизмом и с вызванными органическим поражением головного мозга нарушениями психоречевого развития.

Материалы и методы. Проведена клиничко-психологическая диагностика нарушений психоречевого развития у детей с аутизмом (30 человек), нарушениями психоречевого развития вследствие органического поражения мозга (20 пациентов) и 20 практически здоровых детей. Возраст обследованных составил 3–12 лет. Диагностика аутизма осуществлялась согласно критериям МКБ-10. Использовалась также детская рейтинговая шкала оценки аутизма CARS. Определение уровней относительной экспрессии микроРНК miR181b, miR195, miR132 в плазме крови осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. У детей с органическим поражением мозга выявлен достоверно более низкий уровень экспрессии miR195 по сравнению с таковым в группе контроля и группе детей с аутизмом. Зарегистрировано проявление полового диморфизма,

характеризующееся тем, что у здоровых девочек и девочек с нарушениями психоречевого развития в результате органического поражения мозга экспрессия микроРНК miR181b достоверно выше, чем у мальчиков. Группа девочек с аутизмом отличалась достоверным снижением этого показателя в плазме крови по сравнению с их здоровыми сверстницами и девочками с психоречевыми нарушениями в результате органического поражения мозга.

Выводы. В развитии психоречевых нарушений при органическом поражении мозга и аутизме лежат разные эпигенетические механизмы. Различия в экспрессии miR181 у мальчиков и девочек свидетельствуют о том, что процессы эпигенетической регуляции в мозге могут иметь свои особенности в зависимости от пола.

Ключевые слова: аутизм, нарушения психоречевого развития, органическое поражение головного мозга, микроРНК

Poluliakh O.¹, Marchuk S.², Mityukova T.¹✉, Dakukina T.²

¹ Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Mental Health, Minsk, Belarus

Assessment of MicroRNA miR181, miR195, and miR132 Levels in Plasma of Children with Psycho-Speech Developmental Disorders

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Poluliakh O. – literature review, performance of laboratory tests; Marchuk S. – clinical and psychological diagnostics of patients, formation of study groups; Mityukova T. – processing of results, editing; Dakukina T. – concept and design of the research.

Funding: this work was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project M20-058).

Submitted: 28.02.2022

Accepted: 06.06.2022

Contacts: mityukovat@gmail.com

Abstract

Introduction. Mechanisms associated with impaired neurogenesis, synaptic transmission, neurotrophin synthesis, and neurotransmitter dysfunction may underlie the development of psycho-speech disorders in children. Specific proteins involved in these processes are expressed under the influence of environmental factors through epigenetic mechanisms, including microRNAs. The involvement of miR181b, miR195, and miR132 in autism formation has been confirmed by a number of studies. However, data regarding the direction of changes in their expression levels in autism are inconsistent, they do not take into account the sex composition of the groups, and there has been no comparative study of the expression of these microRNAs in children with autism and other cognitive-behavioral disorders.

Purpose. To evaluate microRNA expression patterns by miR181b, miR195 and miR132 determination in plasma in children with autism and organic brain damage-induced impairment of psycho-speech development.

Materials and methods. The clinical and psychological diagnostics of psycho-speech development disorders in children with autism (30 people), disorders due to organic brain damage (20 patients) and 20 virtually healthy children was carried out. The age of the examined children was 3–12 years old. Autism was diagnosed according to the ICD-10 criteria. The Children's Autism Rating Scale (CARS) was also used. The relative expression levels of miR181b, miR195, miR132 in blood plasma were determined by real-time PCR.

Results. A significantly lower level of miR195 expression was detected in children with organic brain damage compared to the control group and the group of children with autism. The manifestation of sexual dimorphism was recorded, characterized by the fact that in healthy girls and girls with disorders of psycho-speech development as a result of organic brain damage, the level of miR181b expression was significantly higher than in boys. The group of girls with autism was characterized by a significant decrease in plasma miR181 concentrations compared to their healthy peers and girls with psycho-speech disorders as a result of organic brain damage.

Conclusions. Different epigenetic mechanisms lie in the development of psycho-speech disorders in organic brain damage and autism. The differences in miR181 expression in boys and girls indicate that epigenetic regulation processes in the brain may have distinctive features depending on gender.

