

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

С. В. Бизюкевич

**РАССТРОЙСТВА АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА
(клинико-диагностический и молекулярно-
генетический аспекты)**

Монография

Гродно
ГрГМУ
2024

УДК 616.896-071:577.21

ББК 57.336.145.2

Б 59

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ
(протокол № 15 от 18 декабря 2023 г.)

Авторы: канд. мед. наук, доц. каф. психиатрии и наркологии
УО «Гродненский государственный медицинский
университет» С. В. Бизюкевич.

Рецензенты: проф. каф. психотерапии и клинической психо-
диагностики УО «Гродненский государственный
медицинский университет», д-р мед. наук, проф.,
Е. Г. Королева;
зам. директора по научной работе ГУ «РНПЦ
психического здоровья», д-р мед. наук, проф.,
С. А. Игумнов.

Бизюкевич С.В.

Б 59 Расстройства аутистического спектра (клинико-
диагностический и молекулярно-генетический аспекты) :
монография / С. В. Бизюкевич – Гродно : ГрГМУ, 2024. –
152 с.
ISBN 978-985-595-861-2.

Монография подготовлена по материалам комплексного научного исследования. В главе 1 описано современный взгляд на этиологию и патогенез расстройств аутистического спектра. Глава 2 посвящена методологическим подходам к исследованию проблемы РАС. В главе 3 раскрывается роль различных факторов в формировании РАС и их влияние на прогноз. Глава 4 представляет подробную молекулярно-генетическую характеристику РАС. В главе 5 рассматриваются вопросы ранней диагностики РАС.

Монография предназначена для психиатров-наркологов детских, психотерапевтов, работающих с контингентом пациентов с расстройствами аутистического спектра, врачей различных специальностей, в том числе врачей общей практики, психологов, врачей-генетиков и студентов медицинских ВУЗов.

УДК 616.896-071:577.21

ББК 57.336.145.2

ISBN 978-985-595-861-2

© Бизюкевич С. В., 2023

© ГрГМУ, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
ПРЕДИСЛОВИЕ	7
ВВЕДЕНИЕ.....	9
 ГЛАВА 1 ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ	 14
1.1 Генетические аспекты этиопатогенеза расстройств аутистического спектра	 14
1.2 Полиморфизм генов фолатного цикла, как фактор риска развития расстройств аутистического спектра	 17
1.3 Пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития расстройств аутистического спектра	 22
1.4 Факторы, влияющие на степень выраженности клинических проявлений расстройств аутистического спектра...	26
1.5 Проблема ранней диагностики расстройств аутистического спектра	31
 ГЛАВА 2 МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ПРОБЛЕМЫ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	 38
 ГЛАВА 3 ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ТЯЖЕСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА.....	 50
3.1 Пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития расстройств аутистического спектра	 50

3.2 Влияние пренатальных, перинатальных и пост-натальных факторов, повышающих риск развития расстройств аутистического спектра, на степень тяжести аутистических расстройств	62
--	----

3.3 Связь пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов с полиморфизмом генов фолатного цикла	65
--	----

ГЛАВА 4 ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ТЯЖЕСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	67
---	----

4.1 Общая характеристика групп.	67
--------------------------------------	----

4.2 Особенности распределения генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов фолатного цикла у детей исследуемых групп	71
---	----

4.3 Степень тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра	78
---	----

4.4 Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла в зависимости от степени тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра..	81
--	----

ГЛАВА 5 РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	89
--	----

5.1 Комбинация факторов, ассоциированных с риском развития расстройств аутистического спектра	89
---	----

5.2 Алгоритм выявления «групп риска» для ранней диагностики расстройств аутистического спектра.....	95
---	----

5.3 Клинические случаи по выявлению «групп риска» для ранней диагностики расстройств аутистического спектра....	99
---	----

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	108
------------------	-----

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	112
---------------------------------	-----

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	114
---------------------------------------	-----

ПРИЛОЖЕНИЯ.....	144
-----------------	-----

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

PAC	–	расстройства аутистического спектра
ВОЗ	–	Всемирная организация здравоохранения
МКБ-10	–	Международная классификация болезней 10 пересмотра
ADOS-2	–	Autism Diagnostic Oservation Schedule-2 (План диагностического обследования при аутизме, издание 2)
MTHFR	–	метилентетрагидрофолатредуктаза
MTRR	–	метионин-синтаза-редуктаза
MTR	–	метионин-синтаза
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
NK	–	натуральные киллеры
NKT	–	натуральные Т-киллерные лимфоциты
АТФ	–	аденозинтрифосфорная кислота
T/T	–	гомозиготный генотип
C/T	–	гетерозиготный генотип
FR α	–	фолат-рецептор α
FRA α	–	аутоантитела к фолат-рецептору α
ЦМВ	–	цитомегаловирус
ВПГ	–	вирус простого герпеса
СДВГ	–	синдром дефицита внимания и гиперактивности
IGF	–	инсулиноподобный фактор роста
IL-4	–	интерлейкин-4
Th1	–	Т-хелперы
IFN- γ	–	интерферон-гамма
DSM-5	–	Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders, fifth edition (Диагностическое и

статистическое руководство по психическим расстройствам, издание 5)

CARS	– The Childhood Autism Rating Scale (Рейтинговая шкала аутизма у детей)
AAP	– American Academy of Pediatrics (Американская академия педиатрии)
AACAP	– American Academy of Child and Adolescent Psychiatry (Академия детской и юношеской психиатрии)
M-CHAT	– Modified Check list for Autism in Toddlers (Модифицированный скрининговый тест на аутизм у детей)
ADI-R	– The Autism Diagnostic Interview-Revised (Интервью для диагностики аутизма)
УЗ «ГОКЦ П-Н»	– учреждение здравоохранения «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-наркология»
ФПН	– фетоплацентарная недостаточность
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
CSQ	– Social Communication Questionnaire (Социально-коммуникативный опросник)
CASD	– Check list for Autism Spectrum Disorder (Опросник расстройств аутистического спектра)
ГУ «РНПЦ ПЗ»	– государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр психического здоровья»

ПРЕДИСЛОВИЕ

Расстройства аутистического спектра по-прежнему остаются актуальной по настоящее время проблемой в клинической психиатрии. Это объясняется постоянным ростом количества пациентов с диагнозом раннего детского аутизма и РАС, их pervasивностью социальной дефицитарности, клинической гетерогенностью, трудностями своевременной диагностики и отсутствием дифференцированной специализированной помощи таким пациентам. Следует отметить возросший к данной проблеме общественный интерес. Аутизм становится объектом внимания различных специалистов – психиатров-наркологов детских, психотерапевтов, психологов, социальных педагогов, генетиков. Отличительной чертой современных исследований РАС становится их многоплановый подход. Настоящая монография относится именно к такой категории, где сочетаются исследования диагностики РАС, ассоциированных с полиморфизмом генов фолатного цикла. В монографии собраны материалы по изучению влияния различных факторов риска формирования и развития РАС при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла в детской популяции.

В результате проведенного исследования получены новые данные по распределению генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с РАС. Так, установлено, что дети с РАС чаще являются носителями гомозигот по мутантной аллели, а мутантные аллели 677T и 66G полиморфизмов C677T, A66G генов MTHFR, MTRR ассоциированы с риском развития РАС.

Новыми являются данные, показывающие роль распределения генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла на степень тяжести клинических проявлений РАС. Установлено, что гомозиготные генотипы по мутантной аллели статистически значимо чаще распределены при высокой степени тяжести клинических проявлений РАС, гетерозиготные генотипы – при умеренной степени тяжести РАС.

Особое внимание в монографии уделено влиянию пре-, перинатальных факторов на формирование и развитие

аутистических расстройств при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла (внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до родов, во время родов и родоразрешения, угроза прерывания беременности на 12 ± 2 неделе беременности). Знание выявленных факторов, оказывающих влияние на развитие РАС, может служить стимулом в создании новых социальных программ, направленных на поддержку семей, имеющих детей с РАС.

Впервые установлена комбинация факторов, ассоциированная с риском развития РАС. На основании установленных факторов риска развития РАС, впервые разработан и внедрен в клиническую практику алгоритм выявления «групп риска», направленный на раннюю диагностику РАС.

На основании результатов исследования разработаны и внедрены в клиническую практику практические рекомендации по применению алгоритма выявления «групп риска» при ранней диагностике РАС на амбулаторном и стационарном этапах оказания специализированной медицинской помощи детям с РАС, а также для своевременного проведения психотерапевтической коррекции и повышения ее результативности, оказывающей существенное влияние на повышение социальной адаптации детей с РАС и улучшающей их качество жизни.

Автор представил уникальный материал по молекулярно-генетическим и клинко-диагностическим аспектам РАС. Монография предназначена прежде всего для специалистов психиатров-наркологов детских, психотерапевтов, врачей-генетиков, психологов, социальных работников и педагогов, участвующих в оказании специализированной помощи пациентам с РАС. Книга может быть полезной аспирантам и студентам медицинских ВУЗов, а также изучающим генетические, психологические и социальные науки.

**Эдуард Павлович Станько,
доктор медицинских наук,
заведующий кафедрой
психиатрии и наркологии
Гродненского государственного
медицинского университета**

ВВЕДЕНИЕ

Проблема РАС в современной детской психиатрии на сегодняшний день является одной из наиболее актуальных, что обусловлено неуклонным ростом числа детей с общими расстройствами развития. По оценкам разных исследователей, распространённость РАС широко варьирует и составляет не менее 1,5% в развитых странах. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире РАС встречаются у одного из 100 детей [142]. Центр по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) опубликовал в 2020 г. Новые результаты медико-статистического анализа: РАС встречаются у каждого 54-го ребёнка, что на 10% больше, чем в 2018 г [55]. В Европе самая высокая распространённость РАС наблюдается в Швеции – 115 случаев на 10 тысяч детского населения, самый низкий показатель распространённости РАС в Хорватии – 2-3 случая на 10 тысяч детского населения. В 11 штатах США распространённость таких расстройств среди детей в возрасте 8 лет составляет 1 случай на 59 человек [144]. В западных регионах Польши за 2016 год распространённость РАС составила 35 случаев на 10 тысяч детей [258]. По данным пилотного эпидемиологического скрининга, проводимого Минздравом России с 2014 по 2019 год, распространённость РАС у детей в возрасте до 2 лет составила 5 случаев на 10 тысяч [50], в возрасте до 4 лет – 18 случаев на 10 тысяч детского населения [274].

В Республике Беларусь с 2005 по 2012 год общее число детей, состоящих под наблюдением врачей-психиатров по причине общих расстройств развития, в том числе и РАС, возросло в 2,8 раза (с 251 до 699 случаев) [94]. В 2011 году распространённость РАС в нашей стране составила 2,96 случаев на 10 тысяч детского населения [56]. Распространённость РАС в 2014 году – 5,07 случаев на 10 тысяч детского населения [44]. В 2019 году под диспансерным наблюдением детских психиатров находились 1800 детей с РАС [43]. В структуре общей заболеваемости в Республике Беларусь «Общие расстройства психологического развития» за 2020 год составили 6,2%,

в Гродненской области – 5,5%, а в структуре первичной заболеваемости – 2% [95]. По данным 2022 г., общее число детей с РАС в Республике Беларусь составляет 4 тыс. Анализ показателей первичной инвалидности у детей в Республике Беларусь за период с 2018 по 2022 гг. демонстрирует рост удельного веса РАС в абсолютных цифрах. Так, в 2018 г. Впервые признано инвалидами 4033 человека, из них РАС – 257 (6,4%), а в 2022 г. – 4626 человек, из них РАС – 700 человек, что составляет 15,1% [55]. Динамика заболеваемости РАС и показатели инвалидности детского населения представлены на рисунках 1-4. (О.С. Литвинова, 2023).

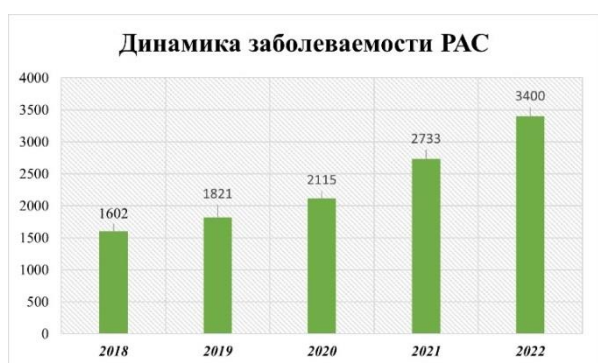


Рисунок 1 – Динамика заболеваемости РАС на 10 тыс. детского населения (абс.)

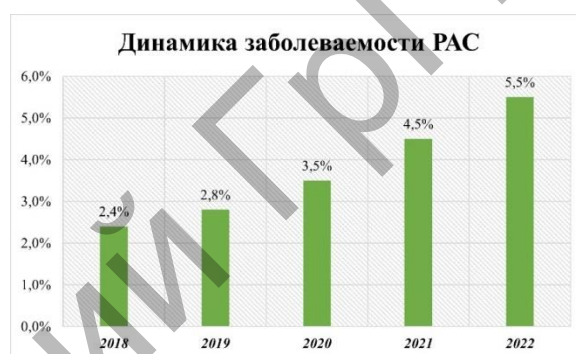


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости РАС на 10 тыс. детского населения (%)



Рисунок 3 – Первичная инвалидность детей по причине психических расстройств



Рисунок 4 – Инвалидность по нозологии (на 10 тыс. детского населения)

Несмотря на большое число научных исследований, посвящённых изучению факторов этиопатогенеза РАС,

нет чёткого представления о комбинации факторов риска РАС, а также о механизмах их развития.

В семейных и близнецовых исследованиях доказана наследственная предрасположенность к развитию РАС, в которых роль мутаций достигает порядка 40-60% [28, 193, 82, 188, 117, 91, 197, 35]. Несмотря на значительный вклад генетических факторов в развитие РАС, этиопатогенез РАС рассматривается с точки зрения сочетанного участия генетических и средовых факторов [226, 248, 204, 277, 143, 7, 111, 145, 225, 253, 278, 174, 269, 148, 32, 155].

Среди генетических факторов в последнее время учёными рассматривается полиморфизм генов фолатного цикла, который, по мнению исследователей, предопределяет развитие аутоиммунных нарушений, влияющих на функционирование областей головного мозга, ответственных за осуществление социально-коммуникативной функции [187, 262, 255, 158, 219, 276, 133, 260, 138, 134, 139]. В единичных публикациях в Украине описан механизм развития РАС, основанный на связи полиморфных вариантов генов фолатного цикла и иммунных нарушений у детей [70, 68, 71]. В научных публикациях дальнего зарубежья отражены результаты немногочисленных исследований, в которых показано, что гомозиготные и гетерозиготные генотипы по мутантной аллели полиморфных вариантов генов фолатного цикла являются не только факторами риска развития РАС, но и оказывают влияние на характер поведенческих нарушений у детей с аутизмом [255, 219, 133]. При этом в качестве факторов риска в развитии РАС названы генотипы различных полиморфизмов генов фолатного цикла в зависимости от популяционных особенностей. Остаются неизученными распределение и связь генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла со степенью выраженности клинических проявлений РАС. В Республике Беларусь и Российской Федерации отсутствуют исследования, изучающие ассоциацию полиморфизма генов фолатного цикла с риском развития РАС у детей.

К значимым средовым факторам, участвующим в этиопатогенезе РАС и увеличивающим риск их развития, учёными отнесены пренатальные, перинатальные

и постнатальные факторы. В ряде исследований установлено, что важным фактором, повышающим риск развития РАС, является возраст родителей на момент зачатия ребёнка [128, 129, 154, 229]. Результаты других исследований демонстрируют отсутствие влияния возраста родителей на риск развития РАС [130, 242]. Вторыми по релевантности факторами, оказывающими влияние на риск развития РАС, в научных исследованиях определены токсикоз, многоводие, фетоплацентарная недостаточность (ФПН), преэклампсия, переносная беременность, обвитие пуповиной, гипоксия плода, кесарево сечение, экстрагенитальные заболевания у матери, искусственное вскармливание [31, 234, 241, 100, 81, 136, 214, 215, 216, 273, 220, 195, 235, 206, 252, 210]. Несмотря на большое количество выделенных факторов риска, не определена комбинация генетических факторов, существенно повышающих риск развития РАС, а также пре-, пери-, постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла.

Одна из актуальных проблем изучения РАС – их ранняя диагностика. Как показал анализ исследований распространённости РАС, число зарегистрированных случаев аутизма у детей отличается в разных странах [144, 258, 50, 274, 94, 56, 43, 95, 223]. Учёные утверждают, что это связано, с одной стороны, с трудностями диагностики РАС в связи с наличием коморбидных психических расстройств [224, 11, 207, 190], с другой стороны – с гипердиагностикой [114, 113, 67, 8].

Данные исследований продемонстрировали, что, опираясь лишь на нечёткие диагностические критерии РАС, представленные в Международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10), нередко ошибочно устанавливают данный диагноз детям с нарушениями развития речи и с другими психическими расстройствами [5, 268, 113]. Очевидно, что трудности в диагностике РАС в первую очередь связаны с субъективной оценкой наличия признаков РАС, разрозненным пониманием степени выраженности клинических проявлений, отсутствием научно обоснованных алгоритмов ранней диагностики РАС в странах СНГ, а также с ограниченным применением стандартизированных инструментов диагностики

РАС, что приводит к позднему выявлению данных расстройств у детей, как правило, после трёх лет [161, 101, 173, 166, 4, 83, 64, 34, 59, 175, 264]. Более поздняя диагностика РАС и сложности в установлении степени тяжести их клинических проявлений ограничивают возможность формирования индивидуальной программы медико-коррекционного и социального сопровождения детей с РАС [92, 39, 4, 200, 83, 38].

Таким образом, многообразие и неоднозначность данных о факторах риска развития РАС, недостаточность сведений о влиянии полиморфизмов генов фолатного цикла на степень выраженности клинических проявлений РАС, отсутствие исследований в мире и в Республике Беларусь, изучающих связь полиморфизма генов фолатного цикла со степенью тяжести клинических проявлений РАС, а также научно обоснованных алгоритмов выявления «групп риска» для ранней диагностики РАС определяют актуальность дальнейшего научного исследования этих проблем.

Выражаю слова благодарности за плодотворную совместную работу кандидату медицинских наук, доценту Карпюк В.А., а также ученым, коллегам, всем помогавшим в проведении научных исследований и написании книги. С дружескими чувствами и добрыми пожеланиями от автора монографии.

ГЛАВА 1

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

1.1. Генетические аспекты этиопатогенеза расстройств аутистического спектра

Согласно результатам современных научных исследований, РАС относят к «генетическим» расстройствам [28, 193]. Действительно, результаты многочисленных исследований указывают на высокую семейную отягощённость среди родственников пациентов с аутизмом. По данным литературных источников, распространённость РАС растёт пропорционально степени родства. Так, конкордантность у монозиготных близнецов составляет от 60 до 90%, у дизиготных – от 10 до 19% [28, 193, 82, 188, 117].

В публикациях российских генетиков показано, что до 40% случаев аутизма связано с генетическими мутациями [91]. Учёными выявлено, что у детей с аутистическими расстройствами отмечаются изменения последовательности нуклеотидов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в виде численных хромосомных аномалий, проявляющихся преимущественно в мозаичной форме [28, 193, 197]. В свою очередь, 62,5% аномалий хромосом могут быть только у мальчиков, что позволяет в определенной степени объяснить предрасположенность лиц мужского пола к аутизму [28, 82]. С. Г. Ворсанова и соавт. (2014) в результате исследования отметили, что РАС могут быть ассоциированы «с нарушением 13 различных кластерных процессов и геномных сетей», а не только с нарушением лишь в одной группе генов (митотическое деление клетки, репарация ДНК, функционирование везикул, макромолекулярные взаимодействия, В-лимфоциты и др.) [35]. В то же время установлено, что мутации генов могут иметь не только наследственную природу, но и возникать спонтанно [28, 193, 197]. Изучаются причины развития спорадических случаев РАС, возникающих

в результате спонтанных, не присутствующих у родителей мутаций во время развития гамет и зиготы, так называемые вариации количества копий (copy number variations), выявляемых впервые (de novo) [28, 193, 82, 188, 91, 197].

Большое количество публикаций посвящено идентификации генетических маркеров РАС [117, 35, 78, 226, 248, 204]. В последнее время обнаружено несколько сотен «генов-кандидатов» РАС, но вклад каждого из них, вносимый в развитие аутизма, незначителен.

В исследовании команды учёных из США было обнаружено более 102 генов, ассоциированных с аутизмом. Основное внимание учёные обратили на изучение экзона, участвующего в транскрипции генетического материала на матричную рибонуклеиновую кислоту (РНК) [204]. Не менее интересно исследование, в котором доказано, что в развитии аутизма принимают участие не только экзоны, но и интроны гена [204]. Найдена публикация, описывающая взаимное влияние генов. В данном исследовании показано влияние гена miR-873, ассоциированного с аутизмом, на экспрессию генов ARID1B, SHANK3 и NRXN2, которые в свою очередь участвуют в развитии центральной нервной системы (ЦНС) [143].

Анализ результатов научных исследований показал, что «высшие психические функции в той или иной мере контролируются многими генами, расположенными на всех без исключения хромосомах, к тому же гены сложным образом взаимодействуют друг с другом, и поэтому РАС могут быть следствием аномалий различных участков генома» [193, 91, 197, 35].

В научной литературе описаны и определены причины развития «синдромного» аутизма, обусловленного мутациями в определённых генах, в результате чего при таких генетических синдромах, как синдром Ангельмана, Прадера-Вилли, Ретта, туберозный склероз, нейрофиброматоз I типа, синдром ломкой X-хромосомы и др. [202, 7], фенотипически присутствуют симптомы РАС. Группа учёных из Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук рассматривает молекулярные механизмы «синдромного» аутизма как следствие мутаций, имеющихся в генах сигнального пути (mTOR)

межнейронной связи, а именно в теле нейронов и в дендритах, которые приводят к нарушению функционирования синапсов [111]. Тем не менее, по мнению S. Ballouz, J. Gillis (2017), у многих детей с моногенными синдромами РАС проявляются не с одинаковой вероятностью, что может объясняться разной силой эффекта имеющихся мутаций [145].

В Республике Беларусь группой авторов из ГУ «РНПЦ психического здоровья» показана роль полиморфизма гена металлотионеина (МТ) в этиопатогенезе РАС [78, 75, 74]. Как поясняют авторы, белок металлотионеин участвует в поддержании гомеостаза цинка и меди в организме, оказывает существенное влияние на функционирование иммунной системы организма, развитие нейронов в головном мозге, защищает от возникновения кишечных инфекций, участвует в формировании эмоциональной сферы и социализации [78, 75, 74]. Учёными установлена взаимосвязь SNP rs45570941 во втором интроне гена МТ3 (G>C) с развитием РАС у детей в возрасте от 2 до 14 лет. Исследователи объясняют, что выявление мутаций (G/C генотип) в SNP rs45570941 во втором интроне гена МТ3 указывает на предрасположенность к развитию аутистических расстройств, а также к нарушению функционирования иммунной системы, желудочно-кишечного тракта и микроэлементного статуса ребёнка [78, 75, 74].

Как показывает анализ научных публикаций, ещё один возможный путь формирования РАС связывают с митохондриальной дисфункцией, которая приводит к дисбалансу функций кальциевых каналов [30] и регулирует процессы врожденного и адаптивного иммунитета. По мнению исследователей, эпигенетические взаимодействия влияют на митохондриальные процессы и могут быть обусловлены не только мутациями в митохондриальной ДНК, что в свою очередь приводит к нарушению образования энергии вследствие снижения синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и способствует возникновению когнитивных и поведенческих нарушений [225, 253, 257, 280], но и метаболическими нарушениями в фолатном цикле, которые за счёт внутриклеточных токсических соединений гомоцистеина стимулируют формирование активных кислородных радикалов,

приводящих к оксидативному стрессу [257, 280] и изменению процессов нейротрансмиссии и синаптической пластичности [225, 253, 257, 280, 157]. Итоги многочисленных исследований подтверждают изменения энергетического метаболизма в головном мозге детей с аутизмом, снижение клеточной энергии и запаса энергии в митохондриях [253, 157, 228].

Таким образом, имеющиеся данные демонстрируют, что, несмотря на участие мутаций генов в этиопатогенезе РАС, точечные мутации не являются единственной причиной и не всегда приводят к развитию РАС, а лишь создают предрасполагающие условия [228] и становятся участниками сложных взаимодействий систем организма, приводящих к развитию РАС [194, 278, 37].

1.2. Полиморфизм генов фолатного цикла, как фактор риска развития расстройств аутистического спектра

В зарубежных научных публикациях последних лет в качестве генетической предрасположенности к развитию РАС рассматривается полиморфизм генов фолатного цикла [187, 255, 158, 219, 276].

Биотехнолог и генетик V. Rai (2016) индийского университета Purvanchal в своих научных исследованиях установила, что около 95% детей с РАС являются носителями мутантных генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла, которые могут рассматриваться как определённые генетические факторы риска развития РАС [276]. Группой исследователей из Египта, университет Ain Shams, полиморфизм С677Т гена МТНFR был определен как фактор риска развития РАС, а аллель 1298С гена МТНFR как дополнительныйотягощающий фактор развития РАС [262]. В исследованиях учёных А. Arab (2019) и S. Ismail et al. (2019) полиморфизм С677Т и А1298С гена МТНFR также был определен как фактор, ассоциированный с риском развития РАС [133, 260]. В свою очередь, результаты метаанализа группы учёных из Ирана показали, что полиморфизм С677Т гена МТНFR может быть связан с повышенным риском развития аутизма в большинстве этнических групп, в то время как полиморфный вариант А1298С гена МТНFR связан с риском развития РАС

только у этнических групп, населяющих Кавказ [138]. В то же время в исследованиях китайских учёных показано, что у жителей Южной провинции Хань не найдено доказательств влияния полиморфизмов генов фолатного цикла на риск развития РАС [134] в отличие от Северной [139].

Фолатный цикл – каскадный процесс, в котором участвуют ферменты: метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR), метионин-синтаза-редуктаза (MTRR) и метионинсинтаза (MTR). Ключевой этап в данном процессе – синтез метионина из гомоцистеина. Нарушения фолатного цикла приводят к накоплению гомоцистеина в клетках и повышению общего уровня гомоцистеина в плазме, так называемая гипергомоцистеинемия. Важно отметить, что гомоцистеин способен беспрепятственно проникать через плаценту и может не только приводить к ФПН и внутриутробной гипоксии плода, но и вызывать апоптоз нейрональных клеток плода. Установлено, что главными причинами нарушения фолатного цикла являются генетические полиморфизмы ферментов фолатного цикла, дефицит витаминов, участвующих в обмене фолатов: фолиевой кислоты, пиридоксина (В₆) и цианокобаламина (В₁₂) [7]. Известно, что полиморфизмы генов фолатного цикла выявляются в гетерозиготном и гомозиготном состоянии. Гомозиготные, аллельные варианты генов фолатного цикла являются наиболее неблагоприятным вариантом носительства и свидетельствует о снижении активности фермента на 65-70% [7, 116]. В связи с этим фермент, который кодируется мутантным гомозиготным генотипом, не выполняет свою функцию в фолатном цикле и приводит к значимым метаболическим нарушениям в организме человека. Гетерозиготные генотипы снижают активность ферментов на 15-35% и способствуют развитию менее выраженных метаболических нарушений [7, 116].