Keywords: autism, disorders of psycho-speech development, organic brain damage, microRNA

■ ВВЕДЕНИЕ

В последние годы во всем мире наблюдается тенденция к росту числа детей с отклонениями психоречевого развития. По данным разных авторов, такие особенности встречаются у 1–3% детского населения, при этом наличие трудностей в обучении присутствует у 5–14% школьников, а в крупных городах эта цифра приближается к 30% [1, 2]. Одним из наиболее сложных нарушений психического развития является аутизм – расстройство, возникающее вследствие отклонений в развитии нервной системы и характеризующееся трудностями в общении, социальном взаимодействии, а также ограниченными, стереотипными моделями поведения (F84 по МКБ-10). Этиология данного заболевания на сегодняшний день до конца не выяснена. Установлено, что генетические факторы вносят свой вклад в развитие аутизма, однако генетические нарушения обнаруживаются лишь у 20–30% пациентов [3]. По-видимому, решающую роль в патогенезе этого заболевания играет сочетанное влияние наследственности и факторов внешней среды, сказывающееся на организме ребенка в периоде формирования его нервной системы. К последним относят как факторы, оказывающие влияние на плод в период внутриутробного развития (инфекции, аутоиммунные заболевания, метаболические нарушения у матери в период беременности), так и неблагоприятные воздействия, которым подвергался ребенок в ранний постнатальный период (гипоксия, инфекционные заболевания и др.). Показано, что для аутизма характерен половой диморфизм. У мальчиков он диагностируется в 4–5 раз чаще, чем у девочек [4].

Следует отметить, что нарушения в психоречевом развитии у детей могут наблюдаться и при ряде других нозологий, не связанных с аутизмом, в том числе при органическом поражении мозга. Органические поражения головного мозга представляют

собой достаточно обширную группу нервно-психических расстройств, которые проявляются дистрофическими изменениями нервной ткани и нарушением функционирования нейронов в результате гибели нервных клеток [5]. Среди причин данной патологии у детей выделяют повреждения головного мозга во время беременности и родов, черепно-мозговые травмы, инфекционные заболевания, интоксикации и т. д. Как и аутизм, данная группа расстройств более характерна для мальчиков, что связывают с их большей уязвимостью к экзогенным воздействиям в пренатальный период [6]. Поведенческие и эмоциональные расстройства встречаются чаще у мальчиков, чем у девочек: у них чаще нарушено воспроизведение отдельных звуков на фоне сохраненного интеллекта и речевого аппарата [7].

Таким образом, в развитии схожих симптомов при аутизме и органическом поражении мозга могут быть задействованы разные механизмы, причем они могут иметь свои особенности в зависимости от половой принадлежности. К настоящему времени известно, что при аутизме и других нарушениях психоречевого развития у детей в мозге нарушаются процессы нейрогенеза, синаптической передачи, синтеза нейротрофинов, наблюдается дисбаланс возбуждательных и тормозных реакций в результате дисфункции нейромедиаторов [8]. Специфические белки, задействованные в этих процессах, экспрессируются под влиянием факторов внешней среды посредством эпигенетических механизмов, среди которых важная роль отводится микроРНК.

МикроРНК представляют собой класс коротких некодирующих молекул РНК, осуществляющих регуляцию экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Комплементарно спариваясь с участками митохондриальной РНК (мРНК), они ингибируют трансляцию или вызывают деградацию мРНК, тем самым подавляя функциональную активность генов. В современных исследованиях показана важная роль микроРНК в развитии нервной системы, функционировании синапсов, обеспечении синаптической пластичности, синтезе нейротрансмиттеров [9].

Изменение профилей экспрессии микроРНК было выявлено при целом ряде психических расстройств: шизофрении, биполярном расстройстве, депрессии, закончившейся суицидом, и т. д. [10]. Анализ данных литературы позволил выявить несколько микроРНК, участие которых в формировании аутизма подтверждается целым рядом исследований, к ним относятся miR181b, miR195, miR132. Однако сведения относительно направленности изменений уровней их экспрессии при аутизме носят противоречивый характер [11–15]. Кроме того, как правило, в них не находят отражения половой состав групп, а также результаты сравнительного исследования экспрессии этих микроРНК у детей с аутизмом и другими когнитивно-поведенческими нарушениями.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить особенности экспрессии микроРНК по результатам определения в плазме крови miR181b, miR195 и miR132 у детей с аутизмом и с вызванными органическим поражением головного мозга нарушениями психоречевого развития.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены дети, постоянно проживающие на территории Республики Беларусь. По результатам комплексного клинико-психологического обследования сформированы три группы: 1) группа с диагнозом «аутизм» (F84 согласно