Наиболее изученные полиморфизмы гена MTHFR – замены нуклеотидной последовательности в кодоне 677 и в кодоне 1298. Полиморфизм C677T гена MTHFR связан с заменой нуклеотида цитозина (С) в 677 кодоне на тимин (Т). Частота для гомозиготного генотипа по мутантной аллели Т/Т в разных популяциях здоровых людей составляет 4-16%, для гетерозиготного С/Т – 38-67%. В кодоне 1298 гена MTHFR

происходит замена аденина (А) на цитозин (С). Частота встречаемости полиморфизма А1298С гена МТНFR в гомозиготном варианте С/С составляет 3-13%, в гетерозиготном А/С – 45-55%. В генах МТRР и МТR известны полиморфизмы, обусловленные заменой аденина (А) на гуанозин (G). Полиморфизм А66G гена МТRР в гомозиготном варианте встречается с частотой 15-25%, в гетерозиготном варианте – 40-50%. Ген МТR полиморфизма А2756G в гомозиготном варианте встречается с частотой 20-30%, в гетерозиготном – 43-52% [7, 103].

Участие полиморфизма генов фолатного цикла в развитии РАС, по мнению учёных, может быть ассоциировано, с одной стороны, с прямым токсическим действием гомоцистеина на эндотелий сосудов, вызывающим состояние эндотелиальной дисфункции в ЦНС и гибель нервных клеток [199], а с другой – с изменением процессов синаптической передачи. Вероятной мишенью для токсического действия гомоцистеина являются глутаматные рецепторы, а именно NMDA-рецепторы, которые обеспечивают передачу электрического сигнала в синапсах. Известно, что наибольший токсический эффект гомоцистеина обусловлен формированием агрессивных белковых соединений, способных повреждать внутриклеточные структуры. Предполагается, что нейротоксический эффект гомоцистеина, с одной стороны, приводит к гиперактивации глутаматных рецепторов с развитием глутаматергической эксайтотоксичности, вызывающей повреждение молекул ДНК и гибель нейрона, а с другой стороны – к изменению передачи электрического импульса в синапсах [199].

Также при полиморфизме генов фолатного цикла не происходит процесс метилирования ДНК (включения и исключения генов). Данный процесс связан с развитием так называемого «синдромного» аутизма, при котором достоверно установлена мутация и фенотипически присутствуют симптомы РАС [7].

В последние годы учёными изучается вклад иммунных нарушений в развитие РАС, ассоциированных с полиморфизмом генов фолатного цикла. Установлено, что у детей с РАС наблюдается общая супрессия клеточного иммунитета, пониженная активность Т-киллеров, отмечаются субнормальные уровни определенных видов лимфоцитов [30].

Так, в исследованиях украинских учёных продемонстрирован механизм манифестации РАС с участием полиморфизмов генов фолатного цикла с точки зрения аутоиммунных процессов. Авторы установили, что полиморфизм генов фолатного цикла приводит к развитию первичного иммунодефицита у 90% детей с РАС. Основой такого иммунодефицита является аномально малое количество натуральных киллеров (NK) и натуральных Т-киллерных лимфоцитов (NKT) [70, 68, 69]. Такая особенность иммунодефицита у детей с РАС связана с повышенной склонностью к развитию аутоиммунных осложнений [68, 69] и гиперчувствительности замедленного типа [70, 68, 69, 71], к продукции аномально повышенного уровня аутоантител к мозговым антигенам. Авторы описывают два механизма повреждающего воздействия аутоантител на головной мозг при генетическом полиморфизме ферментов фолатного цикла: прямое воздействие аутоантител приводит к демиелинизации или нарушению внутриутробного развития нервной системы с возникновением нейродегенерации, включая височный медианный склероз [68, 69, 71]. При опосредованном воздействии аутоантител происходит повреждение процессов передачи нервного импульса или нарушение синаптической передачи нейромедиаторов, не индуцируя прямого разрушения нервной ткани [51]. В своих исследованиях учёные продемонстрировали, что в 96% случаев у детей с РАС, имеющих полиморфизм генов фолатного цикла, выявлены признаки лейкоэнцефалопатии разной степени тяжести [69, 71] и аутоантитела к основному белку миелина, нейрофиламентам, к серотониновым рецепторам нейронов [51].

В исследованиях C. Hammill et al. (2020), D. L. Floris et al. (2020), M. Rogdaki et al. (2020), C. J. Ammons et al. (2021) отмечены нарушения в формировании участков головного мозга, отвечающих за социально-коммуникативную функцию: зона Брока и Вернике, лобно-височные области и миндалина, орбито-фронтальная кора и хвостатое ядро [246, 140, 208, 270] – в результате воздействия разных факторов, приводящих к повреждениям или гибели нейронов по причине аутоиммунных процессов или «окислительного стресса» либо к нарушению процесса синаптической пластичности в разных структурах

головного мозга, обусловленного токсическим воздействием гомоцистеина [199].

Имеется целый ряд научных исследований, в которых изучается причина развития РАС в связи с наличием «церебральной фолатной недостаточности» [267, 184, 249, 189]. По мнению некоторых учёных, нарушения функций митохондрий, развивающихся в результате мутаций в митохондриальных генах либо в случае изменений в метаболизме фолатного цикла, могут приводить к недостаточному синтезу АТФ для активной транспортировки фолатов через гематоэнцефалический барьер [225, 228, 249, 189, 164]. Другие исследователи проблему метаболизма и транспорта фолиевой кислоты в головной мозг видят в недостаточном поступлении её с пищей, а также связывают с нарушением микробиоценоза кишечника у детей с РАС [170, 132]. Новейшие исследования зарубежных учёных объясняют причину нарушений метаболизма фолатов у детей с РАС наличием аутоантител к транспортному белку фолатов или рецепторам [184, 249, 189]. Было обнаружено, что у 89% детей с РАС в сыворотке крови имеются аутоантитела (FRA α) к фолат-рецептору α (FR α) [140, 249, 150, 165, 227], который играет основную роль в доставке фолатов в головной мозг. Аутоантитела к фолат-рецептору α нарушают транспорт фолиевой кислоты через гематоэнцефалический барьер путем связывания с рецептором фолатов α . Отмечено, что аналогичные антитела к фолат-рецептору α встречаются у матерей детей с РАС [150, 227].

В доступной научной литературе Республики Беларусь и Российской Федерации удалось найти исследования, изучающие влияние полиморфизма генов фолатного цикла на развитие осложнений беременности [65, 115], перинатальную смерть и рождение детей с врождёнными пороками развития [115, 33], на развитие сердечно-сосудистых расстройств [60] и онкологических заболеваний [118]. Но исследований, направленных на изучение вклада полиморфизма генов фолатного цикла в развитие РАС, найти не удалось.

Таким образом, в имеющихся немногочисленных научных исследованиях показано, что полиморфизмы генов фолатного цикла являются не только факторами риска развития РАС, но и участниками патогенетических механизмов в развитии РАС,

действуя через гуморальные, нейрональные и аутоиммунные процессы. При этом отсутствуют публикации, посвящённые изучению связи полиморфизмов генов фолатного цикла со степенью тяжести клинических проявлений РАС, а также не определены пре-, пери- и постнатальные факторы, которые могут повышать риск развития РАС при полиморфизме генов фолатного цикла.

1.3. Пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития расстройств аутистического спектра

Современные научные исследования доказывают мультифакторную природу развития РАС, объясняющую сложные взаимодействия между наследственными причинами и воздействием факторов окружающей среды [192], которые повышают вероятность риска развития РАС при имеющейся «генетической уязвимости». Однако учёным не удаётся выделить какой-то отдельный внешний агент, под влиянием которого неизбежно произойдёт развитие РАС. Как полагают авторы, значимость влияния этих факторов определяется тем, в какой момент он будет воздействовать и каким эффектом будет обладать [218].

По результатам ряда научных исследований последнего десятилетия, ведущим фактором, увеличивающим вероятность риска развития РАС, считается возраст родителей на момент зачатия ребёнка [128, 129, 154, 229]. Показано, что при повышении возраста отцов и матерей на каждые 10 лет вероятность развития аутизма у ребёнка повышается на 18 и 21% соответственно [128]. Тем не менее имеются исследования, в которых связь возраста матери с риском развития РАС у ребёнка не установлена, но есть указания на связь с возрастом отца [130, 242]. Также учёные исследовали совместное влияние возраста матери и отца на риск развития РАС у ребёнка [129]. Было отмечено, что риск развития РАС повышается в семьях с большой разницей в возрасте родителей [129]. Наибольший риск развития РАС у потомства наблюдался в парах, где отец старше 45 лет, а мать младше на 10 и более лет и, наоборот, возраст матери составлял 30-39 лет, а отца на 10 лет меньше.

В публикации также отмечено, что более молодой возраст матери (младше 20 лет) также является фактором риска развития РАС [129].

Вторыми по вкладу факторами, повышающими риск развития РАС, признаны разнообразные пре-, пери- и постнатальные факторы. Течение беременности и родов, влияние патологических внешних предикторов на период формирования плода и тонкой организации структур головного мозга могут способствовать развитию РАС [242, 31, 234, 241, 100, 81].

В научных исследованиях описано влияние на риск развития РАС вирусных инфекций, таких как вирус краснухи, цитомегаловирус (ЦМВ), вирус простого герпеса (ВПГ) 1 и 2-го типов, перенесённых женщиной во время беременности. Вирусы приводят к патологической активации Т- и В-лимфоцитов, что сопровождается избыточной продукцией цитокинов и аутоантител, способных нарушать развитие головного мозга у плода [136, 1, 214, 217, 212, 177, 153]. Причём выявлен механизм развития аутоантител к антигенам нервной ткани путём трансплацентарной миграции во время внутриутробного периода из материнского организма к плоду [51]. Вместе с тем в одной научной работе учёные опровергают связь между вирусной инфекцией и риском развития РАС. Исследователи объясняют это разной «иммунной реактивностью» организма матери на вирусную и бактериальную инфекции [198].

Имеются публикации, в которых доказано влияние токсических метаболитов при эндокринной патологии у беременной женщины на функции развивающихся нейронов у плода [215, 182]. Результаты научных исследований показали, что риск развития аутизма на 23% выше при наличии у матери сахарного диабета во время беременности. Метаболические нарушения при гипергликемии приводят к недостаточному кровообращению плаценты и не только влияют на сам процесс вынашивания ребёнка, но и приводят к гипоксии и воздействию токсических метаболитов на функционирование и развитие нейронов [216]. Тиреоидит с гипофункцией щитовидной железы и низкий уровень гормона тироксина (Т4) на ранних сроках беременности также повышают риск рождения ребёнка

с синдромом дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), аутизмом, эпилепсией [215, 182, 216, 273].

Среди акушерской патологии во время беременности на риск развития РАС, по мнению исследователей С. К. Walker et al. (2015), А. Modabbernia et al. (2016), D. J. O. Driscoll et al. (2018), оказывают весомое влияние ФПН, преэклампсия, многоводие, маловодие, обвитие пуповиной, длительный безводный период и переносная беременность. По заключению авторов, данные патологические состояния приводят к внутриутробной или перинатальной гипоксии с развитием ишемии и рождению ребёнка не только с неврологическими нарушениями, но и с социальным дефицитом [242, 241, 220, 195, 240] в связи с чрезмерной чувствительностью развивающихся (фетальных) тканей к гипоксии.

В современных исследованиях в области перинатальной психиатрии отмечается, что естественное начало родовой деятельности во многом является наиболее благоприятным условием для правильного формирования функций головного мозга. В одном научном исследовании установлено, что недоношенные дети более уязвимы к аллергическим, инфекционным и стрессовым факторам, которые могут стимулировать образование аутоантител против белков головного мозга, тем самым способствуя развитию воспаления отдельных участков головного мозга и запуску патогенетического механизма развития РАС [235]. В другой публикации зарубежных учёных показана прямая зависимость между стимуляцией родовой деятельности окситоцином и вероятностью рождения детей с аутизмом [206]. В свою очередь, имеется научное исследование, в котором не найдено достоверной связи между стимуляцией родов и риском развития РАС [252].

Вместе с тем, шведские учёные в своём исследовании [137] продемонстрировали связь риска развития РАС с характером родоразрешения. Исследователи утверждают, что среди детей, родившихся с помощью кесарева сечения, случаи аутизма и СДВГ встречаются чаще на 33% и 17% соответственно. Риск развития РАС у детей, рождённых с помощью операции кесарева сечения, авторы объясняют отсутствием контакта ребёнка с бактериями, населяющими родовые пути матери.

По мнению учёных, дефицит нормальной микрофлоры, получаемой ребёнком от матери во время естественных родов, оказывает отрицательное влияние на развитие иммунной системы, что потенциально может привести к формированию патогенетических аутоиммунных процессов с последующим влиянием на работу головного мозга. Также дети, родившиеся в результате кесарева сечения, не испытывают «стресс рождения», связанный с естественными родами, тем самым, как полагают авторы исследования, это негативно сказывается на сенсорном развитии ребенка [137]. В то же время найдена научная работа, в которой опровергается влияние кесарева сечения на риск развития РАС [242].

Интерес представляют публикации, в которых показаны результаты изучения длительности грудного вскармливания как фактора, снижающего риск развития РАС [211, 196]. По мнению авторов Ping Tao Tseng et al. (2019), длительное кормление грудью (не менее 6 месяцев) снижает риск проявлений РАС [211]. Физиологические механизмы влияния грудного вскармливания на риск развития РАС имеют разные объяснения. С одной стороны, у младенцев, находящихся на грудном вскармливании, происходит увеличение уровня инсулиноподобного фактора роста (IGF) в сыворотке крови, который участвует в синтезе миелина, необходимого для эффективной передачи нервного импульса, с другой стороны – грудное вскармливание способствует формированию правильной иммунной реактивности у ребёнка [211]. У детей, получающих грудное вскармливание, в крови отмечался более высокий уровень содержания интерферона-гамма (IFN- γ), который участвует в регуляции врождённого и приобретённого иммунитета [211]. Дети с РАС, напротив, имели низкие значения интерферона-гамма [211]. В другом исследовании показано, что у детей при грудном вскармливании определяется более высокий уровень синтеза окситоцина в головном мозге [156], что может оказывать влияние на сенсорное развитие и поведенческие реакции.

В доступной литературе Российской Федерации найдено небольшое количество исследований, изучающих влияние пре-, перинатальных факторов, значимо повышающих риск развития РАС, среди которых ведущее место занимают возраст матери

и отца, недоношенность плода и гипоксия [31], преждевременные роды, асфиксия плода, длительный безводный период [100], тошнота и рвота женщины в период беременности, патология эндокринной и репродуктивной систем [81].

Несмотря на имеющиеся исследования, в которых показано влияние разнообразных пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов на риск развития РАС, в научных работах последних лет акцентируется внимание на том, что РАС – это многофакторные расстройства, развитие которых обусловлено влиянием комбинации факторов – генетических и факторов внешней среды [205, 174]. В свою очередь, факторы внешней среды выступают лишь как «стрессоры», повышающие вероятность развития РАС.

В Республике Беларусь отсутствуют публикации, посвящённые изучению пре-, пери- и постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при наличии полиморфизма генов фолатного цикла, что и обуславливает актуальность исследования.

1.4. Факторы, влияющие на степень выраженности клинических проявлений расстройств аутистического спектра

Существенной проблемой в диагностике РАС является понимание и определение степени тяжести аутистических признаков [265, 92]. В действующей МКБ-10 РАС входят в рубрику «Общие расстройства психологического развития» (F84.0) и не имеют диагностических критериев для интерпретации степени выраженности клинических проявлений РАС, а также различий между понятиями «аутизм» и «спектр аутизма» [77].

В свою очередь, в диагностическом статистическом руководстве пятого пересмотра (DSM-5, 2013) уточняется, что РАС имеют разные степени тяжести в зависимости от выраженности клинических проявлений, уровня развития интеллекта, хронологического возраста ребёнка, и поэтому используется термин «спектр аутизма» [209, 167]. В DSM-5 представлен подход к оценке степени тяжести РАС, которая не является количественной категорией, а показывает в какой степени присутствуют ограничения жизнедеятельности и социальной

дезадаптации из-за симптомов РАС, в связи с чем, как полагают исследователи, показатель степени тяжести не может быть использован с целью оценки эффективности применения лечебно-коррекционных мероприятий [181, 161, 101]. В зарубежной клинической практике чаще всего степень тяжести РАС, согласно DSM-5, рассматривается как степень когнитивных нарушений у ребёнка [181, 161, 101] при определении профиля обучения.

По мнению учёных, определение степени тяжести РАС вызывает значительные затруднения в связи с разной выраженностью и динамичностью клинических проявлений данных расстройств развития [173]. Как показано в научных исследованиях, существуют так называемые «подпороговые показатели» [166, 163], то есть такая степень проявления признака, которая позволяет зафиксировать её, но не позволяет выставить клинический диагноз, так как степень выраженности основных клинических проявлений РАС (нарушения коммуникации и социального взаимодействия) может сглаживаться в зависимости от возраста ребёнка, а повторяющееся поведение изменяться по причине взросления или в результате применения коррекционных мероприятий [265, 39, 5, 268]. В связи с этим учёные условно выделяют два понятия: «узкий фенотип» и «широкий фенотип» [39, 163, 268]. К «узкому фенотипу» относят такую степень проявлений признаков РАС, которая по своей выраженности соответствует основным диагностическим критериям и позволяет с высокой степенью достоверности выставить диагноз РАС. В «широкий фенотип» включают клинические проявления меньшей степени выраженности признаков РАС, относящихся к группе «спектра аутизма», нередко в сочетании с иными коморбидными психическими расстройствами [265, 163, 5, 268], что и затрудняет раннюю диагностику РАС.

Учёные, изучающие проблему ранней диагностики РАС, подчёркивают, что определение степени выраженности клинических признаков аутистических расстройств является не только важным диагностическим этапом в установлении диагноза РАС, но и «первым шагом к планированию и определению индивидуальных коррекционных мероприятий, подбору уровня программ реабилитации, формулированию рекомендаций

по организации обучения, что в целом оказывает существенное влияние на когнитивное, речевое, поведенческое и адаптивное функционирование ребёнка» [92, 39, 4, 200, 83, 38].

В современной психодиагностической практике используется ряд психометрических инструментов, позволяющих проводить количественную оценку определения степени тяжести РАС. Российскими авторами была разработана «Шкала количественной оценки детского аутизма» (ШКОДА), которая позволяет оценивать выраженность «синдрома детского аутизма» и предназначена для обследования детей в возрасте от 6 до 12 лет [121, 120, 119].

Рейтинговая шкала детского аутизма (The Childhood Autism Rating Scale – CARS) широко используется в США [162], а в последние годы и в Российской Федерации для определения степени тяжести аутистических проявлений у детей возраста двух лет и старше [29, 72, 104, 122]. В Республике Беларусь найдена одна инструкция по применению, описывающая использование шкалы CARS [75].

Современным диагностическим инструментом с высокой прогностической валидностью и надёжностью (на русском языке), позволяющим определять степень выраженности клинических признаков РАС у детей, является «План диагностического обследования при аутизме, второе издание» (Autism Diagnostic Observation Schedule, Second Edition, ADOS-2) [88, 191]. Согласно данному диагностическому инструменту, степень выраженности клинических признаков РАС может принимать следующие степени тяжести: минимальная, низкая, умеренная, высокая [88, 191, 266]. ADOS-2 позволяет определить, насколько сильно выражены клинические проявления РАС у данного конкретного ребёнка по сравнению с другими людьми с аутизмом того же возраста и уровня владения экспрессивной речью [88, 191, 266].

В зарубежных странах, а в последние годы и в Российской Федерации информация о применении ADOS-2 как диагностического инструмента для определения степени тяжести РАС достаточно широко представлена в научных публикациях [104, 191, 266, 107, 106, 178]. В Республике Беларусь в доступной научной литературе исследований, описывающих применение ADOS-2 для определения степени тяжести клинических проявлений РАС, найти не удалось.

Следует отметить, что определение степени тяжести по шкале CARS значительно отличается от определения степени выраженности клинических проявлений РАС по ADOS-2, так как, по мнению специалистов в области психодиагностических исследований, шкала CARS скрининговая, а не диагностическая [106] и используется для определения степени выраженности аутистических признаков на этапе выявления «групп риска» по развитию РАС.

На сегодняшний день у учёных нет единого мнения о тех факторах, которые определяют степень выраженности клинических проявлений РАС. Имеется лишь небольшое число научных исследований, изучающих факторы, оказывающие влияние на степень тяжести РАС [279, 250, 263].

В одном из исследований показана зависимость тяжести аутистических проявлений и «синдромных» мутаций [279], а в другом – влияние пола ребёнка и возраста отца на степень выраженности клинических проявлений РАС. Авторы утверждают, что у мальчиков отмечаются более тяжёлые формы аутистических проявлений, чем у девочек. В свою очередь, чем старше отец на момент зачатия ребёнка, тем тяжелее могут быть нарушения в спектре аутизма у ребёнка [250]. Учёные объясняют тяжесть аутистических проявлений количеством мутаций, возникающих по мере старения гамет у родителей [130].

Группой авторов из Австралии отмечено, что на степень выраженности аутизма оказывают влияние гормональные изменения у матери. Установлено, что у детей, чьи матери страдали от сильной рвоты в первом или втором триместрах беременности, симптомы аутизма были выражены сильнее. Авторы полагают, что воздействие «нетипичной гормональной среды» во время перинатального периода может патологически повлиять на развитие нервной системы и способствовать развитию более тяжёлого фенотипа РАС у ребёнка [263].

В ряде публикаций установлена связь нескольких пренатальных и перинатальных факторов со степенью тяжести РАС. Учёные указывают, что на тяжесть аутистических признаков, а именно на социальное взаимодействие и стереотипное поведение, оказывают влияние преэклампсия, многоводие, маловодие, предлежание плаценты, истинный узел пуповины [241],

гестационный диабет [135], которые во внутриутробном периоде способствуют развитию гипоксии. Авторы поясняют, что с увеличением количества сочетаний пренатальных, перинатальных факторов степень выраженности симптомов аутизма увеличивается [242, 241, 135].

Несколько научных работ посвящены изучению влияния иммунных механизмов на степень тяжести клинических признаков РАС [272, 131]. Так, группой исследователей В. Abdellatif et al. (2020) установлена зависимость тяжести поведенческих, эмоциональных нарушений у детей с РАС и желудочно-кишечных симптомов. Авторы уточняют, что нормальный микробиоценоз кишечника важен для созревания лимфоидной ткани, которая опосредует местные и системные иммунные реакции и, следовательно, необходима как для врождённого, так и для приобретённого иммунитета. В исследовании установлена причинно-следственная связь между желудочно-кишечными симптомами (хроническая диарея, запор, рвота, отсутствие аппетита и др.), нарушением микробиоценоза кишечника и раздражительностью, плаксивостью, агрессией у детей с РАС. Исследователи указывают на высокий процент наличия эмоциональных и поведенческих проблем, а также желудочно-кишечных нарушений у детей с РАС при дисбалансе микробиоценоза кишечника и уменьшение их выраженности при терапии пробиотиками [272]. Однако следует отметить, что в данном исследовании авторы оценивают лишь некоторые эмоциональные и поведенческие нарушения у детей с РАС, а не степень тяжести основных клинических признаков РАС.

S. Al-Mazidie et al. (2020) в своей работе указывают на корреляцию между уровнями синаптических белков (α -синуклеина и γ -синуклеина), которые играют важную роль в регуляции работы нейромедиаторов и синаптической пластичности, с тяжестью клинических проявлений РАС. Как показали результаты исследования, уровни α -синуклеина в плазме крови были значительно выше в группе детей с РАС, чем у здоровых детей. Также установлено, что уровни α -синуклеина и γ -синуклеина в плазме крови коррелируют со степенью тяжести аутизма по шкале CARS. Наблюдалось

значительное повышение уровней α -синуклеина в плазме крови в подгруппах детей с умеренной и тяжёлой степенью РАС [131].

Имеется небольшое количество зарубежных научных работ, в которых продемонстрированы противоречивые результаты исследования о влиянии мутантных генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла на степень тяжести РАС. В этих исследованиях авторы оценивали степень выраженности клинических признаков РАС с помощью шкалы CARS и сравнивали распределение генотипов полиморфизма C677T и A1298C гена MTHFR [262, 133].

В исследованиях учёных кафедры медицинской биологии университета Erciyes (Турция) продемонстрирована связь между гомозиготным генотипом T/T локуса C677T гена MTHFR и некоторыми клиническими проявлениями расстройств в спектре аутизма. Авторы установили, что дети с РАС, у которых выявлялся мутантный гомозиготный генотип T/T гена MTHFR обнаруживали больше поведенческих проблем, чем те, у которых отмечался генотип C/C по дикому типу. В клинической картине у детей с РАС, которые являлись носителями мутантной гомозиготы T/T, отмечалась выраженная аутоагрессия и разрушающее поведение [255], но при этом учёные указывают лишь на отдельные поведенческие нарушения у детей с РАС [255].

В научных публикациях Российской Федерации и Республики Беларусь не удалось найти исследований, изучающих связь полиморфизмов генов фолатного цикла со степенью тяжести типичных клинических признаков РАС (нарушения в социальном взаимодействии и коммуникации, ограниченные интересы, стереотипные паттерны поведения). В зарубежных литературных источниках представлены немногочисленные разноплановые научные исследования, изучающие факторы, влияющие на степень тяжести РАС, которые в большинстве случаев связывают их с эмоциональными или поведенческими нарушениями у детей с РАС.

1.5. Проблема ранней диагностики расстройств аутистического спектра

Проблема ранней диагностики РАС связана прежде всего с трудностями в выявлении и определении степени выраженности их клинических признаков у детей раннего

возраста, с ограниченным применением объективных методов диагностики, а также отсутствием единого алгоритма для раннего выявления «групп риска» и диагностики РАС у детей до трёх лет [161, 101, 173, 39, 4, 83, 66, 79, 57, 58, 9].

В странах СНГ в психиатрической практике РАС диагностируются, как правило, после трёх лет в связи с отсутствием единого подхода к ранней диагностике и раннему вмешательству применительно к детям с РАС [66, 79, 57, 58, 9, 152, 64, 34, 59]. Тем не менее в научных исследованиях доказано, что первые симптомы РАС в 41,9% случаев очевидны уже между 7 и 12 месяцами, а в 27,6% – между 13 и 24 месяцами [34, 175, 264, 259, 201].

В многочисленных исследованиях подчёркивается важность ранней диагностики РАС в связи с тем, что несвоевременная диагностика усугубляет течение РАС, увеличивает риск формирования коморбидных расстройств и риск инвалидности. В свою очередь, выявление РАС у детей раннего возраста даёт возможность эффективного применения медико-коррекционных мероприятий и минимизации аутистических проявлений [161, 107, 66, 57, 58, 9, 152, 64, 34, 230, 180, 168, 160, 112, 80, 185].

Американской академией педиатрии (American Academy of Pediatrics, AAP) и Академией детской и юношеской психиатрии (American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, AACAP) рекомендовано начинать раннюю диагностику РАС с проведения двухуровневого скрининга. Первый уровень скрининговой диагностики направлен на выявление нарушений в общем развитии ребёнка и проводится в возрасте 6, 9, 12 и 24 месяцев. Второй уровень скрининга предполагает выявление детей с риском развития РАС и проводится на 18 и 24 месяце жизни ребёнка [161, 64, 259, 201, 186].

В Российской Федерации приняты изменения и дополнения в Закон Минздрава России от 13 июня 2019 г. № 396н «О внесении изменений в Порядок проведения профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних» [29, 112], которые предполагают проведение скрининга на выявление группы риска возникновения или наличия нарушений в психическом развитии. Причём скрининг рекомендовано проводить путём анкетирования родителей детей с последующим

осмотром детей, достигших возраста двух лет, врачом-психиатром. В Республике Беларусь внесены изменения в Закон № 2435-XII от 21.07.2021 «О здравоохранении» для осуществления раннего вмешательства, направленного на выявление детей с нарушениями развития или риском появления таких нарушений в возрасте до трёх лет [84].