МКБ-10) – 30 детей в возрасте 3–12 лет (22 мальчика и 8 девочек); 2) группа «Органическое поражение мозга» (группа сравнения) – 20 детей (15 мальчиков и 5 девочек) аналогичного возраста; 3) группа контроля – здоровые дети, не имеющие нарушений психического и физического развития, – 20 человек аналогичного возраста (11 мальчиков и 9 девочек). В группу сравнения были включены дети, имевшие нарушения психоречевого развития вследствие органического поражения ЦНС, со следующими диагнозами согласно МКБ-10: расстройства психологического развития (F80–F89), нарушения активности и внимания (F90–F99), другие психические расстройства, обусловленные повреждением и дисфункцией головного мозга или соматической болезнью (F06). Критерием исключения для пациентов из группы «Аутизм» являлось наличие в анамнезе сопутствующей неврологической патологии (органического поражения головного мозга). Проводилась клиническая и нейропсихологическая диагностика, собирались анамнестические сведения: изучалась история развития ребенка, специфика психического и речевого развития. Для оценки клинических особенностей и степени выраженности тех или иных психоречевых нарушений использовалась переведенная и адаптированная Морозовой Т.Ю. и Довбня С.В. (2011) рейтинговая шкала аутизма у детей CARS (The Childhood Autism Rating Scale).

Забор крови у пациентов осуществлялся в утреннее время натощак. Уровни экспрессии микроРНК в плазме крови определялись методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Тотальную фракцию РНК выделяли из плазмы крови с использованием коммерческих наборов NucleoSpin miRNA Plasma (Macherey-Nagel, Германия) согласно протоколу. Концентрацию выделенной РНК измеряли на флуориметре Quantus fluoremeter, Promega (США), с последующим доведением ее до значения 1,5 мг/л разбавлением исходного раствора соответствующим объемом дистиллированной воды. Для получения комплементарной ДНК на основе выделенной РНК с целью дальнейшего проведения ПЦР осуществлялась обратная транскрипция с использованием набора TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, США) и праймеров RT PCR TaqMan, специфичных к определяемым микроРНК. Для амплификации использовали реакцию смесь TaqMan Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems, США) и праймеры TaqMan MicroRNA Assays. Все реакции ПЦР в режиме реального времени проводили на амплификаторе Real-Time CFX96 (Bio-Rad, США) согласно протоколу. По окончании амплификации анализировались кривые накопления. Эффективность реакции считалась удовлетворительной, если она составляла $100 \pm 10\%$. Уровни экспрессии микроРНК miR181b, miR195 и miR132 оценивались относительно экспрессии miR191 в данном образце по стандартной формуле $RE = 2^{-\Delta Ct}$, где RE – уровень относительной экспрессии микроРНК, ΔCt – разница циклов, на которых пересекают пороговую линию кривые накопления miR191 данного образца и анализируемой микроРНК.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 7.0. Нормальность распределения определялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Поскольку распределение носило ненормальный характер, использовались непараметрические методы статистики. Результаты выражали в виде медиан и процентилей (Me [25; 75]). Сравнение между группами проводили с использованием коэффициента Манна – Уитни. Достоверным считали уровень значимости $p \leq 0,05$. ROC-анализ выполнялся с использованием программы MedCalc (MedCalc Software, Бельгия).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

При использовании шкалы CARS было выявлено достоверно более выраженное проявление симптомов у детей с аутизмом по сравнению с детьми, имеющими органическое поражение мозга: 33,0 [32,0; 36,0] балла и 19 [17,5; 25,0] баллов соответственно. В группе «Аутизм» у 73,3% пациентов отмечалось легкое и средней степени тяжести течение аутистического расстройства (от 30 до 35 баллов), а у 26,7% были обнаружены явно выраженные нарушения, соответствующие тяжелой степени заболевания (от 36 до 60 баллов). У всех детей с диагнозом «аутизм» отмечались существенные нарушения в социальном взаимодействии и коммуникации; наблюдались ограниченные, повторяющиеся или стереотипные модели поведения.

У пациентов с органическим поражением центральной нервной системы в 50% случаев наблюдались нарушения вербальной и невербальной коммуникации, а именно невозможность выразить свои эмоции и пожелания, нарушенный социальный контакт с окружающими. У 65% детей были выявлены отклонения речевого развития: нарушены звукопроизношение, звукоподражание, отсутствует фразовая речь, низкий словарный запас. У 15% пациентов отмечались проявления тревоги, страхов, признаки повышенной эмоциональной чувствительности и возбудимости. Двое детей (10%) имели особенности поведения и признаки гиперактивности. Таким образом, клиническая картина у детей с органическим поражением мозга была сопоставима с таковой у пациентов с аутизмом, однако нарушения вербальной и невербальной коммуникации были выражены в меньшей степени.