Для выявления детей с риском развития РАС, как правило, используются скрининговые методики, которые не требуют специализированного обучения и могут быть использованы родителями, воспитателями, социальными работниками, педагогами, врачами общей практики, педиатрами, неврологами. В зарубежных странах, а также в Российской Федерации широко используются различные скрининговые инструменты, среди которых наиболее широко применяются Скрининговый тест на аутизм у детей (Check list for Autismin Toddlers – CHAT) и его модификация – Модифицированный скрининговый тест на аутизм у детей (Modified Check list for Autismin Toddlers M-CHAT) [245, 179, 171, 275, 170], рейтинговая шкала детского аутизма (The Childhood Autism Rating Scale – CARS) [254, 73], социально-коммуникативный опросник (Social Communication Questionnaire – SCQ) [99, 173], опросник расстройств аутистического спектра (Check list for Autism Spectrum Disorder – CASD) [105, 176].

Кроме того, российские авторы предлагают свои скрининговые методики и анкеты для выявления риска развития РАС [29, 123, 125, 97, 49, 62, 48, 93]. Российские учёные М. В. Иванов, Н. В. Симашкова, Г. В. Козловская разработали «Скрининговую анкету для родителей по выявлению риска возникновения нарушений психического развития у детей раннего возраста». Анкета представляет собой перечень из 35 вопросов, затрагивающих психопатологические проявления в раннем возрасте и основные сферы психического и психологического развития ребёнка: инстинктивно-вегетативную и сенсорную сферу, биопсихосоциальную систему (диадy) «мать-дитя», эмоциональную и познавательную сферу, социальное взаимодействие [125, 97, 49].

Для комплексной оценки уровня нервно-психического развития детей раннего возраста авторами Г. В. Козловской,

М. А. Калининой, А. В. Горюновой предложен психодиагностический тест «Гном» с целью исследования сенсорной функции, состояния моторики, эмоционально-волевой сферы, волевых и познавательных функций, поведенческих реакций [62].

В Российской Федерации широко применяется разработанная К. С. Лебединской и О. С. Никольской диагностическая карта для детей до двухлетнего возраста при предположении у них аутизма, которая учитывает особенности развития ребёнка в вегетативной, моторной и поведенческой сфере, а также оценивает развитие речи, общения, игровой деятельности, навыков социального поведения. Всю информацию исследователь получает путём опроса родителя [29].

Предложена также схема обследования аутичного ребёнка (по Е. С. Иванову), которая включает в себя сбор информации от родителей об особенностях протекания перинатального и постнатального периода, соматического состояния ребёнка, а также сведения о нарушениях в психофизическом развитии, неврологическом обследовании и оценке развития познавательной сферы [48].

Группой авторов разработан «Алгоритм и протокол педагогического обследования детей с расстройствами аутистического спектра», который предполагает оценку и обследование личностных и социальных компетенций, навыков и особенностей поведения ребёнка в ходе беседы с родителями [93].

В Республике Беларусь применение скрининговых шкал с целью выявления риска развития РАС у детей предложено лишь в одной инструкции по применению [75]. В некоторых научных исследованиях указано, что скрининговые шкалы имеют хорошие показатели диагностической стабильности у детей, у которых в возрасте от 18-36 месяцев были выявлены признаки РАС [176, 244]. Тем не менее во многих научных публикациях приводятся сведения о низкой чувствительности скрининговых инструментов и указание на то, что ранний скрининг не позволяет проводить одномоментное выявление РАС, что требуется более длительное наблюдение за детьми из групп риска и разработка научно обоснованных программ и алгоритмов для сопровождения таких детей с целью повышения качества ранней диагностики РАС [147, 238, 203, 271, 63, 183].

В зарубежной психиатрической практике при попадании ребёнка в группу риска развития РАС проводится клиническая диагностика и оказание услуг службой раннего вмешательства или специального обучения (в зависимости от возраста пациента) [161, 9, 64]. Для верификации диагноза РАС в зарубежных странах широко используют «Интервью для диагностики аутизма, пересмотренное, ADI-R» [98] – подробное полуструктурированное интервью для родителей и «План диагностического обследования при аутизме, второе издание, ADOS-2» [88]. Структурированное наблюдение за клиническими проявлениями РАС и степенью их выраженности в процессе клинической оценки позволяет понять, насколько данный случай соответствует критериям DSM-5 [161].

В Республике Беларусь и Российской Федерации диагноз «расстройств аутистического спектра» выставляется на основании диагностических критериев МКБ-10. Однако согласно российским клиническим рекомендациям по РАС (2020) рекомендовано применять «План диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» и «Интервью для диагностики аутизма, пересмотренное, ADI-R» [98] для повышения качества диагностики, особенно у детей раннего возраста. Причём исследование прогностической валидности ADOS-2 показало применимость инструмента на русском языке с допустимыми значениями чувствительности и положительной прогностической значимости больше 80% [107]. Авторы, адаптировавшие метод на русский язык, подчёркивают, что применение ADOS-2 можно рекомендовать в исследовательских и клинических целях специалистам медицинского и психолого-педагогического профиля [107]. Кроме того, в научных исследованиях показана высокая клиническая ценность применения данного инструмента в диагностике аутизма для русскоязычного населения [102, 85, 40, 41, 42, 109, 169, 10].

Имеется ряд русскоязычных научных исследований, в которых описаны методы и алгоритмы, повышающие качество ранней диагностики РАС [34, 86, 52, 110]. Так, в исследовании, проведенном в 2018 году под руководством Н. Л. Горбачевской, предлагается проводить диагностику РАС с помощью нейрофизиологического метода. Показано, что можно разграничить

детей с РАС и детей с низким риском РАС с вероятностью около 100% по данным электроэнцефалографического картирования [86]. Автором также предложен «Протокол пошаговой диагностики расстройств аутистического спектра», который включает шесть этапов. На первом этапе с помощью скрининговых методов определяются подозрения на наличие РАС с последующим обращением к врачу-психиатру для верификации диагноза. Второй этап предполагает всестороннее неврологическое обследование ребёнка с целью исключения эпилептических нарушений. На третьем, четвертом и пятом этапах проводятся генетические исследования с целью исключения синдрома ломкой X-хромосомы, мутаций гена MeCP2, геномных аномалий и вариаций генома (copy number variations). На заключительном этапе с помощью шкал и опросников осуществляется диагностика нарушений развития при аутизме для построения образовательного маршрута [34, 110]. Также российскими учёными разработан «Нейро-иммуно-тест», позволяющий определять ряд показателей иммунитета – воспалительных и аутоиммунных маркеров: энзимопатическую активность лейкоцитарной эластазы, альфа 1-протеиназного ингибитора, уровень аутоантител к нейроантигенам, что важно, как утверждают авторы, при оценке состояния иммунной системы у детей с РАС [52].

Группой исследователей Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр психического здоровья» (г. Москва) разработан алгоритм диагностического выявления детей группы риска по наличию умственной отсталости, сцепленной с ломкой X-хромосомой. Данное генетическое заболевание часто рассматривается учёными как «синдромный аутизм», в клинической картине которого есть симптомы аутистического спектра [110].

В Республике Беларусь группой авторов из ГУ «РНПЦ психического здоровья» разработан «Метод комплексной диагностики расстройств аутистического спектра у детей» (2018), который предполагает выявление аутистической симптоматики с помощью «Рейтинговой шкалы аутизма у детей» (Children Autistic Rating Scale, CARS) и оценку клинико-функциональных нарушений с помощью «Шкалы клинико-функциональных нарушений при РАС» у детей в возрасте 2-10 лет. Также метод

позволяет определить и оценить выраженность речевых нарушений по методу «Определение речевых нарушений у детей 4-7 лет с аутизмом». В последующем проводится молекулярно-генетическое исследование на выявление мутаций гена металлотионеина [75].

Несмотря на широкое применение скрининговых инструментов и имеющихся немногочисленных методов ранней диагностики РАС, большинство исследователей руководствуются неструктурированными данными, источниками которых, как правило, являются сами родители и которые могут быть разрозненными и недостоверными, что нередко приводит к субъективной оценке наличия тех или иных признаков РАС, особенно у детей раннего возраста [107, 232]. Также недостаточное применение диагностических инструментов, имеющих высокую достоверность в диагностике РАС, врачами-специалистами, медицинскими психологами приводит не только позднему выявлению данных расстройств, но и к гипердиагностике [9].

Следует отметить, что методы генетического анализа не имеют широкого распространения из-за отсутствия специфичности и разнообразия их участия в этиопатогенезе РАС и считаются дополнительными. В Республике Беларусь имеется одно исследование, посвящённое изучению мутаций гена металлотионеина, участвующего в развитии не только РАС, но и нарушений иммунной системы, желудочно-кишечных расстройств. Данных о применении стандартизированного метода диагностики РАС ADOS-2 в Республике Беларусь в доступной литературе найти не удалось. Отсутствуют научные исследования, посвящённые оценке участия пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла.

Таким образом, в Республике Беларусь не разработан алгоритм раннего выявления «групп риска» для диагностики РАС с учётом комплексной оценки генетических (полиморфизма генов фолатного цикла), пренатальных, перинатальных, постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, с применением стандартизированного психодиагностического инструмента, что является актуальной и значимой задачей.

ГЛАВА 2

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ПРОБЛЕМЫ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

РАС относились ранее к психозам детского возраста и рассматривались, как вариант шизофрении. За последние два десятка лет в диагностике и лечении РАС произошел существенный сдвиг. Последние научные достижения в области психиатрии, генетики и биологии показали, что аутизм является первазивным расстройством развития, подразумевающим достаточно широкую вариабельность клинических проявлений, затрагивающим все сферы психики вследствие биологической дефицитарности ребенка и требующим разработки новых, более точных и эффективных диагностических инструментов.

С введением МКБ-10 расширились диагностические критерии и были дифференцированы новые формы РАС. В соответствии с диагностическими критериями МКБ-10, РАС относятся к разделу «Расстройства психологического развития» (F8), основу которых определяют нарушения, характеризующиеся расстройством социальной адаптации и общения в сочетании со стереотипными интересами и действиями: детский аутизм (F84.0); атипичный аутизм (F84.1); синдром Ретта (F84.2); другое дезинтегративное расстройство детского возраста (F84.3); гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями (F84.4); синдром Аспергера (F84.5).

В процессе исследования были изучены особенности полиморфизма генов фолатного цикла у детей с РАС, их клинические проявления, а также определено влияние пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов на формирование и риск развития РАС, и полиморфизмов генов фолатного цикла на степень тяжести клинических проявлений РАС. Проведена оценка комбинации факторов, ассоциированных с риском развития РАС, и разработан алгоритм выявления «групп риска» для ранней диагностики РАС. Объектом исследования

служили дети в возрасте 2-10 лет с РАС (исследовательская группа) и психически здоровые дети в возрасте 2-10 лет (контрольная группа).

Клинико-диагностические исследования РАС проводились на базе детского отделения учреждения здравоохранения «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-наркология» в период с 2016 по 2020 год. Детское отделение УЗ «ГОКЦ «П-Н» – это единственное медицинское учреждение на территории Гродно, где оказывается стационарная помощь детям с психическими и поведенческими расстройствами, в том числе и с РАС.

В исследование были включены 188 детей. В соответствии с дизайном исследования были выделены исследовательская (основная) группа, в которую первоначально были включены 103 пациента с РАС, проходивших обследование в УЗ «ГОКЦ «П-Н», направленных с предварительным диагнозом РАС. В последующем один ребёнок был исключён из исследования: после верификации диагноза с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» диагноз РАС не подтвердился. Группа составила 102 ребёнка с РАС; контрольная группа здоровых детей, в которую были включены 85 человек, проходивших обследование в учреждении здравоохранения «Детская центральная городская клиническая поликлиника г. Гродно». Итого в исследовании приняли участие 187 детей.

Целевая выборка исследовательской (основной) группы формировалась методом направленного отбора в соответствии со следующими критериями: письменное информированное согласие родителя или законного представителя пациента на участие в исследовании; наличие диагноза «расстройств аутистического спектра» (F84) в соответствии с исследовательскими диагностическими критериями МКБ-10; женский, мужской пол; возраст от 2 до 10 лет.

Проведена этическая экспертиза материалов исследования, получено разрешение этического комитета на проведение исследования с участием несовершеннолетних. За несовершеннолетних информированное согласие давали родители. Отдельно для участников предоставлялась информация о целях и методах настоящего исследования.

Критериями исключения для обеих групп служили отказ родителя или законного представителя пациента от участия в исследовании; сопутствующая острая и хроническая соматическая патология; врождённые пороки развития внутренних органов и дефекты развития органов слуха и зрения (глухота, слепота); хромосомные и наследственные заболевания; для исследовательской группы ещё один критерий – коморбидные психические расстройства.

Оптимальный объём репрезентативной выборки в данном исследовании рассчитывали исходя из ошибки α (I типа – не более 5%), ошибки β (II типа – не более 20%) и мощности исследования – 80%. В таблице 2.1 представлено распределение РАС у детей основной группы с учётом половой принадлежности.

Таблица 2.1 – Распределение РАС у детей основной группы с учётом половой принадлежности

Клиническая форма РАС	Мальчики, абс. (%)	Девочки, абс. (%)
Детский аутизм	75 (73,5)	11 (10,8)
Атипичный аутизм	9 (8,8)	5 (4,9)
Синдром Аспергера	2 (2)	0 (0)

Группы детей, включённых в исследование, были сопоставимы по полу ($p>0,05$) и возрасту ($p>0,05$) (таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Характеристика обследуемых детей в группах, включённых в исследование

		Основная группа (n=102)	Контрольная группа (n=85)	Критерий Манна-Уитни, U; p
Мальчики, абс. (%)		86 (84,3)	48 (56,4)	1953; 0,609
Девочки, абс. (%)		16 (15,6)	37 (43,5)	282,5; 0,795
Возраст, лет Me [25%-75%]	мальчики	5 [4-7]	6 [4-7,5]	1953; 0,603
	девочки	4,5 [4-7]	5 [3-7]	282,5; 0,798

Предметом исследования служили полиморфизм генов фолатного цикла, степень тяжести клинических проявлений РАС, пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития РАС, при полиморфизме генов фолатного цикла.

Достоверность сведений, полученных от родителей, родственников и опекунов пациентов устанавливалась с помощью документации, выявлялась информация об определении группы инвалидности и формы обучения. По медицинской документации устанавливались данные о возрасте первичных обращений пациентов, сведения о методах терапии и коррекции, формах поликлинического учета, выбытии пациентов.

В соответствии с поставленными задачами исследование состояло из четырёх этапов. *Первый этап.* На данном этапе с целью уточнения диагноза РАС и определения степени тяжести клинических проявлений РАС выполнялось обследование детей основной группы с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» с учётом возраста обследуемого и уровня владения экспрессивной речью; с целью выявления генетических факторов риска РАС выполнялось молекулярно-генетическое исследование методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), направленное на установление характера распределения гомозиготных, гетерозиготных генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла у детей основной и контрольной групп. Выявленные особенности полиморфных вариантов генов фолатного цикла у 102 детей с РАС сравнивались с характером распределения полиморфных вариантов генов фолатного цикла у 85 детей контрольной группы.

Второй этап исследования был направлен на определение пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла. С этой целью была разработана карта для регистрации особенностей протекания пренатального, перинатального и постнатального периодов у детей с РАС (основная группа) в сравнении с группой здоровых детей (контрольная группа). Информация была получена путём клинической беседы и сбора анамнеза у матерей детей обеих

групп. Кроме того, источником информации служила медицинская документация (медицинская карта стационарного пациента, медицинские карты амбулаторного пациента – психиатрическая и педиатрическая, выписной эпикриз новорождённого, история родов, выписка из истории родов).

На третьем этапе с помощью статистических методов изучена связь между распределением полиморфных вариантов генов фолатного цикла со степенью тяжести клинических проявлений РАС. *На четвёртом этапе* на основании построения математической модели была установлена комбинация генетических факторов (генотипов генов фолатного цикла), ассоциированных с риском развития РАС. Определены пре-, перинатальные факторы (гипоксия и угроза прерывания беременности), которые повышают риск развития РАС при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла. На основании полученных результатов был разработан алгоритм выявления «групп риска» для осуществления раннего вмешательства, направленного на диагностику РАС.

Исследование проведено с помощью клинико-психопатологического метода, анамнестического, молекулярно-генетического, психодиагностического и методов статистической обработки и анализа. Клинико-психопатологический и анамнестический методы исследования включали клиническую беседу с родителями или законными представителями ребёнка, при наличии речи у ребёнка – с самим ребёнком, и наблюдение. На каждого участника исследования заполнялась карта, включающая анамнестические сведения о ребёнке, особенности течения беременности и родов у матери (угроза прерывания, ФПН, преэклампсия, перенесённые инфекции, применение родостимуляции, длительность безводного периода, наличие гипоксии плода, обвитие пуповиной). Учитывался способ родоразрешения и применения анестезии в родах. Устанавливались неблагоприятные факторы, выявленные в ранний неонатальный период развития детей (врождённые пороки развития, перенесённые инфекции, травмы). Оценивался характер и длительность грудного вскармливания ребёнка. Карта также включала данные об особенностях моторного и психического развития, о соматическом состоянии ребёнка,

о сроках и обстоятельствах появления особенностей в психическом развитии ребёнка, психическое состояние ребенка на момент обращения к специалисту, жалобы со стороны родителей, особенности коррекционных мероприятий (если такие проводились), наличие сопутствующих заболеваний, наличие инвалидности. Кроме того, источником информации служила медицинская документация (медицинская карта стационарного пациента, медицинские карты амбулаторного пациента – психиатрическая и педиатрическая, выписной эпикриз новорождённого, история родов, выписка из истории родов – архив учреждения здравоохранения «Городская поликлиника № 5 г. Гродно»).

С целью уточнения диагноза и верификации степени выраженности клинических проявлений РАС использовался «План диагностического обследования при аутизме, ADOS-2». Перевод на русский язык и адаптация «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» проведена сотрудниками научной лаборатории Федерального ресурсного центра по организации комплексного сопровождения детей с расстройствами аутистического спектра Московского государственного психолого-педагогического университета А. Сорокиным, Е. Давыдовой, К. Салимовой при участии Е. Пшеничной, под общей редакцией А. Б. Сорокина в 2016 году. Издательство: Giunti OS Organizzazioni Speciali [88]. Данные по адаптации метода представлены в руководстве ADOS-2 [88]. Автором лично проводилась диагностика и определение степени выраженности клинических проявлений РАС после предварительного специализированного обучения в г. Москва с получением сертификата. В исследовании использовался оригинальный комплект диагностического метода ADOS-2, стимульных материалов и бланков для фиксации и интерпретации результатов исследования.

Проведение ADOS-2 осуществлялось в помещении, подготовленном согласно инструкциям, данным в руководстве. Модуль для проведения обследования выбирался в соответствии с уровнем владения экспрессивной речью и возрастом ребёнка: модуль 1 применялся для детей, которые не использовали фразовую речь для общения (31 месяц и старше); модуль 2 –

для детей, которые использовали фразовую речь, но не говорили бегло; модуль Т – для детей ясельного возраста (от 12 до 30 месяцев); модуль 3 – для бегло говорящих детей и подростков (от 2 до 15 лет).

При проведении обследований с применением модулей Т, 1 и 2 требовалось присутствие родителей обследуемого ребёнка или его законных представителей, которым предварительно с целью минимизации внешнего вмешательства в доступной форме разъяснялись цель обследования, правила поведения и взаимодействия с ребёнком во время обследования, согласно руководству ADOS-2.

Время проведения обследования составляло 40-60 минут. Обследуемому ребёнку последовательно предлагали задания в соответствии с выбранным модулем и инструкциями, данными в руководстве ADOS-2. Цель каждого задания – создать ситуации, в которых могут проявиться формы поведения, важные для диагностики РАС. При этом фиксировались отмеченные особенности поведения ребенка, которые находятся в «фокусе внимания» (особенности речи, невербальные формы общения, социальное взаимодействие и др.) либо являются необычными (нетипичные сенсорные и стереотипные формы поведения, необычные эмоциональные и поведенческие реакции).

Например, при выполнении задания «реакция на совместное внимание» оценивалась способность ребёнка проследить за взглядом взрослого. Во время каждого задания в определённый момент производилось неожиданное действие для ребёнка, которое предполагает определённую ответную реакцию. В задании «игра с мыльными пузырями» ребёнку предлагали пистолет для выпуска мыльных пузырей, но в последний момент отдергивали его, не позволяя ребёнку взять пистолет в руки. Как правило, дети без расстройств в спектре аутизма первым делом устанавливают с исследователем устойчивый зрительный контакт, выражают удивление в отличие от детей с РАС, которые не демонстрируют установление зрительного контакта с исследователем, а могут проявить агрессию, аутоагрессию, стереотипные раскачивания, выразить беспокойство либо продемонстрировать полную отстранённость.

Модуль Т включал 11 заданий: свободная игра, препятствие в игре, реакция на имя, игра с мыльными пузырями, ожидание привычных действий с предметами, ожидание привычных социальных действий, реакция на совместное внимание, ответная социальная улыбка, купание, функциональная и символическая имитация, угощение [88].

Модуль 1 включал 10 заданий (стимулов-прессов): свободная игра, реакция на имя, реакция на совместное внимание, игра с мыльными пузырями, ожидание привычных действий с предметами, ответная социальная улыбка, ожидание привычных социальных действий, функциональная и символическая имитация, празднование дня рождения, угощение [88].

Модуль 2 состоял из 14 заданий, которые предлагались ребёнку в процессе обследования: конструктивное задание, реакция на имя, игра понарошку, совместная интерактивная игра, беседа, реакция на совместное внимание, задание на демонстрацию, описание рисунка, составление рассказа по картинкам из книги, свободная игра, празднование дня рождения, угощение, ожидание привычных действий с предметами, игра с мыльными пузырями [88].

Согласно Модулю 3 предлагалось 14 более сложных заданий, которые рассчитаны для детей и подростков, бегло владеющих речью, более старших по возрасту: конструктивное задание, игра понарошку, совместная интерактивная игра, задание на демонстрацию, описание рисунка, составление рассказа по картинкам из книги, рассказ в картинках, беседа и сообщение, эмоции, социальные трудности и раздражение, перерыв, друзья, отношения и вступление в брак, одиночество, сочинение рассказа [88]. Отмеченные особенности поведения исследуемого ребёнка фиксировались в протоколе соответствующего модуля, и выставлялся шифр (0, 1, 2, 3, 7, 8, 9) в соответствии с критериями для выбора определённого шифра. Полученные шифры переносились в алгоритм соответствующего модуля и преобразовались в баллы согласно руководству ADOS-2. Затем полученные баллы суммировались по каждому разделу в протоколе: СА (социальный аффект), ОСП (ограниченные и стереотипные формы поведения),

подсчитывался общий балл (СА+ОПС). Общий «суммарный» балл позволял отнести исследуемого ребёнка к одной из следующих диагностических категорий: «аутизм», «спектр аутизма» и «вне спектра аутизма». В зависимости от величины «суммарного» балла определялся сравнительный балл, который позволял оценить степень выраженности клинических признаков, которая принимала следующие степени тяжести РАС: высокая, умеренная, низкая, минимальная или отсутствие симптомов РАС.

С помощью ADOS-2 можно определить степень тяжести клинических проявлений РАС у исследуемого ребёнка по сравнению с другими детьми с аутизмом того же возраста и уровня владения экспрессивной речью [88, 191, 266]. По результатам обследования по ADOS-2 на каждого исследуемого ребёнка составлялось заключение с подробным описанием выявленных особенностей его поведения, которые находились в «фокусе внимания» либо являлись необычными, с указанием диагностической группы и степени тяжести клинических признаков РАС.

Генотипирование полиморфизмов C677T, A1298C, A66G, A2756G генов фолатного цикла метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионин-синтазы-редуктазы (MTRR), метионин-синтазы (MTR) проводили в научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет». С данной целью осуществлялся забор венозной крови у детей обеих групп в количестве 2 мл в стандартную стерильную вакуумную одноразовую пробирку с голубой крышкой, содержащую 3,2% цитрата натрия. Соотношение компонентов смеси составляло: 1 часть цитрата натрия на 9 частей крови. Биологический материал доставлялся в лабораторию в течение двух часов.

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови осуществляли с помощью набора «ДНК-экстран-1» («Синтол», Россия). В пробирку типа «Эппендорф» с крышкой и замком вносили 1000 микролитров цельной крови. Затем пробирку центрифугировали со скоростью 3000 оборотов в минуту при комнатной температуре в течение 5 минут. После центрифугирования кровь разделялась на плазму и форменные

элементы. Удаляли пипеткой плазму, не захватив при этом лейкоциты, затем закрытую пробирку выдерживали при температуре минус 20°C до полного замораживания форменных элементов (в течение 1 часа). В последующем полностью размораживали содержимое пробирки при комнатной температуре и вносили в пробирку реактив «ДНК-экспресс-кровь». После вортексирования в течение 10 секунд и осаждения микрокапель на микроцентрифуге пробы помещали в твердотельный термостат при температуре плюс 99°C и инкубировали в течение 15 минут. Далее пробы центрифугировали при 8000-14000 оборотах в минуту в течение 1 минуты. Полученный супернатант использовался в качестве исследуемого образца ДНК.

Генотипирование изучаемых полиморфизмов генов фолатного цикла проводили методом ПЦР в режиме реального времени на приборе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия) с применением диагностического набора «SNP-ЭКСПРЕСС» («Синтол», Россия). Из набора «SNP-ЭКСПРЕСС» использовали необходимое число пробирок (стрипов) и расставляли их согласно инструкции к прибору Rotor-Gene Q, в соответствии с положением пробирок в амплификаторе производили программирование прибора. Далее в полностью размороженное содержимое пробирок добавляли по 5 микролитров: в пробирки исследуемых образцов – образцы ДНК детей с РАС; в пробирку отрицательного контрольного образца – разбавитель из комплекта набора; в пробирки положительных контрольных образцов – образцы ДНК здоровых детей. Затем пробирки центрифугировали при 1500-3000 оборотах в минуту на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 секунд. Детекция продуктов амплификации осуществлялась прибором «Rotor-Gene Q» автоматически в каждом цикле амплификации. Анализ полиморфизмов генов фолатного цикла проводился по кривым накопления флуоресцентного сигнала по заданному для образцов каналу. По результатам анализа получили три типа заключений по каждому гену: гомозигота по дикой аллели, гетерозигота и гомозигота по мутантной аллели.

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического

и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Полученные данные обработаны с использованием лицензионной версии программы STATISTICA 10.0 для Windows (лицензионный номер AXAR207F394425FA-Q) и программы «RStudio 1.1.183» (версия языка «R» – 3.4.3, пакеты: «ROCR», «boot»).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка или критерий Колмогорова-Смирнова. В случае описания количественных показателей, имеющих нормальное распределение, полученные данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин и стандартных отклонений, результаты представлялись в виде $M \pm s$, где M – среднее значение, s – стандартное отклонение. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы и нижнего и верхнего квартилей Me [25%-75%]. Для сравнения двух независимых групп в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался критерий Манна-Уитни (U) и Краскела-Уоллиса (H). При анализе категориальных данных использованы точный двусторонний тест Фишера или χ^2 Пирсона и таблицы сопряженности. В качестве меры связи между категориальными переменными применялся коэффициент ассоциации Гудмана и Краскела (τ).