При исследовании уровней экспрессии микроРНК miR181b, miR195 и miR132 в плазме крови детей трех групп были получены результаты, представленные в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в группе детей с органическим поражением мозга выявлен достоверно более низкий уровень экспрессии miR195 по сравнению с группой контроля и группой детей с аутизмом. С целью определения диагностической эффективности оценки экспрессии miR195 при органическом поражении мозга у детей был выполнен ROC-анализ с определением площади ROC-кривой и оценкой диагностической чувствительности и специфичности. Проведение ROC-анализа было направлено на поиск порогового значения уровня экспрессии miR195, позволяющего отнести исследуемого ребенка к группе детей с органическим поражением мозга или к группе здоровых детей. Согласно полученным результатам дифференциально-диагностическим критерием явился уровень относительной экспрессии miR195 в крови

Таблица 1
Уровни экспрессии микроРНК miR181, miR195 и miR132 в плазме крови детей исследуемых групп
Table 1
Expression levels of microRNA miR181, miR195 and miR132 in the blood plasma of children in the study groups

МикроРНК	Контроль	Органическое поражение мозга	Аутизм
miR181	0,09 [0,04; 0,17]	0,08 [0,04; 0,15]	0,08 [0,05; 0,13]
miR195	10,13 [6,30; 12,50]	4,11 [3,00; 5,41]*, Δ	7,84 [3,62; 13,50]
miR132	0,04 [0,03; 0,07]	0,05 [0,03; 0,07]	0,04 [0,03; 0,06]

Примечания: данные представлены в виде Ме [25%; 75%]; * достоверные отличия от группы «Аутизм», $p < 0,05$; Δ достоверные отличия от группы «Контроль», $p < 0,05$.

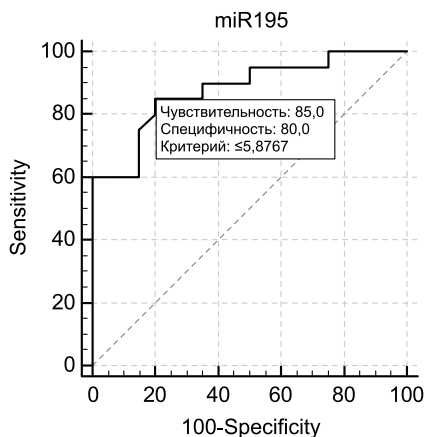


Рис. 1. ROC-кривая результатов оценки экспрессии miR195 (AUC=0,88)
Fig. 1. ROC-curve of miR195 expression assessment results (AUC=0.88)

5,88 и менее (чувствительность – 85%, специфичность – 80%). ROC-кривая результатов оценки экспрессии miR195 представлена на рис. 1.

Площадь под ROC-кривой, равная 0,88, свидетельствует о достаточно хорошем качестве модели.

Известно, что концентрация микроРНК в крови может зависеть от ряда физиологических факторов, в том числе от пола [16]. В связи с этим было проведено сравнительное изучение уровней экспрессии miR181b, miR195 и miR132 у мальчиков и девочек из исследуемых групп. Результаты представлены в табл. 2.

Согласно полученным данным, у здоровых девочек и девочек с нарушениями психоречевого развития в результате органического поражения мозга уровень

Таблица 2
Уровни экспрессии микроРНК miR181, miR195 и miR132 в плазме крови детей исследуемых групп в зависимости от пола

Table 2
Expression levels of microRNA miR181, miR195 and miR132 in the blood plasma of children of the studied groups depending on gender

МикроРНК	Контроль	Органическое поражение мозга	Аутизм
Девочки			
miR181	0,14 [0,10; 0,18] [§]	0,22 [0,13; 0,30] [#]	0,07 [0,04; 0,09] ^{Δ, *}
miR195	11,24 [6,36; 12,08]	4,11 [3,92; 4,61] ^Δ	7,96 [3,73; 12,17]
miR132	0,05 [0,04; 0,07]	0,06 [0,05; 0,07]	0,04 [0,03; 0,07]
Мальчики			
miR181	0,05 [0,03; 0,12]	0,07 [0,03; 0,11]	0,10 [0,07; 0,13]
miR195	8,60 [6,23; 12,91]	4,00 [2,46; 5,67] ^{Δ, *}	7,78 [3,62; 13,50]
miR132	0,04 [0,02; 0,06]	0,04 [0,02; 0,06]	0,05 [0,03; 0,06]