Распределение изученных полиморфизмов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$), с помощью теста χ^2 Пирсона. Для распределения генотипов и аллелей генов фолатного цикла определяли частоты встречаемости в процентах (%). Для сравнения частот генотипов и аллелей между исследуемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса на непрерывность. О связи факторов риска (генотипов, аллелей, пре-, пери-, постнатальных факторов) с РАС судили по величине показателя отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (95%

ДИ). Для определения сочетания факторов риска развития РАС (генетических, пери- и постнатальных) было построено уравнение логистической регрессии с бинарным откликом и логит-функцией связи. Для оценки качества модели использовали ресэмплинг-валидацию модели без повторного обучения и повторную кросс-валидацию 5-фолд методом. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$. Результаты проведенного исследования изложены в следующих главах.

Таким образом, дизайн исследования соответствует поставленной цели и задачам. Рассчитан оптимальный объем репрезентативной выборки исходя из ошибки α (I типа – не более 5%), ошибки β (II типа – не более 20%) и мощности исследования – 80%. Группы пациентов, сформированные для настоящего исследования, однородны, достаточны по объёму для получения статистически значимых результатов исследования. Используемые в исследовании клиничко-психопатологический метод, анамнестический, молекулярно-генетический, психодиагностический и методы статистической обработки и анализа позволили решить поставленные задачи и оценить полученные результаты. Методы статистической обработки и анализа данных соответствуют принципам доказательной медицины, общепринятым методам статистики и позволили получить статистически значимые результаты исследования.

ГЛАВА 3

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ТЯЖЕСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА

3.1. Пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития расстройств аутистического спектра

В многочисленных научных исследованиях зарубежных учёных названы разнообразные пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития РАС у детей [234, 241, 136, 217, 212, 177, 153, 215, 182, 216, 273, 220, 235, 137, 135, 233, 239, 159, 251, 243]. В доступной литературе Российской Федерации найдены немногочисленные исследования, изучающее влияние данных факторов на риск развития РАС [31, 100, 81]. В Республике Беларусь научных исследований, посвящённых изучению пре-, пери- и постнатальных факторов, которые могут повышать риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла, в доступной литературе нами не найдено.

С целью изучения пре-, пери- и постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла были проанализированы данные медицинской документации (амбулаторные карты – педиатрическая и психиатрическая) 102 детей с РАС с последующим сравнением полученных результатов с контрольной группой, состоящей из 85 психически здоровых детей.

Поскольку в научной литературе имеется ряд противоречивых и разрозненных данных о том, что возраст матерей и отцов может увеличивать риск развития РАС [128, 129, 154, 229, 130, 242, 31], был изучен возраст матерей на момент зачатия в обеих группах: у матерей детей с РАС он составил 27,0 [18,0-39,0] лет, а в группе здоровых детей возраст матерей составил 25,0 [18,0-39,0] лет.

Также мы изучили возраст отцов в обеих группах: в основной группе детей возраст отцов на момент зачатия ребёнка составил 29,5 [25,0-35,0] лет, в контрольной группе – 32 [26,0-36,0] года. По результатам данного исследования не отмечено значимых различий по возрасту матери и отца между группами, а также не установлено связи возраста матери и отца с риском развития РАС ($p>0,05$). Следует отметить, что в одном зарубежном исследовании объясняют связь возраста матери с риском развития РАС: в связи с наличием частых осложнений беременности и родов при повышении возраста женщины [154], а также с высоким риском появления мутаций по мере старения гамет с увеличением возраста родителей [130].

При анализе пре-, перинатального периодов было установлено, что в 44 случаях (43%) у детей с РАС внутриутробный период протекал без патологии, а в контрольной группе детей – в 53 (62%) случаях.

По результатам исследований зарубежных учёных, ЦМВ, ВПГ, вирус гриппа, краснухи, токсоплазмы, вирус Эпштейна-Барр могут выступать внешними факторами риска и повышать риск развития РАС при наличии «генетической уязвимости» [136, 214, 217, 212, 177, 153]. В то же время в научной работе коллектива авторов [198] не установлено связи между вирусной инфекцией и риском развития РАС. Как объясняют исследователи, это может быть связано с особенностями «иммунного реагирования» матери на вирусную и бактериальную инфекции [198].

Было проанализировано влияние факторов, обусловленных вирусной и паразитарной инфекцией, на течение пре-, перинатального периода в основной и контрольной группах детей. В таблице 3.1 представлено распределение факторов, обусловленных вирусной и паразитарной инфекцией у матерей детей исследуемых групп.

Таблица 3.1 – Распределение факторов, обусловленных вирусной и паразитарной инфекцией у матерей детей исследуемых групп

Факторы	Основная группа (n=102) % (абс.)	Контрольная группа (n=85) % (абс.)	Критерий χ^2 Пирсона; p	ОШ, 95% ДИ
Токсоплазмоз	2,9 (3)	1,2 (2)	0,062; 0,804	1,25 [0,20-7,70]
Уреаплазмоз	6,8 (7)	4,4 (7)	0,126; 0,940	0,82 [0,27-2,44]
ЦМВ	4,9 (5)	1,8 (4)	0,568; 0,451	1,04 [0,27-4,01]
ВПГ	14,7 (15)	19 (16)	0,043; 0,837	0,74 [0,34-1,60]
Вирус папилломы человека	0,9 (1)	2,5 (4)	0,043; 0,837	0,20 [0,02-1,82]

Как видно из данных таблицы 3.1, статистических различий в распределении изученных факторов в исследовании получено не было ($p > 0,05$). Также при расчёте ОШ не установлено ассоциации данных факторов с риском развития РАС.

В таблице 3.2 представлена акушерская патология, осложнившая течение пре-, перинатального периода детей обеих групп.

Таблица 3.2 – Акушерская патология, осложнившая течение пре-, перинатального периода детей обеих групп

Факторы	Основная группа (n=102) % (абс.)	Контрольная группа (n=85) % (абс.)	Критерий χ^2 Пирсона; p	ОШ, 95% ДИ
Угроза прерывания беременности	36,2 (37)	12,9 (11)	13,229; <0,001	3,82 [1,8-8,11]
Преэклампсия	18,6 (19)	7,0 (6)	5,357; 0,02	3,30 [1,14-7,93]

ФПН	16,6 (17)	5,8 (5)	5,194; 0,02	3,20 [1,12-9,07]
Токсикоз	8,8 (9)	11,7 (10)	0,439; 0,508	0,48 [0,28-1,87]
Многоводие	1,9 (2)	4,7 (4)	0,415; 0,520	0,40 [0,07-2,26]
Маловодие	1,9 (2)	1,2 (1)	0,025; 0,874	1,68 [0,15-18,8]

Как видно из данных таблицы 3.2, при сравнении акушерской патологии, которая осложнила течение пре-, перинатального периода, отмечено, что у матерей детей исследовательской (основной) группы чаще выявлялись такие состояния, как угроза прерывания беременности (на 12 ± 2 неделе беременности), преэклампсия и ФПН.

Среди акушерской патологии у матерей детей с РАС угроза прерывания беременности встречалась в 37 случаях (36,2%), тогда как в контрольной группе детей этот показатель статистически значимо ниже (таблица 3.2). При сравнении данных показателей были выявлены различия между группами ($p < 0,05$). В свою очередь, значение ОШ указывает на то, что при наличии угрозы прерывания беременности вероятность риска развития РАС у ребёнка повышается.

В результатах исследования зарубежных учёных показана ассоциация угрозы прерывания беременности у матери с риском развития РАС у ребёнка [234, 135, 233, 239]. Тем не менее авторы объясняют, что угроза прерывания беременности может быть обусловлена разными причинами (эндокринной патологией, инфекционными заболеваниями, иммунологическими и анатомическими факторами), в том числе и наличием мутаций, возникающих во время критических периодов развития нервной системы плода [234, 135, 233, 239].

В проведенном исследовании в группе матерей, имеющих детей с РАС, угроза прерывания беременности отмечалась в среднем на 12 ± 2 недели у 29 женщин (78%). Они получали терапию препаратами прогестеронового ряда до 16-18 недели беременности. У 8 женщин (22%) отмечалась как угроза прерывания беременности, так и угроза преждевременных родов.

Они получали комбинированную терапию β -адреноблокаторами, антагонистами кальциевых каналов и препаратами, содержащими ионы магния, вплоть до 26 недели беременности. В группе контроля только у 11 (12,9%) матерей отмечалась угроза прерывания беременности на 10 ± 2 неделе. Женщины получали терапию прогестероновыми препаратами до 16 недель беременности.

Как показывают данные таблицы 4.2, статистически значимые различия также были установлены в группе детей с РАС, матерям которых в течение беременности был выставлен диагноз преэклампсии ($p < 0,05$). Преэклампсия, которая сопровождалась повышением артериального давления, наличием отёков и появлением белка в моче, у матерей, родивших детей с РАС, встречалась в 3 раза чаще (в 19 случаях (18,6%)), чем у матерей психически здоровых детей контрольной группы – в 6 случаях (7%). Риск развития РАС значительно выше у детей, матерям которых в процессе беременности выставлялся диагноз преэклампсии, то есть риск развития РАС у ребёнка возрастает в 3,3 раза при наличии преэклампсии во время беременности у матери. Результаты научных исследований зарубежных учёных демонстрируют связь между преэклампсией и риском развития аутистических расстройств у детей [241, 240], объясняя тем, что преэклампсия способствует развитию гипоксии, к которой чувствительны развивающиеся эмбриональные ткани.

ФПН при беременности у матерей детей с РАС наблюдалась в 17 случаях (16,6%), что на 10,6% выше, чем у матерей здоровых детей – 5 случаев (6%) (таблица 4.2). Статистические различия ($p < 0,05$) и величина ОШ указывают на влияние ФПН на риск развития РАС. Полученные результаты сопоставимы с выводами научного исследования, в котором отмечено, что ФПН ответственна за увеличение риска развития РАС, особенно в сочетании с преэклампсией [240, 135]. Как объясняют учёные, различная патология плаценты приводит к внутриутробной или перинатальной гипоксии с развитием ишемии, к которой наиболее чувствительны фетальные ткани с высоким уровнем метаболизма, что свою очередь может приводить к рождению ребёнка не только с «неврологическими нарушениями, но и с «социальным дефицитом» в последующем [242, 31, 220, 195, 240, 135].

Не менее интересны результаты других исследователей, утверждающих, что риск развития РАС возрастает по мере увеличения количества пре-, перинатальных факторов, но в сочетании с мутациями или полиморфизмами разных генов, которые создают «уязвимость плода» к пре-, перинатальным неблагоприятным условиям, тем самым усиливают вероятность развития РАС у ребёнка [242, 239, 159, 251].

В некоторых зарубежных исследованиях отмечено, что влияние на риск развития РАС оказывает эндокринная патология щитовидной и поджелудочной желез у матерей [216, 273]. В другом исследовании показано влияние разнообразной экстрагенитальной патологии на риск развития аутизма, среди которой значимое влияние оказывают артериальная гипертензия, эпилепсия, астма, ожирение [243].

В проведенном исследовании среди экстрагенитальной патологии у матерей обследуемых детей в течение перинатального периода преобладала острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ), перенесённая женщинами во втором триместре беременности. Однако, как демонстрируют данные таблицы 4.3, различий между группами по экстрагенитальной патологии у матерей детей исследуемых групп не выявлено ($p > 0,05$).

В таблице 3.3 отражено распределение экстрагенитальной патологии у матерей детей в обеих исследуемых группах.

Таблица 3.3 – Распределение экстрагенитальной патологии в обеих группах

Фактор	Основная группа (n=102) % (абс.)	Контрольная группа (n=85) % (абс.)	Критерий χ^2 Пирсона; p	ОШ 95% ДИ
ОРВИ	19,6 (20)	20,0 (17)	0,004; 0,947	0,97 [0,47-2,00]
Анемия	5,8 (6)	5,8 (5)	0,0001; 1,0	0,62 [0,29-3,39]
Гипотиреоз	5,8 (6)	4,7 (4)	0,127; 0,722	1,26 [0,34-4,64]
Сахарный диабет	1,9 (2)	1,2 (1)	0,025; 0,874	1,68 [0,15-18,88]

Пиелонефрит	5,8 (6)	5,8 (5)	0,0001; 1,0	1,00 [0,293-0,39]
Холецистит	2,9 (3)	1,2 (1)	0,043; 0,837	2,54 [0,26-24,93]
Гастрит	3,9 (4)	4,7 (4)	0,070; 0,792	0,82 [0,20-3,40]
Хронический тонзиллит	5,8 (6)	2,3 (2)	0,680; 0,410	2,59 [0,51-13,19]

При анализе полученных показателей, представленных в таблице 3.3, не установлено статистически значимого влияния указанной экстрагенитальной патологии во время беременности у матерей детей исследуемых групп на риск развития РАС.

Были изучены не только факторы, которые осложнили течение беременности у матерей детей исследуемых групп, но и срок беременности, паритет беременности, а также особенности течения родов (применение родостимуляции, длительность безводного периода, наличие гипоксии плода, обвитие пуповиной). Учитывался способ родоразрешения и применение анестезии в родах. В таблице 3.4 представлена характеристика беременности по сроку, паритету беременности и родов, а также факторам, которые осложнили течение родов у матерей детей обеих групп.

Таблица 3.4 – Характеристика беременности по сроку, паритету беременности и родов, а также факторам, осложнившим течение родов у матерей детей обеих групп

Параметр	Основная группа (n=102) % (абс.)	Контрольная группа (n=85) % (абс.)	Коэффициент, р
<i>Срок беременности</i>			
32 недель	0,9 (1)	-	>0,05*
34 недель	0,9 (1)	-	
35 недель	1,9 (2)	-	
37 недель	9,8 (10)	15,2 (13)	
38 недель	20,5 (21)	23,5 (20)	

39 недель	37,2 (38)	28,2 (24)	
40 недель	15,6 (16)	20,0 (17)	
41 недель	12,7 (13)	12,9 (11)	
Паритет беременности			
Первая	51,9 (53)	61,1 (52)	>0,05**
Вторая	25,4 (26)	27,0 (23)	
Третья	14,7 (15)	11,7 (10)	
Четвёртая	4,9 (5)	-	
Пятая	0,9 (1)	-	
Седьмая	0,9 (1)	-	
Порядковый номер родов			
Первые	56,8 (5)	41,1 (35)	>0,05**
Вторые	32,3 (33)	32,9 (28)	
Третьи	10,7 (11)	25,8 (22)	
Способ родоразрешения			
Роды через естественные родовые пути	69,7 (71)	80,0 (68)	>0,05*
Роды путём кесарева сечения	30,3 (31)	20,0 (17)	>0,05*
Экстренное кесарево сечение с общей анестезией	9,8 (10)	5,8 (4)	>0,05*
Плановое кесарево сечение с применением спинномозговой анестезии	20,5 (21)	15,2 (13)	>0,05*
Осложнения в родах			
Длительный безводный период	7,8 (8)	7,5 (9)	>0,05**

Преждевременное излитие околоплодных вод	11,7 (12)	6,2 (10)	>0,05**
Первичная слабость родовых сил	12,7 (13)	6,9 (11)	>0,05**
Затяжные роды	3,7 (4)	1,8 (3)	>0,05**
Отслойка плаценты	1,9 (2)	0,62 (1)	>0,05**
Кровотечение	4,9 (5)	2,5 (4)	>0,05**

Примечание – * – различия между группами статистически незначимые с использованием критерия χ^2 Пирсона; ** – различия между группами статистически незначимые с использованием критерия Манна-Уитни

Как видно из данных таблицы 3.4, статистически значимых различий между группами по сроку беременности, паритету беременности и родов, а также по характеру факторов, осложнивших течение родов, не выявлено ($p > 0,05$).

Дети обеих групп в большинстве случаев были рождены на $39 \pm 0,1$ неделе беременности через естественные родовые пути (69,7% и 80,0% соответственно). Представляет интерес, что в научной публикации Z. Tianyang et al. (2019) учёные указывают, что на риск развития РАС оказывает влияние именно характер родоразрешения, а не факторы, приводящие к выполнению экстренного кесарева сечения [137]. Вероятность риска развития РАС у детей, рождённых с помощью операции кесарева сечения, авторы объясняют отсутствием контакта ребёнка с бактериями, населяющими родовые пути матери, что оказывает отрицательное влияние на развитие иммунной системы и потенциально может привести к формированию патогенетических аутоиммунных процессов, влияющих на передачу нервного импульса. Исследователи также связывают риск развития аутистических расстройств с отсутствием «стресса рождения», обусловленного родами через естественные родовые пути, тем самым, как полагают авторы исследования, это негативно сказывается на сенсорном развитии ребенка [137].

В других исследованиях отмечено, что экстренное кесарево сечение, выполненное по причине внутриутробной гипоксии ребёнка, в сочетании с оценкой по шкале Апгар менее 6 баллов на 1 минуте [233, 239], а также низким весом новорождённого (менее 2500 г) [234, 239] увеличивают вероятность риска развития РАС у детей. В проведенном исследовании данных о влиянии кесарева сечения на риск развития РАС не получено (30,3% и 20,0% соответственно, $p>0,05$).

Анализ результатов постнатального периода в настоящем исследовании показал, что дети основной группы на момент рождения имели большую массу тела ($3432,2\pm51,05$ г) и значительно различались по весу в сравнении с детьми контрольной группы, масса тела которых к моменту рождения составила $3288\pm59,5$ г ($U=3584$; $p<0,05$). В то же время отличий по длине тела на момент рождения у детей обеих групп не установлено ($51,3\pm0,2$ см и $51,3\pm0,3$ см соответственно, $p>0,05$). Хотя в некоторых научных публикациях указана связь риска развития РАС у детей, родившихся с весом 2500 г и менее [234, 233, 239, 159, 251, 243] и гестационным возрастом 35 недель и ниже [234, 239, 159, 251, 36].

Было установлено, что внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до начала родов, у детей основной группы выявлена в 6 случаях (9,8%), а внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная во время родов и родоразрешения, – в 29 (58,9%) случаях, что значительно отличается в сравнении с группой здоровых детей, так как в группе здоровых детей внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до начала родов, была выявлена в 2 (2,3%) случаях, а в 10 (11,7%) случаях – внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная во время родов и родоразрешения ($\chi^2=10,050$; $p=0,002$).

Показатели оценки по шкале Апгар на первой и пятой минутах отражены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Оценка детей обеих групп по шкале Апгар на первой и пятой минутах

Оценка по шкале Апгар на 1/5 минуте	Основная группа (n=102) (%) абс.	Контрольная группа (n=85) (%) абс.
8/9	46 (47)	74,1 (63)
8/8	19,6 (20)	11,7 (10)
7/8	28,4 (29)	11,7 (10)
7/7	3,9 (4)	2,3 (2)
6/9	0,9 (1)	0 (0)
0/0	0,9 (1)	0 (0)

При анализе показателей отношений шансов (ОШ=3,17; 95% ДИ [1,52-6,62]) можно утверждать, что риск развития РАС значительно выше в том случае, если отмечался фактор, свидетельствующий о наличии внутриутробной гипоксии. Влияние гипоксии на риск развития РАС описано также в некоторых зарубежных публикациях [220, 195, 233, 239, 243] и одной статье на русском языке [31]. Учёные объясняют патологическое влияние гипоксии на развитие именно тех областей головного мозга [240, 135, 233, 239], которые реализуют социально-коммуникативную функцию: зона Брока и Вернике, лобно-височные области и миндалина, орбитофронтальная кора и хвостатое ядро [246, 140, 208, 270]. Как отмечают исследователи, гипоксия, перенесенная внутриутробно, ante-, intra- и постнатально, может увеличивать риск развития не только неврологических и моторных нарушений, но и при наличии генетической уязвимости повышает риск развития РАС [130, 240, 135, 233, 239].

В нескольких научных публикациях к факторам риска развития РАС отнесено искусственное вскармливание и длительность грудного вскармливания [136, 211, 196, 156]. По мнению группы авторов Ping Tao Tseng et al. (2019), кормление грудью длительностью не менее 6 месяцев снижает риск аутистических проявлений [211].

По результатам настоящего исследования, в основной группе 70 детей (68,6%) находились на грудном вскармливании.

При анализе длительности грудного вскармливания представляет интерес то, что 44% детей основной группы находились на грудном вскармливании два-три месяца. Средняя продолжительность кормления грудью составила 2 [0-3] месяца. В контрольной группе 74 ребёнка (87%) вскармливались грудью. Продолжительность грудного вскармливания детей контрольной группы в 46,5% случаев составила от 3 до 6 месяцев, а средняя продолжительность – 5 [3-7] месяцев. Были получены статистически значимые различия по длительности грудного вскармливания между группами ($U=2217$; $p<0,001$).

В основной группе детей 32 ребёнка (31%) находились на искусственном вскармливании, в контрольной группе – 11 (12,9%) детей ($\chi^2=8,107$; $p<0,05$).

С целью оценить влияние искусственного вскармливания на риск развития РАС было проведено вычисление отношения шансов. В группу риска включили количество детей, находившихся на искусственном вскармливании. Анализ полученных значений (ОШ=3,38; 95% ДИ [1,44-6,56]) позволяет утверждать, что риск развития РАС выше в случае искусственного вскармливания, что соответствует результатам метаанализа ($n=1463$) зарубежных исследователей [211, 196], объясняющим механизм развития РАС снижением секреции уровня окситоцина в головном мозге ребёнка при искусственном вскармливании [156]. Грудное вскармливание в данном случае является фактором, снижающим вероятность развития РАС у детей.

На рисунке 3.1 представлена длительность грудного вскармливания по месяцам в обеих группах.

Таким образом, установлено, что к основным пре-, перинатальным и постнатальным факторам, повышающим риск развития РАС, при наличии генетических факторов риска относятся: внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до начала родов, во время родов и родоразрешения ($p<0,05$), угроза прерывания беременности (на 12 ± 2 неделе беременности) ($p<0,05$), преэклампсия ($p<0,05$), ФПН ($p<0,05$), искусственное вскармливание ($p<0,05$).

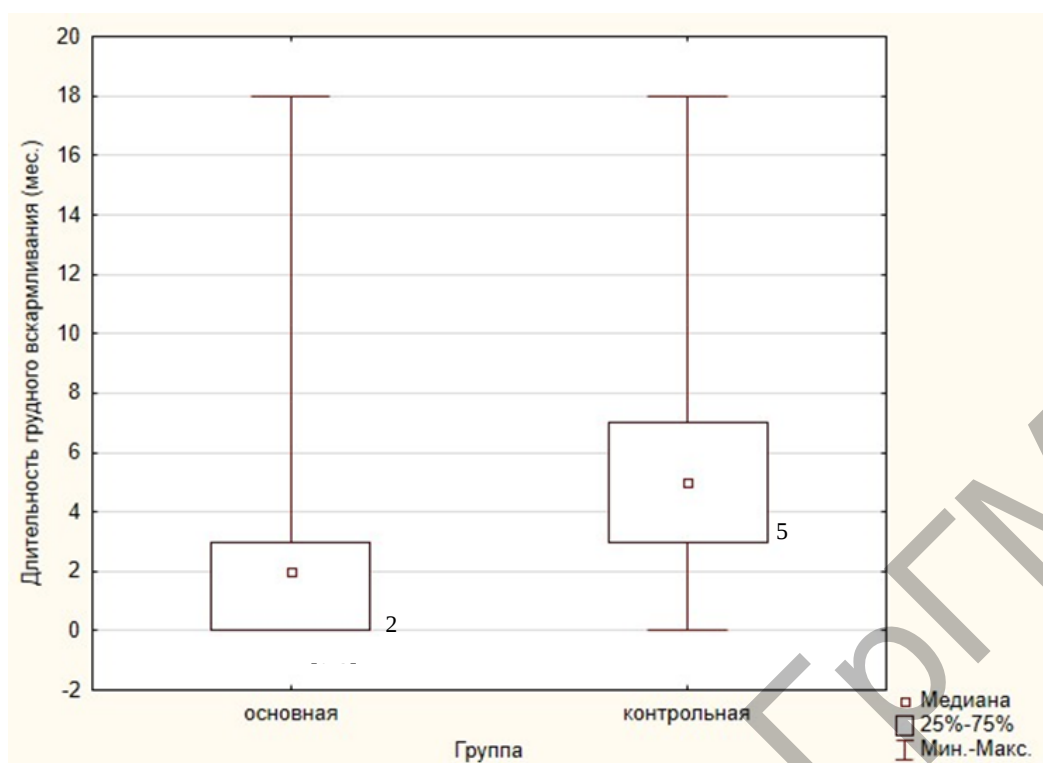


Рисунок 3.1 – Длительность грудного вскармливания по месяцам в обеих группах

3.2 Влияние пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов, повышающих риск развития расстройств аутистического спектра, на степень тяжести аутистических расстройств

В единичных зарубежных научных исследованиях отмечается, что пре-, перинатальные факторы, а именно преэклампсия, многоводие, маловодие, предлежание плаценты, истинный узел пуповины, гестационный диабет [241], а также угроза прерывания беременности [135] оказывают влияние на фенотипические проявления и степень тяжести РАС. Научных публикаций на русском языке по данной проблеме найти не удалось.

С целью оценить связь пре-, пери- и постнатальных факторов со степенью тяжести клинических проявлений РАС нами был проведён корреляционный анализ. В таблице 3.6 представлены полученные критерии оценки связи только между пре-, постнатальными факторами и степенью тяжести РАС.

Таблица 3.6 – Критерии оценки связи между пре-, постнатальными факторами и степенью тяжести РАС

Фактор / степень тяжести РАС	Критерий Краскела-Уолисса, Н; р
Возраст матери	6,224; 0,044 ^(н-у)
Возраст отца	6,887; 0,031 ^(н-у)
Длительность грудного вскармливания	8,773; 0,012 ^(у-в)

Примечание – ^(н-у) – статистически значимые различия при попарном сравнении низкая-умеренная степень тяжести РАС; ^(у-в) – статистически значимые различия при попарном сравнении умеренная-высокая степень тяжести РАС

В настоящем исследовании не было получено статистически значимых данных о связи возраста родителей и риска развития РАС. Однако, как видно из таблицы 4.6, была выявлена связь при попарном сравнении распределения возраста родителей (матери и отца) со степенью тяжести РАС у детей. Различия были отмечены только в группе детей с низкой и умеренной степенью тяжести ($p < 0,05$). Установлено, что высокая степень тяжести РАС отмечалась у детей, матери которых на момент зачатия ребёнка имели возраст 26 [23-32] лет, а отцы – 29 [26-35] лет.

Также было проанализировано распределение степени тяжести клинических проявлений РАС в зависимости от длительности грудного вскармливания. Низкая степень тяжести аутистических расстройств была установлена у детей, которые находились на грудном вскармливании в течение 2 [1-3] месяцев, в отличие от высокой степени тяжести РАС, при которой дети основной группы находились на грудном вскармливании в течение 0 [0-2] месяца. Дети, у которых была выявлена умеренная степень тяжести клинических признаков РАС, находились на грудном вскармливании в течение 3 [1-3] месяцев. При попарном сравнении были установлены статистические различия только между группами детей с умеренной и высокой степенью тяжести РАС (таблица 3.6).

На рисунке 3.2 отражено распределение степени тяжести РАС в зависимости от длительности грудного вскармливания.

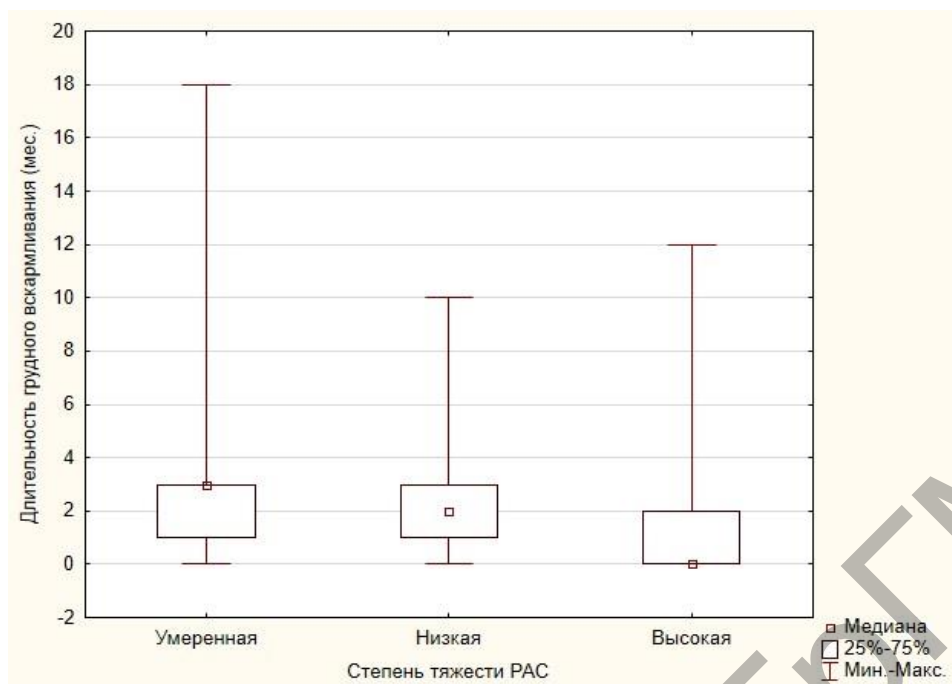


Рисунок 3.2. – Распределение степени тяжести расстройств аутистического спектра в зависимости от длительности грудного вскармливания

Анализируя зависимость распределения степени тяжести клинических признаков РАС от длительности грудного вскармливания, можно сделать предположение о связи данных факторов на основании исследования зарубежных учёных, в котором описан механизм влияния окситоцина на социальное поведение и сенсорное восприятие младенцев [156]. Установлено, что окситоцин является наиболее распространенным нейропептидом в гипоталамусе и выполняет интегративные функции, координируя поведенческие и физиологические процессы, смягчает поведенческие реакции на различные стрессоры. Авторы показали, что у детей, находящихся на грудном вскармливании, уровень секреции окситоцина был значительно выше, чем у детей, которых вскармливали искусственно [156] и которые в последующем имели проблемы с сенсорным восприятием и отличались поведенческими реакциями. Также можно предположить, что полученное в данном исследовании распределение степени тяжести РАС у детей в зависимости от длительности грудного вскармливания может быть обусловлено разной продолжительностью контакта с матерью и тактильной стимуляцией.

Несмотря на то, что в настоящем исследовании искусственное вскармливание было определено как фактор,

повышающий риск развития РАС, значимых корреляций между степенью тяжести РАС и искусственным вскармливанием получено не было. Также не было отмечено достоверной ассоциации между возрастом родителей и степенью тяжести клинических проявлений РАС.

3.3 Связь пренатальных, перинатальных и постнатальных факторов с полиморфизмом генов фолатного цикла

В доступной литературе нами не найдено научных исследований, изучающих связь пре-, пери-, постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС с полиморфизмом генов фолатного цикла. При анализе распределения полиморфных вариантов генов фолатного цикла нами установлено, что к генетическим факторам риска развития РАС отнесены мутантные аллели 677Т и 66G полиморфизмов C677Т и A66G для генов MTHFR, MTRR ($p < 0,05$). В свою очередь, среди пре-, пери- и постнатальных факторов статистически значимыми между группами оказались гипоксия, угроза прерывания беременности, преэклампсия, ФПН, искусственное вскармливание ($p < 0,05$). Поэтому в исследуемой группе детей нами оценивалась связь между установленными генетическими факторами риска и пре-, пери-, постнатальными факторами, которые могут повышать риск развития РАС.

В результате исследования выявлено, что у детей с РАС, которые вскармливались искусственно, чаще встречается мутантная гомозигота Т/Т полиморфизма C677Т гена MTHFR – в 18 случаях (17,6% от общего количества детей с РАС), в отличие от детей с РАС, которые находились на грудном вскармливании – 5 случаев (4,9%) ($\chi^2 = 30,733$; $p < 0,001$). Также сравнили детей с РАС, у матерей которых при беременности отмечалась угроза прерывания, с детьми, у матерей которых угрозы прерывания беременности не было. Полученные результаты показали, что в тех случаях, когда во время беременности отмечалась угроза прерывания – в 26 случаях (25,4%), был выявлен гомозиготный генотип G/G полиморфизма A66G гена MTRR в отличие от случаев, когда угрозы прерывания

беременности не было, – генотип G/G варианта A66G гена MTRR был выявлен только в 4 случаях (3,9%) ($\chi^2=32,219$; $p<0,001$).

Таким образом, у матерей в группе детей с РАС наблюдалась разнообразная патология во время беременности, среди которой к факторам, повышающим риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла у детей можно отнести следующие пре-, перинатальные факторы: угроза прерывания беременности (на 12 ± 2 недели беременности) ($p<0,001$), преэклампсия ($p<0,05$), ФПН ($p<0,05$). Выявлен высокий процент случаев перинатального риска у детей с РАС, когда наибольшее значение для риска развития РАС имеет внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до родов, во время родов и родоразрешения ($p<0,05$). Получены различия по длительности грудного вскармливания между группами. Средняя продолжительность кормления грудью детей в основной группе составила 2 [0-3] месяца, что на 2,6 месяца меньше, чем в контрольной группе детей ($p<0,001$). Дети с РАС в большем проценте случаев (31%) находились на искусственном вскармливании в отличие от детей контрольной группы – 12,9% случаев ($p<0,05$). Также при расчёте ОШ установлено, что искусственное вскармливание выступает фактором, повышающим риск развития РАС, при наличии полиморфизма генов фолатного цикла ($p<0,05$).

При анализе влияния на степень тяжести РАС пре-, пери-, постнатальных факторов установлено, что со степенью тяжести данных расстройств коррелирует возраст матери ($p<0,05$), отца ($p<0,05$) и длительность грудного вскармливания ($p<0,05$). Однако возраст матери, отца, по полученным результатам исследования, не повышает риска развития РАС, а грудное вскармливание при расчёте ОШ выступило как фактор, снижающий вероятность развития РАС у детей. Анализируя связь пре-, пери-, постнатальных факторов с полиморфизмом генов фолатного цикла установлено, что мутантная гомозигота T/T полиморфизма C677T гена MTHFR ($p<0,001$) чаще была выявлена у детей, которые вскармливались искусственно, а гомозиготный генотип G/G полиморфизма A66G гена MTRR ($p<0,001$) статистически значимо чаще встречался у детей с РАС, матери которых в течение беременности имели риск угрозы её прерывания.

ГЛАВА 4

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ТЯЖЕСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

4.1 Общая характеристика групп.

Для достижения цели и выполнения задач в соответствии с критериями отбора в исследование были включены 102 ребёнка, проходивших стационарное обследование в детском отделении УЗ «ГОКЦ «П-Н», которым в соответствии с исследовательскими диагностическими критериями МКБ-10 был выставлен диагноз «расстройств аутистического спектра» (F84). Все включённые в группу полностью прошли исследование. В контрольную группу были включены 85 психически здоровых детей (таблица 4.1.).

Таблица 4.1 – Характеристики распределения детей по группам сравнения

Группы исследуемых	Характеристики распределения по группам	Количество детей в группе
Основная группа (исследовательская)	<i>дети с расстройствами аутистического спектра</i> – изучен полиморфизм генов фолатного цикла – определена степень тяжести РАС – изучены перинатальные факторы	102
Контрольная группа	<i>здоровые дети</i> – изучен полиморфизм генов фолатного цикла – изучены перинатальные факторы	85

Основную группу составили 86 (84,3%) мальчиков и 16 (15,6%) девочек. Средний возраст мальчиков – 5,0 [4,0-7,0] лет, девочек – 4,5 [4,0-7,0]. В контрольной группе было 48 мальчиков (56,4%) и 37 (43,5%) девочек. Средний возраст мальчиков – 6,0 [4,0-7,5] лет, девочек – 5,0 [3,0-7,0] лет. Данные о возрастном составе исследуемых детей с учётом половой принадлежности представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Характеристика обследуемых детей в группах по возрасту с учётом половой принадлежности

Параметр	Основная группа (n=102)		Контрольная группа (n=85)		Критерий Манна-Уитни, U; p
	Me	25%-75%	Me	25%-75%	
Возраст, лет	5	4-7	5	4-7	4268; 0,856
Мальчики	5	4-7	6	4-7,5	1953; 0,603
Девочки	4,5	4-7	5	3-7	282,5; 0,798

Как видно из таблицы 4.2, основную и контрольную группы составили дети дошкольного и младшего школьного возраста. Сравниваемые группы детей были сопоставимы по полу ($p>0,05$) и возрасту ($p>0,05$). В соответствии с характером клинических проявлений, на основании исследовательских диагностических критериев действующей классификации психических и поведенческих расстройств МКБ-10 у исследуемых детей основной группы (n=102) РАС распределились следующим образом: детский аутизм выявлен в 86 случаях (84,3%), у 14 исследуемых детей (13%) отмечался атипичный аутизм, в 2 случаях (2%) выставлен диагноз синдрома Аспергера.

Преобладание в исследуемой выборке детского аутизма и атипичного аутизма объясняется наиболее частой встречаемостью данных клинических форм в популяции. В настоящее время в мировом медицинском сообществе проходит апробацию Международная классификация болезней 11 пересмотра, рекомендованная к применению ВОЗ с 01.01.2022 г. В связи с этим целесообразно показать распределение РАС у исследуемой группы детей согласно диагностическим критериям данной классификации: 76% детей – РАС

с нарушением интеллектуального развития и речи (подкатегория 6A02.3), 22% детей – РАС с нарушением интеллектуального развития и отсутствием функционального языка (подкатегория 6A02.5), 2% детей – РАС без нарушения интеллектуального развития и с лёгким нарушением или без нарушений функциональной речи (подкатегория 6A02.0) [247].

Среди детей основной группы было проведено исследование по определению степени интеллектуальной недостаточности с помощью теста Д. Векслера, что согласуется с существующим в настоящее время международным подходом в диагностике уровня интеллектуального развития детей с РАС. Распределение исследуемых детей основной группы по степени интеллектуальной недостаточности в зависимости от клинической формы РАС представлено в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Распределение детей основной группы по степени интеллектуальной недостаточности в зависимости от клинической формы РАС

Клиническая форма РАС	Норма абс. (%)	Пограничный уровень интеллекта абс. (%)	Лёгкое снижение интеллекта абс. (%)	Умеренное снижение интеллекта абс. (%)	Тяжёлое снижение интеллекта абс. (%)
Детский аутизм	0 (0)	33 (32,3)	43 (42,1)	7 (6,8)	3 (2,9)
Атипичный аутизм	2 (1,9)	3 (2,9)	3 (2,9)	6 (5,8)	0 (0)
Синдром Аспергера	2 (1,9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Как видно из данных таблицы 4.3, в большинстве случаев у детей с РАС основной группы установлены пограничный уровень интеллекта и лёгкое снижение, лишь у 4% детей определена интеллектуальная норма. РАС зачастую приводят к установлению инвалидности по психическому заболеванию. Так, в данном исследовании в основной группе детей вследствие РАС группу инвалидности имели 56 (54,9%) человек, у 14 (13,7%) из них определена 2-я степень утраты здоровья, у 32 (31,3%) –

3-я степень утраты здоровья, у 10 (9,8%) – 4-я степень утраты здоровья.

Контингент детей-инвалидов с РАС формировался преимущественно за счёт лиц мужского пола. Мальчики составляли 44 (78,5%) от общего числа детей-инвалидов, девочки – 12 (21,4%), что согласуется с результатами исследований российских и белорусских учёных [53, 124, 54]. Распределение детей-инвалидов с РАС по половому признаку также соотносится с частотой встречаемости аутистических расстройств в мировой статистике – 4:1 соответственно [44].

Среди обследуемых детей-инвалидов 57,1% случаев первичного выхода на инвалидность вследствие РАС приходились на возраст до 8 лет, 45,5% (23 человека) – в возрасте 2-5 лет, 36,3% (9 человек) – в возрасте 6-8 лет. При повторном установлении инвалидности большая часть случаев (35,7%) установления инвалидности вследствие РАС приходилась на возрастные группы 6-9 лет (20 человек) и 2-5 лет – 7,1% (4 человека). Данные о возрастном составе детей-инвалидов вследствие РАС с учётом половой принадлежности представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Распределение детей-инвалидов вследствие РАС по возрасту с учётом половой принадлежности

Параметр	Впервые признанные инвалидами		Повторно признанные инвалидами		Критерий Манна-Уитни, U; p
	Me	25%-75%	Me	25%-75%	
Возраст, лет	5	4-6	8	7-8	140; <0,001
Мальчики	5	4-6	8	6-8	113; <0,001
Девочки	4	4-5	8	7-8	0,00; 0,016

Все дети с РАС были обследованы учителем-логопедом: у 21 ребёнка (20,5%) основной группы было установлено расстройство развития речи и языка с общими расстройствами психологического развития, у 17 детей (16,6%) отмечали нарушение речи системного характера, у 2 детей (1,9%) было

выявлено общее нарушение речи. Системное недоразвитие речи тяжёлой степени было отмечено в 42 случаях (41,2%) у детей с РАС, а системное недоразвитие речи средней степени было выявлено у 20 детей (19,6%).

Большинство детей с РАС – 96 человек (94%) – не владели фразовой речью и демонстрировали речь в виде отдельных слов, либо вербальная коммуникация у них отсутствовала, а речь была представлена вокализациями, которые носили монотонный характер с необычным горловым оттенком. В 4 случаях (3,9%) развитие экспрессивной речи у детей с РАС было на уровне использования простой фразы для сообщения о физиологических и обиходных нуждах. Только 2 ребёнка (1,9%) использовали беглую речь для сообщения о социальном намерении.

Следует отметить, что у всех исследуемых детей с РАС, владеющих экспрессивной речью, отмечались специфические особенности: косноязычие, речевые штампы, эхолалия, бедность запаса слов, неправильное употребление местоимений и глагольных форм, скандированное или растянутое произношение слов, а также необычная просодика речи, которая была представлена назальным или горловым оттенками при произношении слов или фраз. Помимо специфических особенностей речи, у детей с РАС отмечался меньший активный и пассивный словарь, дефекты звукопроизношения. Качественные нарушения речи проявлялись в трудностях коммуникативного использования речи с учётом социальной ситуации и контекста.

4.2 Особенности распределения генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов фолатного цикла у детей исследуемых групп

С целью выявления генетических факторов риска развития РАС, обусловленных полиморфизмом генов фолатного цикла, было проведено генотипирование полиморфных вариантов C677T, A1298C, A66G, A2756G генов: метилен-тетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионин-синтазы-редуктазы (MTRR), метионин-синтазы (MTR).

Анализ результатов показал, что дети с РАС в 98% (100 случаев) являются носителями генотипов по мутантной

аллели и только в 2 случаях (1,08%) были выявлены гомозиготы по дикому типу. В контрольной группе детей гомозиготы по дикому типу были выявлены в 6 случаях (3,21%), а в 93% (79 случаев) дети являлись носителями генотипов по мутантной аллели. Таким образом, как в основной, так и в контрольной группах в подавляющем большинстве случаев дети являлись носителями генотипов по мутантной аллели.

Однако при сравнении выявленных по количеству гетерозиготных и гомозиготных генотипов по мутантной аллели основная и контрольная группа детей статистически значительно различались ($U=3164$; $p<0,001$). Так, в основной группе 12 детей (6,4%) являлись носителями только одного генотипа по мутантной аллели, который чаще всего был выявлен в полиморфизме C677T гена MTHFR. Носителями двух генотипов по мутантной аллели были 20,3% детей (38 случаев). 18,7% (35 случаев) детей с РАС являлись носителями сразу трёх генотипов по мутантной аллели. Носителями четырёх генотипов были 8,0% (15 случаев) детей.

В свою очередь, в контрольной группе в 18 (9,6%) случаях дети являлись носителями только одного генотипа по мутантной аллели, который чаще всего был выявлен в полиморфизме C677T гена MTHFR. В 37 (19,8%) случаях была выявлена комбинация двух генотипов по мутантной аллели. Носителями трёх генотипов по мутантной аллели являлись 19 (10,2%) детей. Четыре генотипа по мутантной аллели были выявлены у 5 (2,7%) детей в контрольной группе.

Заслуживает внимания тот факт, что количество выявленных гомозиготных генотипов (по мутантной аллели) генов фолатного цикла в основной группе детей статистически значительно больше, чем в контрольной группе ($U=3067,5$; $p<0,001$). А при сравнении количества гетерозиготных генотипов в исследуемых группах детей значимых различий получено не было ($p>0,05$).

На рисунке 4.1 изображено распределение количества генотипов по мутантной аллели полиморфных вариантов генов фолатного цикла (как гомозиготных, так и гетерозиготных) в основной и контрольной группах.

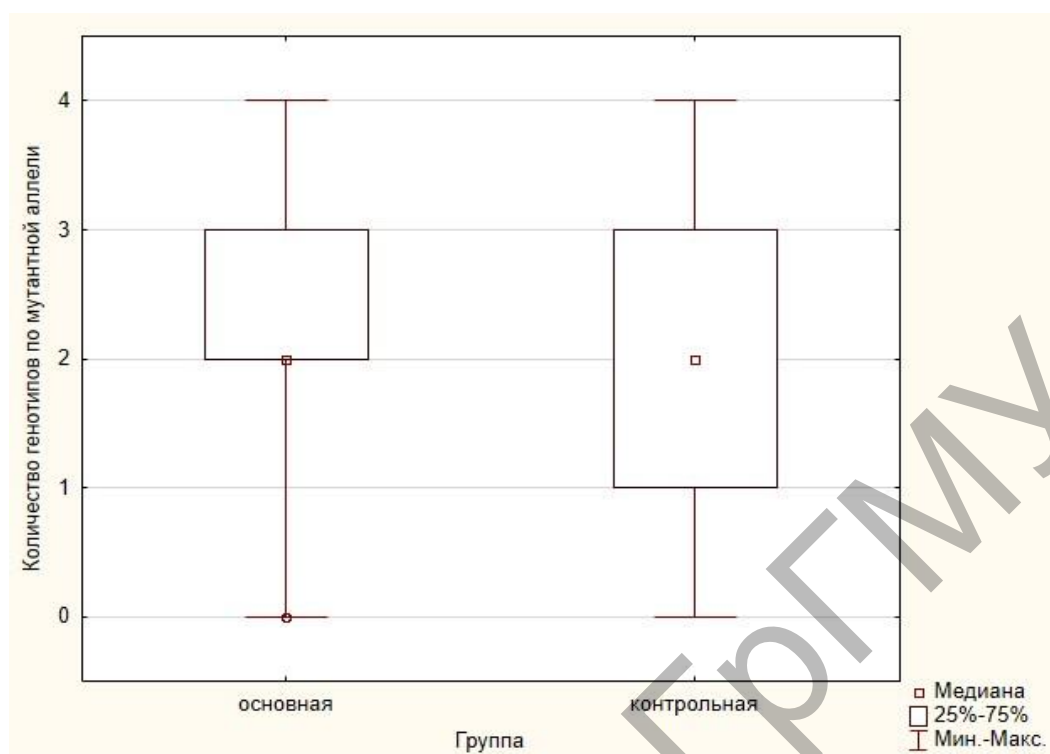


Рисунок 4.1 – Распределение количества генотипов по мутантной аллели полиморфных вариантов генов фолатного цикла в основной и контрольной группах

В таблице 4.5 представлено распределение мутантных гомозиготных генотипов по количеству в группах детей.

Таблица 4.5 – Распределение мутантных гомозиготных генотипов по количеству в группах детей

Группа	Гомозиготные генотипы по мутантной аллели				
	N=0 % (абс.)	N=1 % (абс.)	N=2 % (абс.)	N=3 % (абс.)	N=4 % (абс.)
Основная (n=102)	46,0 (47)	37,2 (38)	11,8 (12)	4,90 (5)	0 (0)
Контрольная (n=85)	71,8 (61)	25,8 (22)	2,4 (2)	0 (0)	0 (0)

На рисунке 4.2 показано распределение количества гомозиготных генотипов по мутантной аллели в исследуемых группах детей.

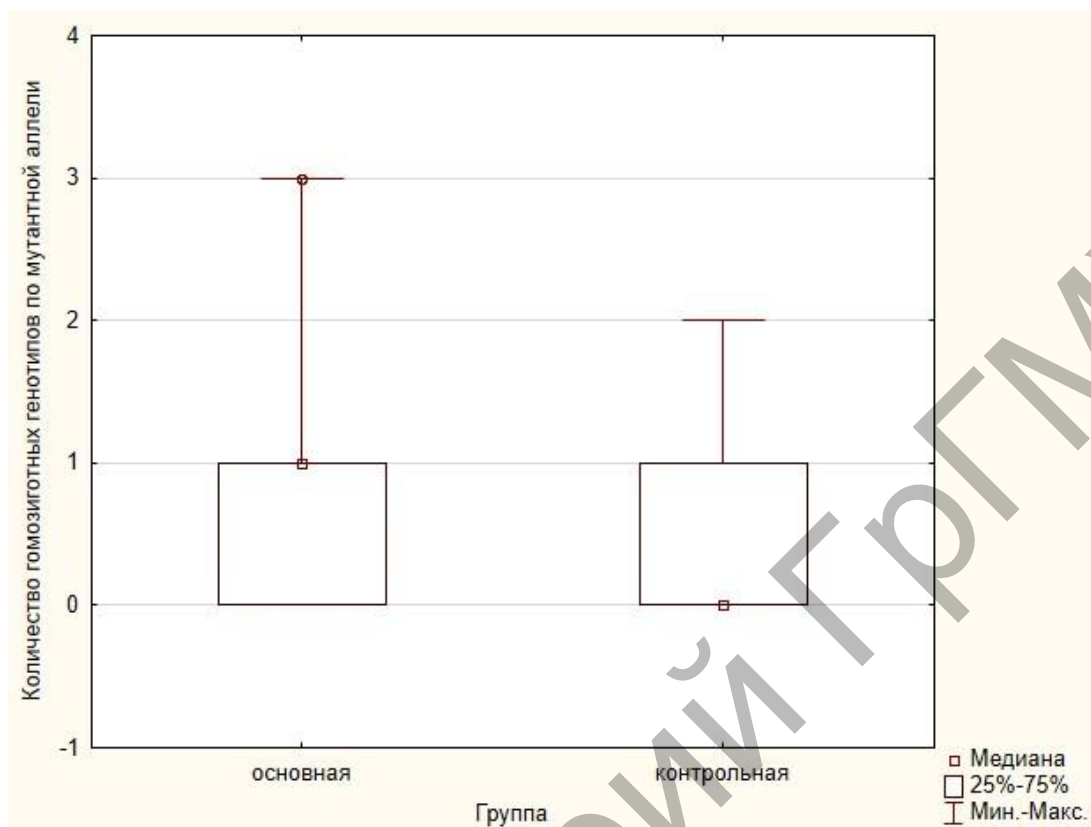


Рисунок 4.2 – Распределение количества гомозиготных генотипов по мутантной аллели в исследуемых группах

При анализе распределения частот генотипов генов фолатного цикла в основной и контрольной группах детей отмечается увеличение встречаемости частот мутантных гомозиготных генотипов Т/Т (22,5%) локуса С677Т гена МТНFR, гомозиготного генотипа С/С (11,7%) локуса А1298С гена МТНFR, генотипа G/G (29%) локуса А66G гена МТRР и мутантного генотипа G/G (15,6%) локуса А2756G гена МТR в группе детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей, что согласуется с результатами исследований зарубежных учёных [262, 255, 219, 276, 133, 70, 151]. Только в одном исследовании Shawky et al. (2014) частота гетерозиготного генотипа С/Т локуса С677Т гена МТНFR была наиболее распространена среди детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей [261]. В таблице 4.6 представлено распределение частот генотипов генов фолатного цикла по группам.

Таблица 4.6 – Распределение частот генотипов генов фолатного цикла в основной и контрольной группах

Ген/ Локус	Генотип	Основная группа (n=102) % (абс.)	Контрольная группа (n=85) % (абс.)	Критерий χ^2 Пирсона; p
MTHFR/ C677T	C/C	33,3 (34)	50,5 (43)	9,367; 0,009
	C/T	44,1 (45)	41,2 (35)	
	T/T	22,5 (23)	8,2 (7)	
MTHFR/ A1298C	A/A	48,0 (49)	56,5 (48)	4,556; 0,102
	A/C	40,2 (41)	40,0 (34)	
	C/C	11,8 (12)	4,7 (3)	
MTRR/ A66G	A/A	21,6 (22)	41,2 (35)	12,635; <0,001
	A/G	49,0 (50)	47,0 (40)	
	G/G	29,4 (30)	11,7 (10)	
MTR/ A2756G	A/A	49,0 (50)	52,9 (45)	3,348; 0,187
	A/G	35,3 (36)	40,0 (34)	
	G/G	15,7 (16)	7,05 (6)	

Как видно из данных таблицы 3.6, статистически значимые различия между основной и контрольной группами детей установлены для частоты встречаемости генотипов в локусе C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы и генотипов в локусе A66G гена метионин-синтазы-редуктазы ($p < 0,05$). Примечательно, что в основной группе детей частота гетерозиготных C/T и гомозиготных T/T генотипов по мутантной аллели полиморфного варианта C677T гена MTHFR значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). В свою очередь, частота гомозиготного генотипа по дикому типу C/C в контрольной группе на 18% выше по сравнению группой детей с РАС.

Также, как показывают данные таблицы 4.6, генотип A/G и гомозиготный генотип G/G полиморфизма A66G гена MTRR чаще встречался в группе детей с РАС ($p < 0,05$). Напротив, количество носителей дикого гомозиготного генотипа A/A

в контрольной группе на 19,5% больше. При анализе распределения частот аллелей генов фолатного цикла были выявлены статистические отличия только для аллели 677Т (44,6%) полиморфизма С677Т гена МТНFR и аллели 66G (53,9%) полиморфизма А66G гена МТRР. В группе детей с РАС носителей мутантной аллели 677Т локуса С677Т гена МТНFR и аллели 66G полиморфного варианта А66G гена МТRР соответственно на 18,7% и 15,8% больше по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,001$). В таблице 4.7 представлено распределение частот аллелей генов фолатного цикла в основной и контрольной группе.