Примечания: данные представлены в виде Ме [25%; 75%]; * достоверные отличия от группы «Аутизм», $p < 0,05$; ^Δ достоверные отличия от группы «Контроль», $p < 0,05$; * достоверные отличия от группы «Органическое поражение мозга», $p < 0,05$; [§] достоверные отличия по сравнению с мальчиками из группы «Контроль», $p < 0,05$; [#] достоверные отличия по сравнению с мальчиками из группы «Органическое поражение мозга», $p < 0,05$.

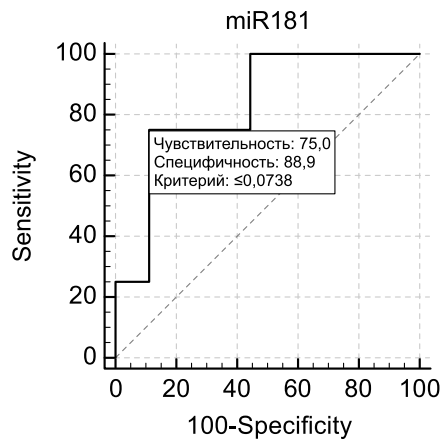


Рис. 2. ROC-кривая результатов оценки экспрессии miR181 у девочек (AUC=0,83)
Fig. 2. ROC-curve of miR181 expression assessment results in girls (AUC=0.83)

экспрессии микроРНК miR181b был достоверно выше, чем у мальчиков ($p < 0,05$). При этом у детей с аутизмом экспрессия miR181b в плазме крови не зависела от пола, что отличало их от сверстников из двух других групп. Связи между экспрессией miR195 и miR132 и полом ребенка выявлено не было.

Как видно из табл. 2, у девочек с аутизмом обнаружено достоверное снижение относительной экспрессии miR181 в плазме крови по сравнению с их здоровыми сверстницами и девочками с психоречевыми нарушениями в результате органического поражения мозга. В то же время при аутизме у мальчиков уровни экспрессии miR181 в плазме крови не отличались от таковых в группах «Контроль» и «Органическое поражение мозга». Для выяснения диагностической значимости оценки данного показателя при аутизме у девочек был проведен ROC-анализ. ROC-кривая результатов оценки уровней экспрессии miR181 представлена на рис. 2. Согласно полученным данным, пороговым значением экспрессии miR181 у девочек, позволяющим отнести их к группе детей с аутизмом, является 0,07 и менее (чувствительность – 75%, специфичность – 89%). Площадь под ROC-кривой составляет 0,83, что свидетельствует о достаточно хорошем качестве модели.

У всех детей из группы сравнения вне зависимости от пола обнаружена более низкая экспрессия miR195 по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При этом у мальчиков достоверные отличия были выявлены также и с группой «Аутизм» (у девочек изменения носили недостоверный характер, что, вероятно, связано с небольшим размером выборки). Корреляции между экспрессией исследуемых микроРНК в плазме крови и баллами CARS у пациентов обеих групп выявлено не было.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении экспрессии микроРНК miR181b, miR195 и miR132 в плазме крови детей с нарушением психоречевого развития было выявлено достоверное снижение miR195 при органическом поражении мозга. Значение относительной экспрессии miR195, равное 5,88 и ниже, указывает на высокую вероятность наличия этой патологии. MiR195 синтезируется в астроцитах и играет важную роль в развитии ЦНС.

Согласно имеющимся в доступной литературе данным, miR195 препятствует апоптозу нейронов и дегенерации дендритов, стимулирует нейрогенез, способствует восстановлению нервной ткани за счет активирования пролиферации и миграции нейрональных стволовых клеток, улучшает функцию эндотелия сосудов [11]. Снижение экспрессии miR195 свидетельствует о нарушении этих процессов при органическом поражении ЦНС. Несмотря на то что в группе детей с аутизмом был выявлен достоверно более высокий уровень экспрессии miR195, чем при органическом поражении мозга, у 40% из них этот показатель также был снижен (менее 5,88), что может свидетельствовать о наличии у них схожих патологических процессов в мозге.

Отличий в экспрессии miR181b, miR195 и miR132 в плазме крови детей с аутизмом по сравнению с таковой в других группах выявлено не было. Данные ряда авторов свидетельствуют как о снижении, так и о повышении уровней экспрессии этих микроРНК в крови при аутизме [12–15]. Такое разнообразие результатов может быть обусловлено гетерогенностью состава исследуемых групп и множественностью аномалий, приводящих к формированию аутистического фенотипа.

К настоящему времени известно, что во время внутриутробного развития головной мозг подвергается половой дифференцировке, индуцируемой половыми хромосомами и стероидными гормонами [17]. В первые недели развития плода происходит формирование половых желез под воздействием генетических факторов. При наличии в кариотипе Y-хромосомы включается каскад механизмов, инициируемый действием гена SRY (sex region of Y-chromosome). Он локализован на коротком плече Y-хромосомы и ответственен за дифференцировку гонад по мужскому типу. Как было показано в экспериментах на мышах, уже на этом этапе, еще до появления в организме половых гормонов, регистрируется 50 генов, по-разному экспрессирующихся в мозге мужских и женских зародышей [18]. С 8-й недели беременности в семенниках плода мужского пола начинает вырабатываться тестостерон, а к 3–5 месяцам его уровень в крови достигает такового, как у половозрелого мужчины [19]. Между четвертым и шестым месяцами внутриутробного развития половая дифференцировка мозга продолжает осуществляться уже под действием тестостерона. Попадая с током крови в преоптическую область гипоталамуса, он способствует развитию мозга по мужскому типу. В отсутствие же Y-хромосомы из недифференцированной гонады формируются яичники, выработки тестостерона не происходит и мозг развивается по женскому типу [17].

Наличие половых различий в строении и функциональных особенностях мозга подтверждается рядом исследований. Уже в период эмбрионального развития у будущих мальчиков кора правого полушария мозга больше, чем кора левого. У девочек быстрее развивается левое полушарие, при этом оно тормозит специализацию правого. У представительниц женского пола выявлена большая величина участков, ассоциируемых с областями Вернике и Брока в левом полушарии, кроме того, обнаружена большая плотность серого вещества в речевых зонах, что обуславливает успешность протекания у них вербальных процессов [20]. У девочек и женщин выявлены более выраженные межполушарные связи, тогда как у мальчиков и мужчин оказались более развитыми внутрислошарные соединения [21].

Структурные и функциональные особенности мозга могут обуславливать разницу в распространенности и тяжести неврологических и нейропсихиатрических расстройств в зависимости от пола. Например, у мальчиков по сравнению с девочками

наблюдается большая частота встречаемости органических психических расстройств, поведенческих и речевых нарушений [6]. Расстройства аутистического спектра также чаще встречаются у мальчиков (в 4–5 раз). Известно, что для развития аутизма у девочек требуется большее количество генетических мутаций, что, вероятно, обусловлено их большей защищенностью от неблагоприятных экзогенных воздействий [22].

В связи с тем, что аутизм в основном диагностируется у мальчиков, в большинстве научных работ именно они составляют основной массив исследуемых. На сегодняшний день имеется небольшое количество данных относительно половых различий в проявлениях и механизмах формирования аутистических черт. Так, исследования A.M. Head et al. и F. Sedgewick et al. свидетельствуют о более развитых социальных навыках у девочек с аутизмом [23, 24]. По данным E. Rubenstein et al., стереотипное поведение и ограничение сферы интересов больше характерны для мальчиков, в то же время нарушения интеллекта (умственная отсталость) чаще встречаются у девочек [25]. В обзоре P.J.M. Wijngaarden-Cremers et al. утверждается, что девочки могут иметь несколько иной аутистический фенотип, чем мальчики, и это необходимо учитывать при постановке диагноза [26].

МикроРНК играют важную роль в формировании мозга. В экспериментах на животных было выявлено, что в образцах мозга новорожденных мышей 149 микроРНК по-разному экспрессируются у самцов и самок. Причем, как было показано, синтез 77 из них регулируется с помощью механизмов, связанных с половыми хромосомами, а 72 – стероидными гормонами [16]. В исследованиях на людях были выявлены отличия в экспрессии некоторых микроРНК в ткани плаценты мальчиков и девочек. В частности, сообщается о достоверно более высокой экспрессии miR181 в плаценте новорожденных девочек по сравнению с таковой у мальчиков. Эти данные соответствуют полученным нами результатам. В проведенном исследовании также было обнаружено повышение уровней экспрессии miR181 в плазме крови девочек из групп «Контроль» и «Органическое поражение мозга» по сравнению с мальчиками, при этом в группе «Аутизм» подобных отличий выявлено не было.