Таблица 4.7 – Распределение частот аллелей генов фолатного цикла в основной и контрольной группе

Ген/ Локус	Аллель	Основная группа (n=102) (%) абс.	Контрольная группа (n=85) (%) абс.	Критерий χ^2 Пирсона; p	ОШ [95% ДИ]
МТНFR/ С677Т	С	55,3 (113)	71,1 (121)	9,864; <0,001	1,98 [1,29- 3,06]
	Т	44,6 (91)	28,8 (49)		
МТНFR/ А1298С	А	68,1 (139)	76,4 (130)	3,189; 0,074	0,23 [0,95- 2,40]
	С	31,8 (65)	23,5 (40)		
МТRР/ А66G	А	46 (94)	64,7 (110)	12,977; <0,001	2,14 [1,41- 3,06]
	G	53,9 (110)	35,2 (60)		
МТR/ А2756G	А	66,6 (136)	72,9 (124)	1,723; 0,189	1,34 [0,86- 2,10]
	G	33,3 (68)	27 (46)		

Распределение частоты мутантной аллели 677Т полиморфизма С677Т гена МТНFR у детей с РАС выше, чем у здоровых детей, что отмечено также в результатах научных исследований зарубежных учёных [255, 276, 260, 134, 126, 236]. Однако имеется исследование, в котором не найдено статистических различий между распределением мутантной аллели 677Т между группами детей. Частота аллели 677Т была одинаковой в группах (0,38 и 0,35) [222]. В научной публикации

R. Haghiri (2016), напротив, показано, что частота аллели 2756G полиморфизма A2756G гена MTR чаще встречается у детей с РАС [187].

С целью оценить связь мутантной аллели аллели 677T полиморфизма C677T гена MTHFR и аллели 66G полиморфизма A66G гена MTRR с риском развития РАС у детей было проведено вычисление ОШ. В группу риска включали гомозиготы и гетерозиготы по мутантной аллели. Значимым фактором для риска РАС считали, если показатель ОШ с поправкой на 95% ДИ превышал единицу.

При анализе ОШ были получены статистически значимые различия только для аллели 677T в локусе C677T гена MTHFR и аллели 66G в локусе A66G гена MTRR (таблица 3.7). Значение ОШ для аллели 677T гена MTHFR составило 1,98, для аллели 66G гена MTRR – 2,14. Нижняя граница значений ОШ для мутантных аллелей 677T и 66G и генов MTHFR, MTRR при внесении поправок на 95% ДИ также составила больше единицы: 1,29, 1,41 соответственно, что указывает на высокий риск развития РАС у детей, являющихся носителями мутантных аллелей 677T и 66G генов MTHFR и MTRR.

Аналогичные результаты были получены в исследованиях учёных дальнего зарубежья, в которых также установлено влияние мутантной аллели 677T полиморфизма C677T гена MTHFR на риск развития РАС у детей [255, 219, 138, 134]. В свою очередь, в работах А. Arab (2019) и J. Park (2014) отмечено, что на риск развития РАС значимо оказывает влияние сочетанное носительство мутантных аллелей 1298C и 677T полиморфизмов A1298C и C677T гена MTHFR [133, 221].

Результаты метаанализа другой группы зарубежных учёных показали взаимосвязь мутантной аллели 677T локуса C677T гена MTHFR с риском аутизма в большинстве этнических групп, в то время как аллель 1298C полиморфизма A1298C гена MTHFR ассоциирована с риском развития РАС только у этнических групп, населяющих Кавказ [138]. Имеется научная работа, результаты которой противоположны нашему исследованию. Установлено, что на риск развития РАС оказывает влияние только аллель 2756G полиморфизма A2756G гена MTR [187].

На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что мутантные аллели 677T и 66G полиморфизмов C677T и A66G генов MTHFR, MTRR – одни из генетических факторов риска развития РАС в структуре мультифакторной модели этиопатогенеза аутистических расстройств.

4.3 Степень тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра

С целью изучения связи полиморфизма генов фолатного цикла со степенью тяжести РАС была проведена верификация степени выраженности клинических проявлений данных расстройств с использованием ADOS-2. По результатам исследования по ADOS-2 общий балл у детей с РАС варьировал от 6 до 28, среднее значение составило $18,5 \pm 4,7$ балла. Согласно полученному общему баллу, обследуемые дети были разделены по диагностическим категориям. Распределение обследуемых детей по диагностическим категориям представлено в таблице 4.8.

Таблица 4.8. – Распределение обследуемых детей по диагностическим категориям

Диагностическая категория	Основная группа (n=102) % (абс.)
«Аутизм»	71 (69,6)
«Спектр аутизма»	31 (30,4)
«Вне спектра аутизма»	0 (0)

Степень тяжести клинических проявлений РАС в исследовании оценивали при помощи сравнительного балла ADOS-2, который рассчитывали на основании суммы баллов по категориям СА (социальный аффект) и ОСП (ограниченные стереотипные формы поведения) с учетом возраста и уровня владения экспрессивной речью.

Сравнительный балл представляет собой количественную оценку степени выраженности симптомов аутистического спектра [88, 191, 266] и позволяет оценить степень выраженности клинических признаков РАС, которая принимает следующие степени тяжести: высокая, умеренная, низкая, минимальная или отсутствие симптомов РАС [88].

Показатели сравнительного балла у обследуемых детей с РАС, согласно ADOS-2, составляли от 4 до 10 баллов, среднее значение – $6,5 \pm 2,0$. Анализируя распределение степени тяжести РАС согласно ADOS-2 у 35 детей (34,3%), находящихся в категории «аутизм», отмечали высокую степень выраженности аутистических признаков, у 36 детей (35,3%) – умеренную. В диагностической категории «спектр аутизма» у 10 детей (9,80%) была выявлена умеренная степень тяжести РАС, а у 21 ребёнка (20,6%) – низкая. В результате использования методики ADOS-2 в 46 случаях (45,0%) выявлена умеренная степень тяжести РАС, в 34,3% случаев (35 детей) – высокая. У 20,1% детей с РАС наблюдалась низкая степень выраженности клинических проявлений данных расстройств.

Распределение обследуемых детей по диагностическим категориям ADOS-2 в зависимости от степени тяжести РАС и выставленного диагноза по МКБ-10 представлено в таблице 4.9.

Таблица 4.9. – Распределение обследуемых детей по диагностическим категориям ADOS-2 в зависимости от степени тяжести РАС и выставленного диагноза по МКБ-10

Диагностическая категория по ADOS-2	Степень тяжести РАС по ADOS-2	Диагноз по МКБ-10 (n=102), % (абс.)		
		F.84.0	F.84.1	F.84.5
«Аутизм»	высокая	34,3 (35)	0 (0)	0 (0)
	умеренная	35,3 (36)	0 (0)	0 (0)
«Спектр аутизма»	умеренная	4,9 (5)	3,9 (4)	0,9 (1)
	низкая	9,8 (10)	9,8 (10)	0,9 (1)

Как следует из таблицы 4.9, установлено, что дети с диагнозом детский аутизм в большинстве случаев были отнесены в диагностическую группу «аутизм». Дети с диагнозом атипичного аутизма в 10,7% случаев – в диагностическую категорию «спектр аутизма». Дети с диагнозом детского аутизма в основном демонстрировали высокую и умеренную степень тяжести РАС. У детей с выставленным диагнозом атипичного аутизма, синдрома Аспергера были определены умеренные и низкие степени тяжести РАС.

При высокой степени тяжести РАС клинические признаки расстройств аутистического спектра характеризовались качественными нарушениями в социальном взаимодействии. Дети использовали руку родителя для общения или для сообщения о социальном намерении, не демонстрировали навыки указывания, не поддерживали глазной контакт. Демонстрировали ограниченный диапазон эмоций и слабую мимическую экспрессию. Отсутствовала реакция на имя. Также были отмечены нарушения в количестве социальных инициатив. Дети редко вовлекали родителя в игру. Обращения ко взрослому инициировались областью повышенных интересов, направленных на удовлетворение физиологических нужд. При взаимодействии с исследователем дети с высокой степенью выраженности РАС внешне не выражали удовольствия от собственных действий или от взаимодействия с исследователем во время игры. Как правило, функционально не играли с игрушками, было выявлено отсутствие символической имитации и сюжетно-ролевой игры. Игра носила стереотипный и манипулятивный характер. Общее качество взаимодействия в большей степени являлось односторонним. Средние балльные оценки у детей с высокой степенью выраженности РАС по категории СА составили: 18 ± 2 балла – по Модулю 1 и 16 ± 2 балла – по Модулю 2. Следует отметить, что дети с высокой степенью тяжести РАС демонстрировали значительную выраженность стереотипных форм поведения и ограниченных интересов: выкладывали игрушки в ряд, группировали их по общему признаку, отмечался повышенный сенсорный интерес к текстуре предметов или цвету, повышенное внимание к частям предметов или к их запаху, издаваемому звуку или вибрации. Отмечались разнообразные потряхивания кистями рук, подпрыгивания на месте, постукивания по столу, раскачивания, кружение вокруг себя. Средние балльные оценки по ОСП у детей с высокой степенью выраженности клинических проявлений РАС составляли: 6 ± 2 балла по Модулю 1, 4 ± 2 балла – по Модулю 2. Примечательно, что у детей с высокой степенью тяжести РАС наблюдалась повышенная двигательная активность, эмоциональные нарушения, проявляющиеся в виде беспокойства, агрессии или аутоагрессии.

При умеренной степени тяжести РАС дети демонстрировали менее выраженные качественные нарушения социального взаимодействия. При такой степени тяжести клинических проявлений РАС дети использовали указывание на предметы, координируя со взглядом или с вокализациями. Тем не менее демонстрировали слабо модулированный глазной контакт или взгляд «вскользь». Диапазон эмоций характеризовался также ограниченностью и слабой мимической экспрессией. Для сообщения о социальном намерении использовали вокализацию либо физический контакт. Игровая деятельность характеризовалась примитивным или стереотипным сюжетным замыслом, но использование игрушек осуществлялось по функциональному назначению. Однако отмечались трудности в реализации игры с воображением. Дети с умеренной степенью выраженности клинических проявлений РАС демонстрировали менее широкий диапазон ограниченных интересов и стереотипных поведенческих реакций. Средние балльные оценки у детей с умеренной степенью тяжести РАС при обследовании по Модулю 1 по категории СА составляли 14 ± 2 балла, по категории ОПС – 4 ± 2 балла; при обследовании по Модулю 2: по категории СА – 12 ± 2 балла, по категории ОПС – 3 ± 1 балла.

В свою очередь, у детей с РАС, у которых была выявлена низкая степень тяжести РАС, выявляли нарушения только в социальном взаимодействии и коммуникации, отмечали наличие ограниченных интересов, но не обнаруживали стереотипных паттернов поведения. Средние балльные оценки у детей с низкой степенью тяжести РАС при обследовании по Модулю 3 по категории СА составляли 4 ± 2 балла, по категории ОПС – 0 ± 1 балл.

4.4 Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла в зависимости от степени тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра

Для изучения связи генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла со степенью тяжести РАС был проведён корреляционный анализ распределения количества генотипов генов фолатного цикла в зависимости от степени тяжести РАС.

В результате корреляционного анализа было отмечено, что в 24,5% случаев при высокой степени тяжести аутистических признаков были выявлены 3-4 генотипа по мутантной аллели (как гетерозиготных, так и гомозиготных). При умеренной степени тяжести 32,3% детей были носителями 2-3 генотипов по мутантному типу, а при низкой степени – в 12% случаев были отмечены только 2 генотипа по мутантной аллели ($p < 0,05$; $\tau = 0,11$).

На рисунке 4.3 представлено распределение количества генотипов по мутантной аллели в зависимости от степени тяжести клинических проявлений РАС.

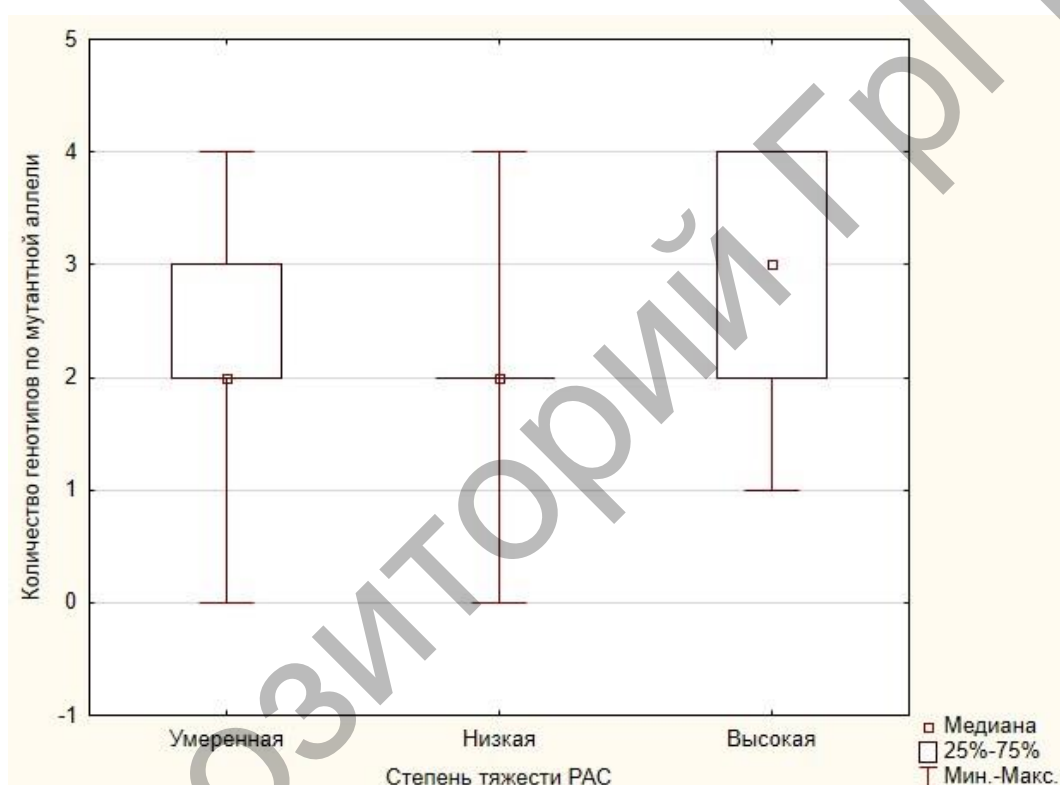


Рисунок 4.3 – Распределение количества генотипов по мутантной аллели в зависимости от степени тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра

При анализе распределения общего количества гомозиготных генотипов по мутантному типу в зависимости от степени тяжести РАС установлено, что при высокой степени выраженности клинических проявлений РАС в 33,3% случаев дети являлись носителями трёх гомозиготных генотипов по мутантной аллели. Напротив, только в 0,9% случаев гомозиготных генотипов не выявлено. При умеренной степени

тяжести РАС в 18,6% случаев выявлено носительство одного гомозиготного генотипа по мутантной аллели, а в 25,4% случаев мутантный генотип не был выявлен. При низкой степени выраженности клинических проявлений РАС гомозиготный генотип был выявлен только в 1,9% случаев, а в 20,5% случаев мутантных гомозиготных генотипов не выявлено ($p < 0,001$; $\tau = 0,314$).

На рисунке 4.2 представлено распределение количества гомозиготных генотипов по мутантной аллели в зависимости от степени тяжести клинических проявлений РАС.

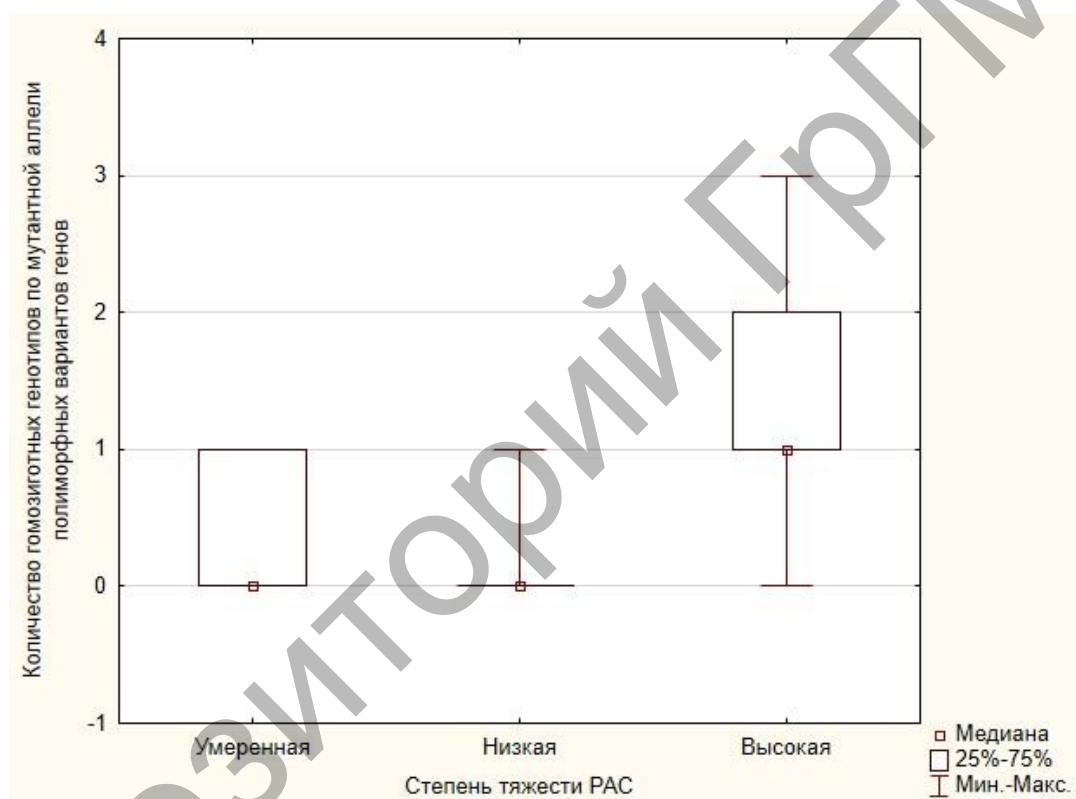


Рисунок 4.4 – Распределение количества гомозиготных генотипов по мутантной аллели в зависимости от степени тяжести клинических проявлений расстройств аутистического спектра

В настоящем исследовании не установлено статистически значимого распределения количества гетерозиготных генотипов по мутантной аллели в зависимости от степени тяжести аутистических признаков ($p > 0,05$; $\tau = 0,053$).

В свою очередь, при изучении характера распределения генотипов полиморфизма С677Т гена МТНFR фолатного цикла в зависимости от степени тяжести РАС наблюдались статистически значимые распределения гетерозиготных (С/Т) и гомозиготных (Т/Т) генотипов по мутантной аллели ($p < 0,001$), что демонстрируют данные таблицы 4.10.

Таблица 4.10 – Распределение генотипов полиморфизма С677Т гена МТНFR в зависимости от степени тяжести РАС

Генотип	Степень тяжести РАС, % (абс.)		
	низкая	умеренная	высокая
С/Т	10,8 (11)	18,6 (19)	14,7 (15)
Т/Т	0,0 (0)	5,9 (6)	16,7 (17)
С/С	10,8 (11)	19,6 (20)	2,9 (3)
Критерий χ^2 Пирсона; $p / 27,326; < 0,001$			

В исследовании А. Arab (2020) продемонстрированы несколько другие результаты по зависимости распределения генотипов полиморфизма С677Т гена МТНFR от степени выраженности клинических признаков РАС. В своём исследовании автор показал, что гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR отсутствовал в случаях с баллами CARS ≥ 37 , что соответствует тяжёлой степени РАС [133]. В другом научном исследовании установлено, что тяжёлая степень тяжести РАС по шкале CARS (38,7 баллов) чаще выявлялась у пациентов с диким генотипом С/С, чем у пациентов с мутантным генотипом Т/Т и гетерозиготным генотипом С/Т [262].

В таблице 4.11 показано распределение генотипов полиморфизма А1298С гена МТНFR в зависимости от степени тяжести РАС. При анализе характера распределения генотипов в зависимости от степени тяжести РАС, отмечено, что гетерозиготный генотип А/С в наибольшем количестве случаев встречается при умеренной степени тяжести РАС, а при высокой степени выраженности РАС выявляется в 12,7% случаев.

В свою очередь, гомозиготный С/С генотип по мутантному типу в преобладающем большинстве распределился при высокой и умеренной степени тяжести РАС (3,9% и 7,8% соответственно).

Таблица 4.11 – Распределение генотипов полиморфизма А1298С гена МТНFR в зависимости от степени тяжести РАС

Генотип	Степень тяжести РАС, % (абс.)		
	низкая	умеренная	высокая
А/С	6,7 (7)	20,6 (21)	12,7 (13)
С/С	0,0 (0)	3,9 (4)	7,8 (8)
А/А	14,7 (15)	19,6 (20)	13,7 (14)
Критерий χ^2 Пирсона; p / 9,949; <0,05			

В исследовании группы учёных из Египта выявлено, что у детей с РАС, имеющих гомозиготный генотип С/С полиморфного варианта А1298С гена МТНFR по шкале CARS >38,0 баллов, отмечалась тяжёлая степень РАС, а у пациентов с гетерозиготным генотипом А/С средние значения по шкале CARS составляли 35,8 балла, что соответствует умеренной степени тяжести РАС [262]. В другом научном исследовании показаны иные результаты. Авторы описывают, что гомозигота С/С по мутантному типу полиморфизма А1298С гена МТНFR чаще встречалась при показателе CARS ≥ 37 баллов – в 79,0% случаев, что соответствует тяжёлой степени РАС, а гетерозиготный генотип А/С данного гена отсутствовал в случаях с низкой степенью тяжести РАС по шкале CARS [133].

В таблице 4.12 показана зависимость распределения гетерозиготных и гомозиготных генотипов полиморфизма А66G гена МТRР от степени выраженности клинических признаков РАС. Отмечено, что распределение гетерозиготного генотипа А/G полиморфизма А66G гена МТRР при низкой, умеренной и высокой степенях тяжести РАС практически равномерное. Однако сохраняется тенденция к наибольшему распределению мутантной гомозиготы G/G гена МТRР при высокой степени тяжести РАС (19,6%) (p<0,001).

Таблица 4.12 – Распределение генотипов полиморфизма A66G гена MTRR в зависимости от степени тяжести РАС

Генотип	Степень тяжести РАС, % (абс.)		
	низкая	умеренная	высокая
A/G	14,7 (15)	24,5 (25)	9,8 (10)
G/G	0,9 (1)	8,8 (9)	19,6 (20)
A/A	5,8 (6)	10,8 (11)	4,9 (5)
Критерий χ^2 Пирсона; p / 21,522; <0,001			

Примечательно то, что мутантная гомозигота G/G полиморфизма A66G гена MTRR в наибольшем количестве случаев выявлена при высокой степени тяжести РАС, а при низкой степени тяжести РАС она была определена в 0,9% случаев. Гетерозигота A/G в 14,7% случаев была распределена при низкой, в 24,5% случаев – при умеренной степени тяжести РАС.

В доступной отечественной и зарубежной литературе нам не удалось найти исследований, посвящённых изучению распределения генотипов полиморфного варианта A66G гена MTRR в зависимости от степени тяжести РАС. В таблице 4.13 отражено распределение генотипов полиморфизма A2756G гена MTR в зависимости от степени тяжести РАС.

Таблица 4.13 – Распределение генотипов полиморфизма A2756G гена MTR в зависимости от степени тяжести РАС

Генотип	Степень тяжести РАС, % (абс.)		
	низкая	умеренная	высокая
A/G	5,9 (6)	21,5 (22)	7,8 (8)
G/G	0,9 (1)	1,9 (2)	12,7 (13)
A/A	14,7 (15)	20,6 (21)	13,7 (14)
Критерий χ^2 Пирсона; p / 22,209; <0,001			

Как видно из данных таблицы 4.13, при высокой и умеренной степени тяжести РАС статистически значимо распределились гетерозиготные и гомозиготные генотипы полиморфизма A2756G гена MTR ($p < 0,001$). Гетерозиготный генотип A/G в наибольшем количестве встречается при умеренной степени тяжести РАС, а мутантная гомозигота G/G в большем проценте случаев распределена при высокой степени РАС.

Данных по распределению генотипов полиморфизма A2756G гена MTR в зависимости от степени тяжести РАС в доступной литературе стран СНГ и зарубежья найти не удалось. Однако следует отметить, что исследователи в своих работах использовали определение степени тяжести РАС по шкале CARS, что значимо отличается от определения степени выраженности клинических проявлений РАС по ADOS-2 [106].

Таким образом, при анализе распределения генотипов полиморфизмов C677T, A1298C, A66G, A2756G генов метилен-тетрагидрофолатредуктазы, метионин-синтазы-редуктазы, метионин-синтазы в зависимости от степени тяжести РАС (таблицы 3.10-3.13) были получены статистически значимые распределения генотипов ($p < 0,05$). Установлено, что гетерозиготные генотипы полиморфных вариантов генов фолатного цикла чаще всего были распределены при умеренной степени тяжести РАС, а наибольшее количество гомозиготных по мутантной аллели, клинически неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов фолатного цикла встречаются при высокой степени тяжести РАС. Напротив, дети с РАС, имеющие низкую степень выраженности клинических проявлений РАС, в большинстве случаев являлись носителями дикой гомозиготы.

В результате проведённого молекулярно-генетического исследования, направленного на изучение полиморфизмов C677T, A1298C, A66G, A2756G генов MTHFR, MTRR, MTR фолатного цикла, отмечаются определённые особенности. У детей с РАС чаще были выявлены генотипы по мутантной аллели (гетерозиготы и гомозиготы) полиморфизмов генов фолатного цикла в сравнении с контрольной группой детей ($p < 0,001$). Количество гомозиготных генотипов по мутантной аллели статистически значимо выше в группе детей с РАС,

чем в группе здоровых детей ($p < 0,001$). В основной группе детей отмечены статистически значимые различия в распределении частот генотипов полиморфизма C677T гена MTHFR ($p < 0,001$) и полиморфизма A66G гена MTRR по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). В группе детей с РАС частота встречаемости мутантных аллелей 677T и 66G полиморфизмов C677T и A66G генов MTHFR, MTRR значимо выше, чем в группе здоровых детей ($p < 0,001$). Мутантные аллели 677T и 66G полиморфизмов C677T и A66G генов MTHFR, MTRR ассоциированы с риском развития РАС ($p < 0,001$).

Установлена зависимость распределения генотипов полиморфизмов C677T, A1298C, A66G, A2756G генов MTHFR, MTRR, MTR от степени тяжести клинических проявлений РАС. Так, гетерозиготные генотипы полиморфизмов генов фолатного цикла статистически значимо чаще выявляются при умеренной степени тяжести РАС, тогда как гомозиготы по мутантной аллели генов, которые являются наиболее неблагоприятным вариантом носительства, значимо распределены при высокой степени тяжести клинических признаков РАС ($p < 0,05$).

ГЛАВА 5

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

5.1 Комбинация факторов, ассоциированных с риском развития расстройств аутистического спектра

На сегодняшний день научные исследования, проведённые учёными разных стран, доказывают, что РАС – это результат комбинаций различных генетических и пре-, пери-, постнатальных факторов [205, 174, 233, 213, 127, 237].

Среди генетических факторов риска развития РАС исследователями выделены мутации разных генов [28, 193, 82, 188, 117, 91, 197, 35], установлены изменения нуклеотидной последовательности ДНК в виде «численных хромосомных аномалий» [28, 193, 197], выявлены гены, расположенные в экзоне и в интроне генома [204, 277], определена связь гена miR-873 с аутизмом [143], описаны и определены причины развития «синдромного» аутизма, обусловленного точечными мутациями [202, 7, 29, 110]. В Республике Беларусь группой авторов из ГУ «РНПЦ психического здоровья» изучена роль полиморфизма гена металлотионеина в этиопатогенезе РАС [75, 74].

В последнее время внимание учёных привлекает полиморфизм генов фолатного цикла [278, 37, 187, 262, 255, 158]. Его вклад в РАС объясняют как прямым токсическим действием гомоцистеина на эндотелий сосудов, вызывающим состояние эндотелиальной дисфункции в ЦНС и гибель нервных клеток [199], так и развитием аутоиммунных нарушений [70, 68, 69, 71] с высоким уровнем продукции аутоантител, приводящих к демиелинизации и нарушению внутриутробного развития нервной системы [68, 69, 71] или к повреждению процессов передачи нервного импульса и нарушению синаптической передачи нейромедиаторов [51]. Однако в доступной научной литературе не удалось найти исследований, посвящённых поиску комбинации факторов, включающих полиморфизм генов фолатного цикла и пре-, пери-, постнатальных факторов, повышающих риск развития РАС.