В мозге miR181 синтезируется преимущественно в астроцитах. Она стимулирует синаптогенез, снижает рост аксонов, влияет на апоптоз и функцию митохондрий в астроцитах, вовлечена в реакции иммунного ответа [27]. Согласно результатам исследований ряда авторов, уровень экспрессии miR181 снижен в ткани мозга и плазме людей с аутизмом [13, 15, 28]. В проведенном нами исследовании достоверное уменьшение экспрессии miR181 в плазме крови при аутизме наблюдалось только у девочек (по сравнению с группой контроля и группой сравнения). Этот факт может указывать на отличия в патогенезе аутизма в зависимости от пола и подтверждать гипотезу ряда авторов о том, что механизмы, лежащие в основе развития этого заболевания у мальчиков и девочек, могут иметь свои особенности [25, 29].

■ ВЫВОДЫ

1. У детей с органическим поражением мозга выявлен достоверно более низкий уровень относительной экспрессии miR195 по сравнению с таковым у детей группы контроля и у детей с аутизмом (дифференциально-диагностический критерий 5,88: диагностическая чувствительность – 85%, диагностическая специфичность – 80%).

2. Установлено проявление полового диморфизма, характеризующееся тем, что у здоровых девочек и девочек с нарушениями психоречевого развития в результате органического поражения мозга уровень экспрессии miR181b был достоверно выше, чем у мальчиков.
 3. Группа девочек с аутизмом отличалась достоверным снижением экспрессии miR181 в плазме крови по сравнению с их здоровыми сверстницами и девочками с психоречевыми нарушениями в результате органического поражения мозга. Пороговым значением этого показателя у девочек, позволяющим предположить у них диагноз «аутизм», является 0,07 и менее (чувствительность – 75%, специфичность – 89%).
 4. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в развитии психоречевых нарушений при органическом поражении мозга и аутизме лежат разные эпигенетические механизмы. Отличия в экспрессии miR181 у мальчиков и девочек свидетельствуют о том, что процессы эпигенетической регуляции в мозге могут иметь свои особенности в зависимости от пола.
-