Поэтому одной из задач настоящего исследования было определить комбинацию факторов – генетических, обусловленных полиморфизмом генов фолатного цикла, и пре-, пери-, постнатальных, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла.

В ходе исследования были выявлены статистически значимые различия между группами для факторов: полиморфизмы С677Т и А66G генов МТНFR и МТRР ($p<0,05$), гипоксия ($p<0,05$), угроза прерывания беременности ($p<0,05$), преэклампсия ($p<0,05$), ФПН ($p<0,05$), искусственное вскармливание ($p<0,05$). Для определения оптимального сочетания факторов, ассоциированных с риском развития РАС, выполнен регрессионный анализ полученных предикторов, которые были включены в модель логистической бинарной регрессии. Путём перебора лучшей комбинации факторов с наивысшим предсказательным потенциалом статистически значимыми в данной модели были определены генетические факторы: гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR и генотипы А/Г, Г/Г полиморфизма А66G гена МТRР, а также пре-, перинатальные факторы – гипоксия и угроза прерывания беременности.

Оценки коэффициентов факторов окончательной регрессионной модели приведены в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Оценки коэффициентов факторов окончательной регрессионной модели

Фактор	Оценки коэффициентов факторов	Стандартное отклонение	Z-значение	p
Константа регрессионного уравнения	-2,4397	0,483	-5,0452	<0,001
G/G A66G MTRR	2,3733	0,583	4,0706	<0,001
T/T C677T MTHFR	1,3465	0,618	2,1763	0,03
A/G A66G MTRR	0,8819	0,446	1,9773	0,04
C/T C677T MTHFR	0,2174	0,406	0,5351	$>0,05$
Гипоксия	2,5422	0,422	6,0244	<0,001
Угроза прерывания беременности	1,7201	0,479	3,5847	<0,001

Как видно из таблицы 5.1, оценки коэффициентов факторов статистически значимы (при пороговом значении $p=0,05$, хотя бы для одной градации фактора). В ходе анализа было рассчитано уравнение бинарной регрессии для оценки сочетанного влияния факторов на вероятность риска развития РАС:

$$Y = k + 2,3733 * (X_1) + 1,3465 * (X_2) + 0,8819 * (X_3) + 2,5425 * (X_4) + 1,7201 * (X_5), \quad (5.1)$$

где Y – значение регрессионной функции;
 k – постоянная регрессионного уравнения ($k=-2,4397$).

Для оценки вероятности риска развития РАС проведено преобразование регрессионной функции:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(k + 2,3733 * X_1 + 1,3465 * X_2 + 0,8819 * X_3 + 2,5425 * X_4 + 1,7201 * X_5)}}, \quad (5.2)$$

где p – вероятность риска развития РАС;
 e – основание натурального логарифма ($e=2,718$);
 k – постоянная регрессионного уравнения ($k=-2,4397$);
 X_1 – фактор «генотип G/G полиморфизм A66G гена MTRR»;
 X_2 – фактор «генотип T/T полиморфизм C677T гена MTHFR»;
 X_3 – фактор «генотип A/G полиморфизм A66G гена MTRR»;
 X_4 – фактор «гипоксия»;
 X_5 – фактор «угроза прерывания беременности».

В случае наличия любого фактора из вышеперечисленных X принимается за 1, а при отсутствии – значение X равно 0. С точки зрения математических допущений полученная модель адекватна, так как оценки коэффициентов статистически значимы; остаточный девианс модели равен 172,64, в то время как для нуль-модели он составляет 257,69; значение информационного критерия Акаике равно 186,64, для нуль-модели – 259,69.

Критерии отношения правдоподобия и Вальда указывают на статистическую значимость модели в целом ($p<0,001$), то есть на то, что модель с данным набором факторов объясняет изменчивость зависимой переменной лучше, чем нуль-модель

(модель без факторов). Критерий Хосмера-Лемешоу – $\chi^2=7,475$, $p=0,486$; критерий R^2 Макфаддена равен 0,33.

Для оценки качества полученной модели был проведён ROC-анализ. Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,86, что свидетельствует об удовлетворительной предсказательной способности построенной модели.

На рисунке 5.1 представлена ROC-кривая.

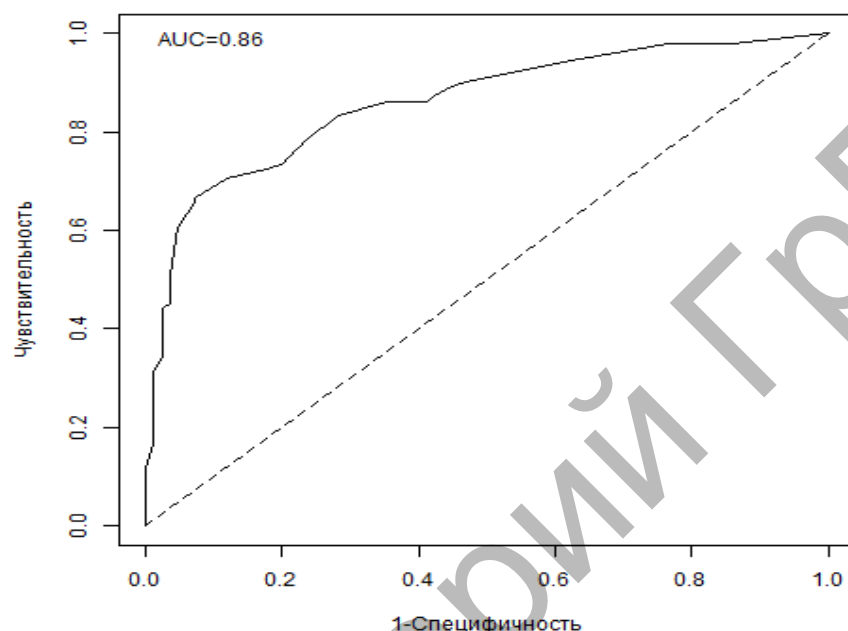


Рисунок 5.1 – ROC-кривая модели

В качестве порога отсечения выбрана вероятность $p=0,525$. Порог отсечения выбирался таким, чтобы разность между чувствительностью и специфичностью была наименьшей. При выбранном пороге 0,525 чувствительность (Se) равна 83,33%, специфичность (Sp) – 71,76%, точность (Acc) – 78,07%.

В качестве порога отсечения выбрана вероятность $p=0,525$ (рисунок 5.2).

В таблице 5.2 приведены отношения шансов и их доверительных интервалов для факторов, включённых в окончательную модель.

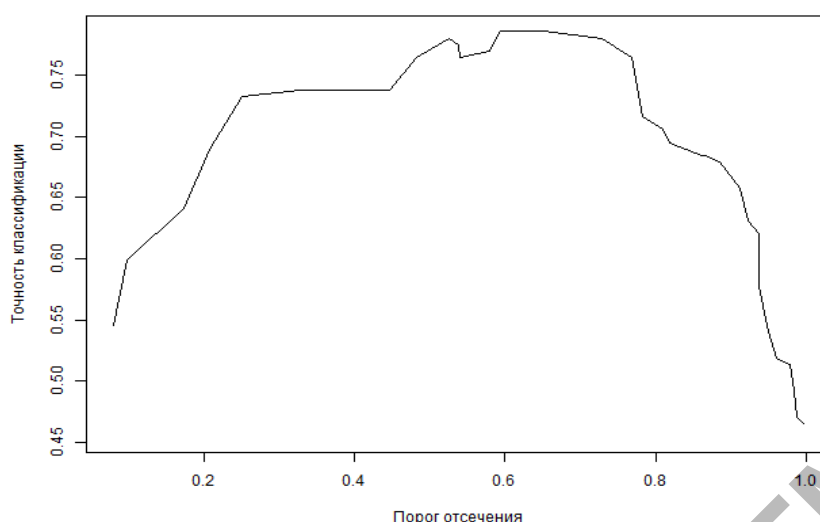


Рисунок 5.2. – Зависимость точности классификации от порога отсечения

Таблица 5.2 – Отношения шансов и их доверительные интервалы для факторов, включённых в окончательную модель

Фактор	ОШ	ДИ для ОШ		р
		2,5%	97,5%	
Генотип G/G полиморфизм A66G гена MTRR	10,73	3,57	35,52	<0,001
Генотип T/T полиморфизм C677T ген MTHFR	3,84	1,18	13,61	0,03
Генотип A/G полиморфизм A66G гена MTRR	2,41	1,02	5,94	0,048
Гипоксия	12,70	5,77	30,53	<0,001
Угроза прерывания беременности	5,58	2,25	14,96	<0,001

Для проверки устойчивости (работоспособности) модели были применены два метода: ресэмплинг-валидация модели без повторного обучения и повторная кросс-валидация 5-фолд методом. Суть метода ресэмплинг-валидации:

1. Из записей базы данных для групп детей с РАС и здоровых детей случайным образом выбирались записи в объёме 50% от каждой группы.

2. Далее для всех отобранных записей использовалась проверяемая модель предсказания, классифицирующая детей с РАС и здоровых.

3. По результатам работы модели-классификатора определялись следующие доли: доля верно классифицированных

детей с РАС (чувствительность, Se), доля верно классифицированных здоровых (специфичность, Sp), доля верно распознанных детей (точность, Acc).

4. Шаги 1-3 повторялись большое количество раз ($N=10000$).

5. Для полученного массива характеристик модели были определены их 95% ДИ для средних.

В результате применения данного метода были получены оптимистические (верхний предел) оценки: ДИ Se = $83,3 \pm 0,1\%$, ДИ Sp = $71,8 \pm 0,1\%$, ДИ Acc = $78,1 \pm 0,1\%$. В ранее использованном методе проверки качества модели использовался ресэмплинг без повторного обучения модели. Данный метод может давать оптимистические оценки качества классификации, так для проверки точности работы модели используются те же данные, что и в обучении модели.

Также проведена повторная валидация модели с использованием кросс-валидации 5-фолд метода. Основные шаги данного метода заключались в следующем:

1. Записи из базы данных детей с РАС и здоровых детей перемешивались случайным образом.

2. Вся база данных разбивалась на пять равных частей (фолдов).

3. Далее производилось построение (обучение) модели на одних и тех же предикторах что и в проверяемой модели на 4 фолдах.

4. 1 фолд использовался для проверки качества классификации моделью: определялась чувствительность, специфичность, точность классификации, площадь под ROC-кривой (AUC).

5. Шаги 3-4 повторялись 5 раз таким образом, чтобы каждый фолд побывал 1 раз валидирующей выборкой и 4 раза – в составе обучающей.

6. По результатам шагов 3-5 находились средние значения чувствительности, специфичности, точности и площади под кривой.

7. Принимая во внимание небольшой объём выборки, для уменьшения влияния способа разбиения выборки на фолды шаги 1-6 повторялись большое число раз ($N=10000$ раз).

Были получены следующие средние пессимистические (нижний предел) оценки качества работы модели: $Se=74,8\%$, $Sp=72,5\%$, $Acc=73,7\%$, $AUC=86,2\%$.

Таким образом, в результате научного исследования с помощью построения математической модели определена комбинация факторов, ассоциированная с риском развития РАС: гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR и генотипы G/G, A/G полиморфизма А66G гена МТRР, а также выявлены факторы, повышающие риск развития РАС, – гипоксия и угроза прерывания беременности.

Следует отметить, что при наличии гомозиготного генотипа Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR и генотипов G/G, A/G полиморфизма А66G гена МТRР, а также факторов гипоксии и угрозы прерывания беременности значение вероятности риска развития РАС (p) равно 0,998, а при отсутствии таких факторов, как «гипоксия» и «угроза прерывания беременности», показатель p составляет 0,896. Следовательно, при наличии пре-, перинатальных факторов в комбинации с полиморфизмом генов фолатного цикла вероятность риска развития РАС увеличивается, а при их отсутствии существенно не изменяется.

5.2 Алгоритм выявления «групп риска» для ранней диагностики расстройств аутистического спектра

В многочисленных научных исследованиях подчеркивается важность ранней диагностики РАС [161, 107, 66, 57, 58, 9, 152, 64, 34, 230, 180, 168, 160, 112, 80, 185]. Как утверждают учёные, несвоевременная диагностика утяжеляет течение РАС, увеличивает риск формирования коморбидных расстройств. В свою очередь раннее выявление РАС дает возможность эффективного применения медико-коррекционных мероприятий и минимизации аутистических проявлений [161, 107, 66, 57, 58, 9, 152, 64, 34, 180, 160, 112, 80, 185]. В настоящее время как российские, так и зарубежные специалисты считают целесообразным разделить процесс установления диагноза РАС на несколько этапов [161, 79, 201, 127].

Первый этап, определяющий в последующем успешность ранней диагностики РАС, – выявление «группы риска» детей по развитию РАС, что подтверждается многочисленными научными

исследованиями [161, 266, 259, 201, 160, 112, 127]. В настоящее время предложены разнообразные скрининговые инструменты как зарубежные, так и разработанные русскоязычными авторами [104, 107, 106, 79, 34, 245, 179, 254, 73, 99, 105, 176, 97, 49, 62, 48], направленные на определение «групп риска» по развитию РАС. Однако большинство скрининговых инструментов описывают лишь нарушения в психологическом развитии ребёнка в соответствии с нормой возрастного периода и не предполагают участия квалифицированных специалистов, обладающих знаниями об этиопатогенезе и клинических проявлениях аутистических расстройств.

В ряде научных исследований показано, что ранний скрининг РАС на основании использования только скрининговых инструментов и выявляемых родителями признаков РАС [141, 172] имеет низкую чувствительность с определенным процентом ложноположительных случаев [172, 256]. Вследствие большой полиморфности клинических признаков РАС и разной степени их выраженности у детей раннего возраста [172] происходит несвоевременное выявление «групп риска». В исследовании немецких учёных показано, что родители впервые беспокоились о наличии аутистических расстройств, когда их ребёнку было 23,4 месяца, а диагноз РАС был установлен в среднем в возрасте 78,5 месяцев [231]. В другом исследовании учёных из Бразилии, указано, что матери впервые отметили признаки РАС, когда детям было $23,6 \pm 11,6$ месяца, но официальный диагноз был поставлен в среднем в возрасте $59,6 \pm 40,5$ месяцев, что соответствует трёхлетней задержке [146]. В связи с этим учёные предлагают разные подходы к ранней диагностике РАС – от определения специфичных генов, свойственных только «синдромному» аутизму и синдрому Ретта [29, 110], выявления мутаций гена металлотioneина [75] до использования различных опросников, анкет, шкал, интервью [200, 72, 104, 88, 266, 171, 105, 62, 93].

В доступной отечественной и зарубежной научной литературе не найдено информации об алгоритме ранней диагностики РАС, основанном на анализе полиморфизма генов фолатного цикла, пренатальных, перинатальных, постнатальных

факторов с применением стандартизированного метода диагностики РАС.

В исследовании с помощью построения математической модели была определена комбинация факторов, ассоциированная с риском развития РАС, включающая генетические факторы, обусловленные полиморфизмом генов фолатного цикла, пре-, перинатальные (гипоксия и угроза прерывания беременности), которые повышают риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла. На основании полученной комбинации разработан алгоритм выявления «групп риска», позволяющий осуществлять раннее вмешательство, направленное на диагностику РАС.

Разработанный алгоритм позволяет выявить «группу риска» и осуществлять раннюю диагностику РАС у детей начиная с возраста 12 месяцев и включает в себя пошаговые действия для врача-специалиста при обращении к нему родителей или законных представителей ребёнка с жалобами на наличие у ребёнка следующих особенностей в психическом развитии: отсутствие или недостаточная реакция на слуховые раздражители при нормальном слухе, гиперсензитивность к обычным звукам, зрительный контакт не устанавливает или устанавливает кратковременно и формально («взгляд сквозь»), речевое развитие не соответствует возрастным нормам или ребенок произносит лишь отдельные слова без обращения, не реагирует на обращённую речь при нормальном слухе, не выполняет даже простых инструкций, отношения с матерью по типу «симбиоза» или «не видят» мать, не выделяет мать от окружения чужих людей, обследует людей как неодушевлённые предметы, проявляет агрессию по отношению к детям своего возраста или аутоагрессию, отсутствует указательный жест, не разделяет свои впечатления и эмоции с другими, интерес к неигровым предметам или использует игрушки не по назначению, избирательность в еде, низкий горловой плач или крик, стереотипные движения, раскачивания.

Также при установлении факта протекания внутриутробного и перинатального периода с осложнениями в виде угрозы прерывания беременности у матери и наличием гипоксии у ребёнка необходимо информировать родителя или законного

представителя о следующих этапах диагностики РАС и при их согласии провести молекулярно-генетическое и психодиагностическое исследование ребёнка.

I этап – этап молекулярно-генетического анализа – направлен на генотипирование полиморфизмов C677T и A66G генов MTHFR и MTRR.

Материалом для ПЦР-диагностики служит венозная кровь в объёме не менее 1 мл, которая собирается в одноразовую пластиковую пробирку с раствором антикоагулянта (4% раствор цитрата натрия в соотношении 500 мкл крови на 50 мкл антикоагулянта). Экстракция ДНК из полученных образцов выполняется согласно методике производителя наборов для выделения ДНК из цельной крови. Постановка реакций амплификации осуществляется согласно методике производителя наборов для определения полиморфизмов в генах фолатного цикла. Настройка амплификатора производится согласно руководству пользователя к прибору.

При выполнении всех этапов ПЦР с детекцией результата в режиме реального времени необходимо соблюдение основных требований, изложенных в инструкции по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13.11.2008 № 090-1008 «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)» [76].

По результатам анализа реакции амплификации при выявлении у ребёнка генотипа T/T полиморфизма C677T гена MTHFR и (или) генотипов G/G, A/G полиморфизма A66G гена MTRR, что свидетельствует о вероятности риска развития РАС, ребёнок направляется на обследование у психолога организаций здравоохранения, оказывающих специализированную психиатрическую помощь детскому населению с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2».

II этап алгоритма предполагает проведение специализированного обследования по ADOS-2 для диагностики РАС. Для объективизации диагностики РАС для детей раннего возраста используются модули Т, 1, 2, 3 «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2». Выбор модуля, фиксация наблюдаемого поведения, шифровка и перевод «шифра» в балльные оценки осуществляется согласно руководству

ADOS-2. Если в результате обследования по ADOS-2 (по Модулю Т) выявлен диапазон наличия нарушений в спектре аутизма от умеренного до высокого либо если в результате обследования по ADOS-2 (по модулям 1-3) выявлена диагностическая категория «аутизм» и степень выраженности аутистических симптомов высокая или умеренная, то это указывает на высокую степень вероятности наличия РАС у обследуемого ребёнка.

5.3 Клинические случаи по выявлению «групп риска» для ранней диагностики расстройств аутистического спектра

Клинический случай № 1. Михаил, 02.04.2016 г. р. (2 года).

Мать мальчика обратилась к участковому детскому врачу-психиатру по направлению врача-невролога с жалобами на то, что ребенок отстает в развитии, речь не развита, навыки самообслуживания не привиты, не сигнализирует о туалетных нуждах. Мальчик капризный, склонен к агрессии, эмоции выражает криком, двигательным возбуждением. Стереотипно бегают на цыпочках, размахивает кистями рук, раскачивается. С детьми играет, но игры активные, примитивные, без сюжетного замысла.

Анамнез. Мальчик от первой беременности, протекавшей с угрозой прерывания в первом триместре, токсикозом и преэклампсией с повышенным артериальным давлением. Роды самостоятельные, в сроке 39 недель. Вес при рождении – 3100,0 г. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Сидеть начал в 6 месяцев, ходить – в 11 месяцев. На грудном вскармливании 2 месяца. Отставал в речевом развитии от сверстников. Ребёнок наблюдался неврологом, амбулаторно принимал ноотропы, на фоне приёма препаратов видимой положительной динамики не наблюдалось. 03.10.17 г. консультирован сурдологом, заключение: Задержка речевого развития не обусловлена нарушением слуха. Посещает коррекционные занятия в центре коррекционно-развивающего обучения и реабилитации в г. Гродно.

Направлен на стационарное обследование участковым детским врачом-психиатром с предварительным диагнозом: Умственная отсталость с нарушениями поведения? Расстройство развития речи?

Госпитализирован в детское отделение УЗ «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-наркология» для обследования и уточнения диагноза.

Психическое состояние. Ребёнок осмотрен в присутствии матери. Мальчик беспокойный, капризный, тянет маму за руку к двери, кричит. Продуктивному контакту недоступен. Речевое развитие не соответствует возрастному периоду. Фразовая речь не развита, в активе голосовые подачи, звукокомплексы. Не реагирует на своё имя, на вопросы не отвечает, не выполняет инструкции. Пирамидку увидел, заинтересовался на несколько минут, взял самостоятельно, разобрал, разбросал и снова начал кричать, тянуть маму за руку, указывая матери на дверь её рукой. Отвлекаясь, успокаивается, начинает ходить на цыпочках, берет всё, что его заинтересовало, нюхает или начинает грызть. Не проявляет стойкого интереса к игрушкам. Контакт глаз мимолётный, скользящий. Нет указательного жеста, пользуется рукой матери. На замечания не реагирует. На уговоры матери реагирует криком. Демонстрирует общую моторную неловкость: неуклюжесть, расторможенность движений. Мальчик с детьми в отделении не взаимодействует. Со взрослым в игру не вступает, не копирует действия взрослого. Игра на уровне простого манипулирования с предметами без функционального назначения. Наблюдаются стереотипии: ходит по кругу, раскачивается. Навыки опрятности не сформированы. О туалетных нуждах не сигнализирует.

Соматическое состояние. Общее состояние удовлетворительное. Положение активное. Питание нормальное. Кожа и видимые слизистые чистые, обычной окраски. Отёков нет. Периферические лимфоузлы не увеличены. Мышечная и костно-суставная система без отклонения от нормы. Температура тела 36,8 °C. В лёгких дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, ясные. Артериальное давление 115/60 мм рт. ст. Язык: влажный. Зев не гиперемирован. Печень не увеличена. Перистальтика кишечника: есть. Живот мягкий, безболезненный. Перитонеальные симптомы отсутствуют. Стул ежедневный. Мочеиспускание свободное. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон.

Неврологическое обследование. Знаков очаговой патологии ЦНС не выявлено.

Были выполнены стандартные *лабораторные обследования:*

ОАК: лейкоциты – $5,5 \times 10^9$, эритроциты – $3,96 \times 10^{12}$, гемоглобин – 108 г/л, СОЭ – 4 мм/час, лейкоцитарная формула: палочкоядерные нейтрофилы – 1%, сегментоядерные нейтрофилы – 65%, лимфоциты – 27%, эозинофилы – 1%, моноциты – 6%. Глюкоза крови – 4,4 ммоль/л. *ОАМ:* реакция – кислая, прозрачная, удельный вес – 1018, сахар – отрицательный, белок – нет, плоский эпителий – 2-1-0 в поле зрения, лейкоциты – 1-0-1 в поле зрения.

Выполнено электроэнцефалографическое исследование (ЭЭГ). Тип ЭЭГ – дезорганизованный (с преобладанием тета- и дельта-волн). Альфа-ритм встречается в виде групп волн, больше выражена в центральных отведениях. Общий амплитудный уровень «бездоминантной» кривой средний. Признаки активации срединных и стволовых структур. Отмечаются билатерально-синхронные тета-волны в лобно-центральных отведениях. Патологической эпилептиформной активности на момент обследования не зарегистрировано.

Осмотрен психологом и логопедом. Психолог: выявляется эмоциональная и поведенческая отгороженность, наличие стереотипии, автономность и примитивность игры, нарушенный эмоциональный ответ. Логопед: задержка психоречевого развития.

В результате молекулярно-генетического обследования выявлены: гетерозиготный генотип С/Т полиморфизма С677Т гена MTHFR, гетерозиготный генотип А/С полиморфизма А1298С гена MTHFR, гетерозиготный генотип А/Г полиморфизма А66G гена MTRR, гетерозиготный генотип А/Г полиморфизма А2756G гена MTR.

Обследование по ADOS-2. Обследование проводилось с помощью плана диагностического обследования при аутизме ADOS-2 с использованием Модуля 1 (довербальный уровень / отдельные слова). Область общения и речи в связи с хронологическим возрастом: во время обследования ребенок не продемонстрировал использование отдельных слов, проявлялись ненаправленные вокализации, отличающиеся монотонным

характером. На протяжении всего обследования отсутствовала прямая эхолалия, не наблюдалось стереотипного или идиосинхронического использования слов или фраз. Использовал тело другого человека для общения, выражения просьбы. Навыки указывания с целью просьбы или привлечения внимания другого человека не демонстрировались. Отмечено отсутствие спонтанного использования описательных, общепринятых, эмоциональных жестов. Область социального взаимодействия характеризуется следующим: использует слабо модулированный глазной контакт для инициирования, окончания или регуляции социального взаимодействия. Не адресует выражение лица взрослому, наблюдаются ненаправленные выражения эмоций с ограниченным диапазоном проявления (смеётся без видимого стимула вне контекста социальной ситуации). Иницирует социальное взаимодействие не интегрировано: использует тело другого человека для общения, выражения просьбы. Не выражает адекватного удовольствия от общения со взрослым хотя бы с одним аспекте взаимодействия. Не реагирует на имя даже после предъявления телесного стимула. Не проявляет реакции на совместное внимание, когда предмет помещен непосредственно перед ним, не использует взгляд и указания взрослого для поиска взглядом предмета, находящегося рядом. Несколько необычное качество социальных инициатив во время всего обследования, которые ограничены личными потребностями и связаны с областью повышенных интересов. Ребёнок не предпринимал попытки вовлечь родителя и исследователя в свой интерес, удержать или направить внимание. Не откликался на большинство социальных реакций. Вовлекался в выполнение заданий с трудом. Взаимодействие во время обследования носило односторонний характер. Инициатива исходила от исследователя. Не передавал игрушки исследователю или родителю. Функционально не играл с игрушками. Область игры с учетом хронологического возраста: не играет механическими игрушками и играми-конструкторами. Символическая имитация с предметом-заменителем отсутствует. Во время обследования наблюдаются стереотипные формы поведения и ограниченные интересы: выкладывает игрушки в ряд, группирует одинаковые игрушки, отмечается ходьба на носочках. Двигательная

активность во время обследования несколько повышена, но не выражал беспокойства и агрессии во время обследования.

По результатам социального аффекта (СА) набрано 14 баллов.

По ограниченным и стереотипным формам поведения (ОПС) – 2 балла.

Всего по (СА+ОПС) – 16 баллов.

Сравнительный балл ADOS-2 – 6 баллов.

Диагностическая группа по ADOS-2: аутизм, степень выраженности симптомов, связанных со спектром аутизма, умеренная.

На основании полученных результатов обследования пациенту был выставлен диагноз: F.84.0 Детский аутизм, F.80.8 Расстройство развития речи.

Клинический случай № 2. Роман, 02.07.2016 г. р. (1 год 10 месяцев). Мать мальчика самостоятельно обратилась к участковому врачу-психиатру с жалобами на отставание в речевом развитии сына, его чрезмерную активность, крайнюю избирательность в еде (ест в основном твёрдую пищу, «не глотает» супы, не пьёт соки, компоты), не отзывается на имя, не выполняет инструкций, не реагирует на запреты. Привлекают его внимание в основном музыкальные игрушки. В поведении подвижный, неусидчивый. В последнее время мама отмечает, что ребёнок может стереотипно ходить по кругу, трясёт пальчиками, рассматривает их под разными углами, пользуется рукой матери, чтобы указать на предмет либо выполнить какое-либо действие с предметом. К детям интереса не проявляет, не играет. Не контролирует физиологические потребности. Направлен участковым детским врачом-психиатром для обследования и уточнения диагноза. При направлении был выставлен предварительный диагноз: Смешанное специфическое расстройство развития? Детский аутизм? Умственная отсталость?