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Filippova N.V., Barylnik Yu.B., Bachilo E.V., Ismailova A.S. (2015) Epidemiology of mental impairment in childhood. *Russian Journal of Psychiatry*, no 6, pp. 45–51.
2. Fenichel G.M. (2009) *Clinical Pediatric Neurology*. New York: Demosmedical.
3. Poletaev A.B., Shenderov B.A. (2016) Autism and autoimmunity: genetics or epigenetics? *Clinical pathophysiology*, no 4, pp. 6–14.
4. Mottron L., Duret P., Mueller S., Moore R., Arc B., Jacquemont S., Xiong L. (2015) Sex differences in brain plasticity: a new hypothesis for sex ratio bias in autism. *Molecular Autism*, no 6, pp. 1–19.
5. Sycheva M.A., Sergeeva I.G., Tulupov A.A. (2015) *Organic brain lesions*. Novosibirsk: RIC NGU. (in Russian)
6. Shmakova O.P., Mazaeva N.A. (2018) Social adaptation of patients with organic mental disorders in childhood: the results of the long-term study. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, vol. 118, no 1, pp. 4–12.
7. Nikolaev E.L. (2006) Clinical characteristics of borderline mental disorders in children and adolescents. *Bulletin of ChGU*, no 4, pp. 1–5. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskaya-harakteristika-pogranichnyh-psichicheskikh-rastroystv-u-detey-i-podrostkov> (accessed 14 February 2022).
8. Rossignol D.A. (2012) A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures. *Mol. Psychiatry*, vol. 17, no 4, pp. 389–401.
9. Andreeva T.V., Kunizheva S.S. (2012) *Analysis of regulatory RNAs, associated with the development of brain diseases*. Moscow: Digital. (in Russian)
10. Khalchitsky S.E., Komov V.P., Nasyrova R.F., Ivanov M.V. (2014) Violations of microRNA regulation at mental and neurologic disorders. *Review of psychiatry and medical psychology*, no 4, pp. 23–29.
11. Cheng H.Y., Wang Y.S., Hsu P.Y., Chen Ch.Y., Liao Y.Ch., Juo S.H. (2019) MiR-195 has a potential to treat ischemic and hemorrhagic stroke through neurovascular protection and neurogenesis. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, vol. 13, pp. 121–132.
12. Sarachana T., Zhou R., Chen G., Manji H.K., Hu W.W. (2010) Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Medicine*, vol. 2, no 4, pp. 18–23.
13. Talebizadeh Z., Butler M.G., Theodoro M.F. (2008) Feasibility and relevance of examining lymphoblastoid cell lines to study role of microRNAs in autism. *Autism Research*, vol. 1, no 4, pp. 240–250.
14. Ghahramani Seno M.M., Hu P., Gwady F.G., Pinto D., Marshall C.R., Casallo G., Scherer S.W. (2011) Gene and miRNA expression profiles in autism spectrum disorders. *Brain Research*, no 1380, pp. 85–97.
15. Vasu M.M., Anitha A., Thanseem I., Suzuki K., Yamada K. (eds.) (2014) Serum microRNA profiles in children with autism. *Mol Autism*, vol. 5, no 40, pp. 2–9.
16. Morgan Ch.P., Bale T.L. (2012) Sex differences in microRNA regulation of gene expression: no smoke, just miRs. *Biology of Sex Differences*, vol. 3, no 22, pp. 1–9. Available at: <http://www.bsd-journal.com/content/3/1/22> (accessed 15 February 2022).
17. Kudryashova E.K., Masel A.S., Nagornaya I.I., Nikitina I.L. (2015) The role of genetic, hormonal and environmental influences on sexual differentiation of the brain. *Arterial Hypertension*, vol. 21, no 1, pp. 40–47.
18. Majdic G. (2009) Is male brain different from female brain? *Slov Vet Zb.*, vol. 46, no 3, pp. 85–91.
19. Takagi S., Yoshida T., Tsubata K., Ozaki H., Fujii T. (eds.) (1977) Sex differences in fetal gonadotropins and androgens. *J Steroid Biochem.*, vol. 8, no 5, pp. 609–620.
20. Fotekova T.A., Kicheeva A.O. (2014) Sex differences in the state of higher mental functions during adulthood. *Siberian journal of psychology*, no 51, pp. 20–30.
21. McCarthy M.M., Nugent B.M., Lenz K.M. (2017) Neuroimmunology and neuroepigenetics in the establishment of sex differences in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, no 18, pp. 471–484.
22. Zhang Y., Li N., Li Ch., Zhang Z., Teng H. (eds.) (2020) Genetic evidence of gender difference in autism spectrum disorder supports the female-protective effect. *Translational Psychiatry*, vol. 10, no 4, pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0699-8>



23. Head A.M., McGillivray J.A., Stokes M.A. (2014) Gender differences in emotionality and sociability in children with autism spectrum disorders. *Molecular Autism*, vol. 5, no 19, pp. 1–9.
24. Sedgewick F., Hill V., Pellicano E. (2018) Parent perspectives on autistic girls' friendships and futures. *Autism & Developmental Language Impairments*, vol. 3, pp. 1–12. doi: 10.1177/2396941518794497journals.sagepub.com/home/dli
25. Rubenstein E., Wiggins L.D., Lee L.Ch. (2015) A Review of the Differences in developmental, psychiatric, and medical endophenotypes between males and females with autism spectrum disorder. *J Dev Phys Disabil.*, vol. 27, no 1, pp. 119–139.
26. Wijngaarden-Cremers P.J.M., Eeten E., Groen W.B., Deurzen P.A., Oosterling I.J. (eds.) (2014) Gender and age differences in the core triad of impairments in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *J Autism Dev Disord*, vol. 44, no 3, pp. 627–635.
27. Schumann C.M., Sharp F.R., Ander B.P., Stamova B. (2017) Possible sexually dimorphic role of miRNA and other sncRNA in ASD brain. *Molecular Autism*, vol. 8, no 4, pp. 1–10. doi: 10.1186/s13229-017-0117-0
28. Abu-Elneel K., Liu T., Gazzaniga F.S., Nishimura Y., Wall D.P. (eds.) (2008) Heterogeneous dysregulation of microRNAs across the autism spectrum. *Neurogenetics*, vol. 9, pp. 153–161.
29. Giambattista C., Ventura P., Trerotoli P., Margari F., Margari L. (2021) Sex differences in autism spectrum disorder: focus on high functioning children and adolescents. *Frontiers in Psychiatry*, vol. 12, pp. 1–13. doi: 10.3389/fpsy.2021.539835