Госпитализирован в детское отделение УЗ «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-наркология» для обследования и уточнения диагноза.

Анамнез. Мальчик от второй беременности, первых родов (в 2013 г. внематочная беременность). Беременность матери протекала на фоне угрозы прерывания в первом триместре,

фетоплацентарной недостаточности, миопии слабой степени обоих глаз. Роды в сроке 275 дней, путём операции кесарева сечения. Вес при рождении – 3150,0 г, рост – 52 см. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Диагноз при рождении: врожденная инфекция, группа риска по поражению ЦНС и анемии. Вскармливание искусственное с рождения. В возрасте двух месяцев находился на стационарном лечении в УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» с диагнозом: Ущемленная паховая грыжа справа, анемия лёгкой степени. Выполнено грыжесечение справа. Раннее физическое развитие по возрасту: сидеть начал с 6 месяцев, ходить – с 1 года. Первые простые слова появились до 1 года, фразовая речь не развивалась. Детское дошкольное учреждение не посещает.

Психическое состояние. Продуктивному контакту недоступен. На обращённую речь не реагирует, на имя не отзывается. Не понимает и не выполняет инструкций, не реагирует на запреты. Речь не соответствует возрастной норме. В речи отдельные лепетные звуки. Зрительный контакт мимолетный. Познавательный интерес низкий, игрушки разбрасывает, манипулирует ими не по назначению. Нет указательного жеста. Использует руку матери для указания предметов. Поведение хаотичное, нецеленаправленное, бегаёт стереотипно по кругу. Подносит пальчики близко к лицу, рассматривает, трясёт кистями рук. Эмоциональные реакции ограниченного диапазона. Качество и количество социальных инициатив низкое: при обращении к матери не устанавливает устойчивого зрительного контакта. Обращения носят редкий характер. В поведении беспокоен, на месте удерживается непродолжительное время. В отделении мальчик с детьми не играет, интерес к игрушкам низкий, разбрасывает их, выполняет манипулятивные действия с ними. Отмечается повышенный интерес к музыкальным игрушкам. Инструкции не выполняет, на запреты не реагирует. Зрительный контакт не устанавливает. Поведение хаотичное, бесцельное, отмечаются двигательные стереотипии: потряхивание кистями рук, хождение по кругу. Избирателен в еде. Навыки самообслуживания и опрятности не сформированы. Физиологические отправления не контролирует. Требуется контроля со стороны взрослого. Сон, аппетит в норме.

Соматическое состояние. Общее состояние удовлетворительное. Положение активное. Питание нормальное. Кожные покровы обычной окраски. Видимые слизистые без изменений. Отёков нет. Периферические лимфоузлы не увеличены. Мышечная и костно-суставная система без отклонения от нормы. Температура тела 36,6°C. В лёгких дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, ясные. Артериальное давление 120/60 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений – 62 удара в минуту. Язык влажный. Зев не гиперемирован. Печень не увеличена. Перистальтика кишечника: есть. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Стул ежедневный. Мочеиспускание свободное. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон.

Неврологическое обследование: знаков очаговой патологии ЦНС не выявлено.

Лабораторные обследования:

ОАК: лейкоциты – $8,0 \times 10^9$, эритроциты – $4,01 \times 10^{12}$, гемоглобин – 118 г/л, СОЭ – 7 мм/час, лейкоцитарная формула: сегментоядерные нейтрофилы – 31%, лимфоциты – 67%, эозинофилы – 2%, моноциты – 6%. Глюкоза крови – 4,8 ммоль/л. *ОАМ:* реакция – кислая, прозрачная, удельный вес – 1016, сахар – отрицательный, белок – нет, плоский эпителий – 2-1-0 в поле зрения, лейкоциты – 1-0-1 в поле зрения.

Выполнено электроэнцефалографическое исследование (ЭЭГ). Данных получить не удалось из-за невозможности выполнения методики обследования. Ребёнок недоступен контакту, не реагирует на обращения, категорически, сопротивляется при надевании электродного шлема, срывает его, несмотря на отвлечение от манипуляции просмотром мультфильма.

Осмотрен психологом и логопедом. Логопед: задержка психоречевого развития. Психолог: выявляется недостаточность потребности в контакте с окружающими, бедность аффективных проявлений, примитивность и стереотипность игры, нарушение вербальных коммуникаций и эмоционального ответа.

В результате молекулярно-генетического обследования выявлены: дикий генотип С/С полиморфизма С677Т гена MTHFR, дикий генотип А/А полиморфизма А1298С гена MTHFR, гетерозиготный генотип А/Г полиморфизма А66G гена MTRR,

гетерозиготный генотип A/G полиморфизма A2756G гена MTR.

Обследование ADOS-2. Обследование проводилось с использованием Модуля 1 (довербальный уровень/отдельные слова). Область общения и речи в связи с хронологическим возрастом: во время обследования ребёнок не продемонстрировал использование экспрессивной речи. Отмечалась ненаправленная вокализация. Частота вокализаций недостаточна для оценки интонации. Прямой эхолалии, стереотипного или идиосинхронического использования слов или фраз не наблюдалось, ребёнок не продуцировал достаточную спонтанную речь для оценки. Использовал тело другого человека для общения, для сообщения о социальном намерении (берёт мать за руку, чтобы продолжить игру). Навыки указывания с целью просьбы или привлечения внимания другого человека не демонстрировались. Отмечено отсутствие спонтанного использования описательных, общепринятых, эмоциональных жестов. Во время всего исследования отмечается слабо модулированный глазной контакт. Область социального взаимодействия характеризуется следующим: чаще использует телесный контакт для инициирования, окончания или регуляции социального взаимодействия. Иницирует социальное взаимодействие не интегрировано: использует отдельно телесный контакт без интеграции с глазным контактом. Выражение эмоций ограничены, преобладал отрицательный аффект. Однако может выражать некоторую степень адекватного удовольствия от общения со взрослым хотя бы в одном аспекте взаимодействия (задание с мыльными пузырями, оживился интерес, наблюдал за действиями исследователя). На имя реагирует после шести окликов. Отмечены трудности со спонтанным привлечением, показыванием и инициацией совместного внимания. Проявляет реакцию на совместное внимание, когда предмет помещён непосредственно перед ним, но не использует взгляд и указания взрослого для поиска взглядом предмета, находящегося рядом. Демонстрирует несколько необычное качество социальной инициативы. Количество социальных инициатив снижено, представлено областью повышенных интересов. При взаимодействии с исследователем внешне не выражает удовольствие от собственных действий, от взаимодействия

с родителем и/или исследователем во время игры. Область игры с учётом хронологического возраста: функционально не играл с игрушками, нет символической имитации с предметом заменителем, сюжетно-ролевой игры. Игра «понарошку» отсутствует. Общее качество раппорта в большей степени являлось односторонним. Но во время обследования вёл себя спокойно, изредка проявлял беспокойство, агрессии в отношении исследователя не наблюдалось. Стереотипные формы поведения и ограниченные интересы: наблюдался необычный сенсорный интерес или сенсорное поведение к музыкальным игрушкам, закрывает уши на звук сдуваемого шарика, прикладывает круглые предметы к лицу, ощупывает их. Отмечается своеобразный захват круглых игрушек, ощупывание, потряхивает кистями рук, ходит по кругу. Двигательная активность во время обследования несколько повышена.

По результатам социального аффекта (СА) набрано 12 баллов.

По ограниченным и стереотипным формам поведения (ОПС) – 4 балла.

Всего по (СА+ОПС) – 16 баллов.

Сравнительный балл ADOS-2 – 6 баллов.

Диагностическая группа по ADOS-2: аутизм, степень выраженности симптомов, связанных со спектром аутизма, умеренная.

На основании полученных результатов обследования пациенту был выставлен диагноз: F.84.0 Детский аутизм, F.80.8 Расстройство развития речи.

Таким образом, выявлена клинически значимая комбинация факторов, ассоциированная с риском развития РАС: гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С677Т гена MTHFR и генотипы G/G, A/G полиморфизма A66G гена MTRR на основании которой разработан алгоритм, позволяющий выявлять «группу риска» по развитию РАС и обеспечить раннее вмешательство, направленное на раннюю диагностику данных расстройств для организации медико-социального сопровождения. Пре-, перинатальные факторы (гипоксия и угроза прерывания беременности) повышают риск развития РАС при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концепция детского аутизма была введена Лео Каннером в 40 годах прошлого века (Kanner L., 1943). Ганс Аспергер (1943) и С.С. Мнухин (1947) независимо друг от друга описали разные клинические варианты детского аутизма. С тех пор и существует понятие раннего детского аутизма, определяющее особое состояние ребенка с врожденной недостаточностью в установлении социального контакта с окружающими и отрывом от реальности с неспособностью правильной оценки окружающей действительности.

В современной психиатрии доминирует мнение о полиэтиологичности детского аутизма. Показана необходимость объединения его множественных вариантов в понятие «детский аутизм» с четкой клинической дифференциацией. Следует отметить, что разные этиологические факторы могут вносить индивидуальные черты в формирование клинических форм РАС и существенно влиять на их течение и прогноз. Представляет интерес многообразие и неоднозначность данных о факторах риска развития РАС, их роль в формировании разных вариантов детского аутизма. Актуальность проблемы формирует недостаточность сведений о влиянии полиморфизмов генов фолатного цикла на степень выраженности клинических проявлений РАС.

Широкая вариабельность и многообразие клинических проявлений являются отличительной чертой РАС. Нарушения в коммуникативной сфере, нарастание социальной дезадаптации при отсутствии интеллектуальных нарушений, неспособность применить на практике полученное образование, найти работу, создать семью, необходимость в психолого-педагогическом сопровождении на протяжении всей жизни обуславливают значимость данной проблемы. Таким образом, недостаточная проработанность проблемы и её высокая медико-социальная значимость определяют актуальность настоящего исследования. Знание факторов риска развития РАС позволит создавать новые формы оказания помощи детям с аутизмом и его последствиями.

Нами проведено изучение особенностей полиморфизма генов фолатного цикла у детей с РАС и их связи со степенью тяжести

клинических проявлений РАС на базе детского отделения учреждения здравоохранения «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-наркология» в период с 2016 по 2020 год. Для достижения цели исследования решались следующие задачи: определить пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития РАС; оценить связь полиморфизмов генов фолатного цикла со степенью тяжести клинических проявлений РАС; определить комбинацию факторов, ассоциированных с риском развития РАС, и разработать алгоритм выявления «групп риска» для ранней диагностики РАС.

В исследование были включены 188 детей. В соответствии с дизайном исследования были выделены исследовательская (основная) группа, в которую были включены 103 пациента с РАС, проходивших обследование в УЗ «ГОКЦ «П-Н», направленных с предварительным диагнозом РАС. В последующем один ребёнок был исключён из исследования: после верификации диагноза с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» диагноз РАС не подтвердился. Группа составила 102 ребёнка с РАС, которым в соответствии с исследовательскими диагностическими критериями МКБ-10 был выставлен диагноз «расстройств аутистического спектра» (F84). Все включённые в группу полностью прошли исследование. В контрольную группу были включены 85 здоровых детей, проходивших обследование в учреждении здравоохранения «Детская центральная городская клиническая поликлиника г. Гродно». Итого в исследовании приняли участие 187 детей.

Объектом исследования были дети в возрасте 2-10 лет с расстройствами аутистического спектра и психически здоровые дети в возрасте 2-10 лет. Предметом исследования служили полиморфизм генов фолатного цикла, степень тяжести клинических проявлений РАС, пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы, повышающие риск развития РАС, при полиморфизме генов фолатного цикла.

В настоящей работе использованы следующие методы: клинико-психопатологический, анамнестический, экспериментально-психологический, молекулярно-генетический и методы медицинской статистики. Для оценки клинического состояния и дифференциации форм РАС использовался метод клинического

наблюдения с применением диагностических критериев МКБ-10. Результаты, полученные в ходе исследования обработаны с помощью методов математической статистики с целью установления статистической достоверности сравниваемых величин.

По результатам проведенного исследования сделаны выводы.

1. У детей с РАС статистически значимо чаще были выявлены генотипы по мутантной аллели (гетерозиготы и гомозиготы) полиморфизмов генов фолатного цикла в сравнении с контрольной группой детей ($U=3164$; $p<0,001$). Количество выявленных гомозиготных генотипов по мутантной аллели выше в группе детей с РАС, чем в группе здоровых детей ($U=3067,5$; $p<0,001$). Установлено, что частота встречаемости гомозиготных генотипов: Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR ($\chi^2=9,367$; $p<0,05$) и G/G полиморфизма А66G гена МТRР ($\chi^2=12,635$; $p<0,001$) у детей с РАС достоверно выше, чем в группе здоровых детей. Частота распределения мутантной аллели 677Т полиморфизма С677Т гена МТНFR ($\chi^2=9,864$; $p<0,001$) и аллели 66G полиморфизма А66G гена МТRР ($\chi^2=12,977$; $p<0,001$) статистически значимо выше в группе детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей. Мутантная аллель 677Т полиморфизма С677Т гена МТНFR (ОШ=1,98; [95% ДИ 1,29-3,06]; $p<0,001$) и аллель 66G полиморфизма А66G гена МТRР (ОШ=2,14; [95% ДИ 1,41-3,06]; $p<0,001$) ассоциированы с риском развития РАС [12, 24, 23, 13, 25, 149].

2. Течение внутриутробного и перинатального периода у детей с расстройствами аутистического спектра в сравнении со здоровыми детьми достоверно чаще было осложнено угрозой прерывания беременности (на 12 ± 2 неделе беременности) ($\chi^2=13,229$; $p<0,001$), преэклампсией ($\chi^2=5,357$; $p<0,05$), ФПН ($\chi^2=5,194$; $p<0,05$). У детей с РАС статистически значимо чаще была выявлена внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до родов, во время родов и родоразрешения ($\chi^2=10,050$; $p<0,05$), чем у здоровых детей. Дети с РАС на 2,6 месяца меньше находились на грудном вскармливании ($U=2217$; $p<0,001$) и в большем проценте случаев (31%) вскармливались искусственно ($\chi^2=8,107$; $p<0,05$) в отличие от психически здоровых детей (12,9%). Определены факторы, которые повышают риск развития РАС:

угроза прерывания беременности (ОШ=3,82; [95% ДИ 1,80-8,11]; $p<0,001$), искусственное вскармливание (ОШ=3,38; [95% ДИ 1,44-6,56]; $p<0,05$), преэклампсия (ОШ=3,30; [95% ДИ 1,14-7,93]; $p<0,05$), ФПН (ОШ=3,20; [95% ДИ 1,12-9,07]; $p<0,05$), внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до родов, во время родов и родоразрешения (ОШ=3,17; [95% ДИ 1,52-6,62]; $p<0,05$) [15, 17, 27, 20, 2].

3. Распределение генотипов полиморфизма С677Т гена МТНFR ($\chi^2=27,326$; $p<0,001$), полиморфизма А1298С гена МТНFR ($\chi^2=9,949$; $p<0,05$), полиморфизма А66G гена МТRR ($\chi^2=21,522$; $p<0,001$) и полиморфизма А2756G гена МТR ($\chi^2=22,209$; $p<0,001$) связано со степенью тяжести клинических проявлений РАС. Установлено, что мутантные гомозиготы статистически значимо распределены при высокой степени тяжести РАС, тогда как гетерозиготные генотипы полиморфизмов генов фолатного цикла статистически чаще встречаются при умеренной степени тяжести клинических проявлений РАС [23, 15, 22, 21, 19, 108, 16, 14, 26, 46, 61].

4. Установлена комбинация факторов, ассоциированных с риском развития РАС: гомозиготные генотипы Т/Т полиморфизма С677Т гена МТНFR (ОШ=3,84; [95% ДИ 1,18-13,61]; $p<0,05$) и G/G полиморфизма А66G гена МТRR (ОШ=10,73; [95% ДИ 3,57-35,52]; $p<0,001$); гетерозиготный генотип А/G полиморфизма А66G гена МТRR (ОШ=2,41; [95% ДИ 1,02-5,94]; $p<0,05$). Пре-, перинатальные факторы – внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до родов, во время родов и родоразрешения (ОШ=12,70; [95% ДИ 5,77-30,53]; $p<0,001$), и угроза прерывания беременности (на 12 ± 2 неделе беременности) (ОШ=5,58; [95% ДИ 2,25-14,96]; $p<0,001$) – повышают риск развития РАС при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла. На основании установленной комбинации факторов риска развития РАС разработан алгоритм выявления «групп риска», позволяющий осуществлять раннюю диагностику расстройств аутистического спектра [15, 18, 17, 45, 3].

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С учетом выявленных в ходе исследования особенностей расстройств аутистического спектра (клинический, молекулярно-генетический и диагностический аспекты), их факторов риска были сформулированы рекомендации по ранней диагностике РАС с целью своевременного проведения комплекса медицинских услуг, направленных на оказание психиатрической помощи пациентам с РАС на разных этапах течения заболевания.

1. Выявлены клинически значимая комбинация факторов, ассоциированная с риском развития РАС: гомозиготный генотип Т/Т полиморфизма С677Т гена MTHFR и генотипы G/G и A/G полиморфизма A66G гена MTRR, а также пре-, перинатальные факторы, повышающие риск развития РАС, – внутриутробная гипоксия, впервые отмеченная до начала родов, во время родов и родоразрешения, и угроза прерывания беременности на 12±2 неделе, которые рекомендованы к использованию для раннего выявления «группы риска» по развитию РАС [15, 17, 3].

2. В диагностически сложных ситуациях с неоднозначными клиническими данными наряду с результатами молекулярно-генетического анализа и пре-, перинатальными факторами, повышающими риск развития РАС, рекомендовано специализированное обследование с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме, ADOS-2» с определением степени тяжести клинических признаков расстройств аутистического спектра [18, 3].

3. В случае выявления особенностей в психическом развитии ребёнка, а также при наличии в анамнезе пре-, перинатальных факторов, повышающих риск развития РАС, при имеющемся полиморфизме генов фолатного цикла разработанный алгоритм рекомендован к использованию врачами-педиатрами для своевременного направления ребёнка к врачу-психиатру с целью раннего выявления «группы риска» по развитию РАС [3].

4. Разработанный алгоритм выявления «групп риска» может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на оказание психиатрической помощи пациентам на стационарном и полустационарном этапах, а также

в амбулаторной практике, с целью осуществления ранней диагностики РАС [3].

5. Диагностику расстройств аутистического спектра, ассоциированных с полиморфизмом генов фолатного цикла, у детей раннего возраста необходимо проводить в соответствии с инструкцией по применению, утверждённой Министерством здравоохранения Республики Беларусь (регистрационный номер 072-0621 от 22.07.2021) [3].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаптивные иммунные реакции матери и формирование расстройств аутистического спектра у ребёнка / А. Б. Полетаев [и др.] // Вест. СПб. ун-та. – 2015. – Т. 11, № 4. – С. 99-113.
2. Акушерско-гинекологический анамнез матерей детей с расстройствами аутистического спектра [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк, Н. С. Букина, Н. Н. Шостко // Детская психиатрическая служба: состояние и перспективы развития : сб. материалов Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 50-летию дет. психиатр. службы Гродн. обл., 19-20 окт. 2017 г., [Гродно] / [редкол.: В. А. Снежицкий, С. Б. Вольф, В. А. Карпюк (отв. ред.)]. – Гродно : ГрГМУ, 2017. – С. 12-15. – 1 электрон. опт. диск.
3. Алгоритм диагностики расстройств аутистического спектра у детей раннего возраста : инструкция по применению № 072-0621 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 22.07.2021 / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк. – Гродно, 2021. – 4 с.
4. Альбицкая, Ж. В. Ранний детский аутизм – проблемы и трудности первичной диагностики при междисциплинарном взаимодействии / Ж. В. Альбицкая // Мед. альманах. – 2016. – № 2. – С. 108.
5. Амелина, Е. Г. Нейропсихологическая дифференциация и коррекция расстройств аутистического спектра у дошкольников. Современное дошкольное образование / Е. Г. Амелина // Теория и практика – 2015. – № 7. – С. 50-55.
6. Анализ полиморфизма гена метионин-синтазы-редуктазы в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой области / О. С. Чуйкин [и др.] // Стоматол. дет. Возраста и профилактика. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 57-60.
7. Аутизм : методические рекомендации / О. Я. Гречанина [и др.]. – Харьков : Харьков. нац. мед. ун-т, 2013. – 66 с.
8. Аутизм в России: противоречивое поле диагностики и статистики / Л. М. Мухарямова, Ж. В. Савельева, И. Б. Кузнецова, Л. Р. Гарапшина // Журнал исследований социальной политики. – 2021. – Т. 19. – № 3. – С. 437-450.
9. Аутизм у детей: мифы, диагностика, коррекция / Ю. А. Фесенко [и др.]. – СПб. : Алеф-Пресс, 2020. – 187 с.

10. Баландина, О. В. Расстройства аутистического спектра : клин. рек. / О. В. Баландина ; Ассоциация психиатров и психологов. – Москва, 2020. – 75 с.

11. Белоусова, Е. Д. Эпилепсия и расстройства аутистического спектра у детей / Е. Д. Белоусова, Н. Н. Заваденко // Журн. неврол. и психиатрии. – 2018. – Т. 11, № 5. – С. 80-85.

12. Бизюкевич, С. В. Генетические аспекты этиопатогенеза расстройств аутистического спектра. Обзор литературы / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 148-156.

13. Бизюкевич, С. В. Генетический полиморфизм ферментов фолатного цикла у детей с расстройствами аутистического спектра / С. В. Бизюкевич // Психиатрическая наука в истории и перспективе : материалы Юбил. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию Науч. центра психического здоровья / редкол.: Т. П. Ключник [и др.]. – Москва : ФГБНУ НЦПЗ, 2019. – С. 171-172.

14. Бизюкевич, С. В. Зависимость степени выраженности аутистических признаков от количества мутаций в генах фолатного цикла / С. В. Бизюкевич // IV Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Сухареvские чтения. Детская психиатрия: вчера, сегодня, завтра» 3-4 июня 2021 г., г. Москва : сб. ст. / [редкол.: М. А. Бебчук (отв. ред.) и др.]. – Москва, 2021. – С. 59-62.

15. Бизюкевич, С. В. Перинатальные факторы риска развития расстройств аутистического спектра у детей и их взаимосвязь с полиморфизмом генов фолатного цикла / С. В. Бизюкевич // Педиатрия. Вост. Европа. – Т. 9, № 3. – С. 369-381.

16. Бизюкевич, С. В. Степень выраженности нарушений речи у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированных с генетическим полиморфизмом ферментов фолатного цикла [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич // Современные достижения молодых ученых в медицине – 2018 : сб. материалов V Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 23 нояб. 2018 г. / [В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 38-41. – 1 электрон. опт. диск.

17. Бизюкевич, С. В. Генетические и перинатальные факторы риска расстройств аутистического спектра / С. В. Бизюкевич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 306-310.

18. Бизюкевич, С. В. Диагностические возможности «плана диагностического обследования при аутизме» (ADOS-2) / С. В. Бизюкевич // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2021. – Том 12, № 3. – С. 432-442.

19. Бизюкевич, С. В. Дифференциальная диагностика расстройств аутистического спектра у детей с нарушениями речи [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич // Актуальные проблемы диагностики, лечения, реабилитации психических расстройств и неврологических заболеваний : сб. материалов обл. науч.-практ. семинара, посвящ. 25-летию мед.-психол. фак-та Гродн. гос. мед. ун-та, 18 мая 2018 г., [Гродно / редкол.: М. А. Ассанович и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 26-29. – 1 электрон. опт. диск.

20. Бизюкевич, С. В. Инвалидность детского населения вследствие расстройств аутистического спектра в г. Гродно и Гродненской области [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., 26-27 янв. 2017 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2017. – С. 66-69. – 1 электрон. опт. диск.

21. Бизюкевич, С. В. Опыт применения интервью для диагностики аутизма (ADI-R) / С. В. Бизюкевич // Актуальные вопросы современной психотерапии : сб. науч. тр. Респ. науч.-практ. конф. посвящ. 25-летию каф. психотерапии и медицинской психологии БелМАПО, 6 окт. 2017 г. / Белорус. мед. акад. последипломного образования. – Минск : БелМАПО, 2017. – Минск : БелМАПО, 2017. – С. 59-64.

22. Бизюкевич, С. В. Оценка степени выраженности расстройств аутистического спектра у детей с общими расстройствами развития : материалы V Всерос. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием «Актуальные проблемы науки XXI века» (45-й конф. молодых ученых и 69-й студенческой науч. конф. Смолен. гос. мед. ун-та) / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк // Смолен. мед. альманах. – 2017. – № 1. – С. 29-33.

23. Бизюкевич, С. В. Полиморфизм генов фолатного цикла и степень тяжести расстройств аутистического спектра / С. В. Бизюкевич // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2020. – Т. 11, № 3. – С. 479-488.

24. Бизюкевич, С. В. Сравнительная характеристика распределения аллелей и полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с расстройствами аутистического спектра и здоровых детей г. Гродно и Гродненской области / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 106-111.

25. Бизюкевич, С. В. Сравнительный анализ распределения полиморфизмов генов фолатного цикла у здоровых детей и детей с расстройствами аутистического спектра [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич, А. М. Мирончик, М. Л. Гладкий // Сборник материалов конференции студентов и молодых ученых, посвященный 80-летию со дня рождения профессора Болтрукевича Станислава Ивановича, май 2020 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – С. 55-56. – 1 электрон. опт. диск.

26. Бизюкевич, С. В. Степень тяжести расстройств аутистического спектра [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич // Сборник материалов конференции студентов и молодых ученых, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Борец Валентины Максимовны, 20-21 апреля 2017 г., [Гродно] / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2017. – С. 57-58. – 1 электрон. опт. диск.

27. Бизюкевич, С. В. Структура детского населения и поведенческими находящегося под диспансерным наблюдением в связи с психическими расстройствами / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк, Н. Н. Шостко // Современные достижения молодых ученых в медицине : сб. материалов II Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 27 нояб. 2015 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – С. 19-22.

28. Биоинформатическая технология оценки функциональных последствий геномных вариаций / И. Ю. Юров [и др.] // Фундам. исследования. – 2015. – № 2-19. – С. 4209-4214.

29. Болгарова, М. А. Современное состояние ранней диагностики детей с признаками расстройств аутистического спектра / М. А. Болгарова // Педагогика. – 2020. – № 3-2. – С. 54-56.

30. Бородина Л. Г. Типология отклоняющегося развития. Варианты аутистических расстройств / Л. Г. Бородина, Н. Я. Семаго, М. М. Семаго. – Москва : Генезис, 2020. – 368 с.

31. Взаимосвязь развития расстройств аутистического спектра с перинатальной патологией / Е. Н. Примышева [и др.] // Тавр. журн. психиатр. – 2017. – Т. 21, № 4. – С. 50-56.

32. Виноградова, К. Н. Этиология расстройств аутистического спектра / К. Н. Виноградова // Соврем. зарубежная психология. – 2014. – Т. 3, № 4. – С. 112-131.

33. Воеводин, С. М. Профилактика врождённых пороков развития у плода (обзор литературы) / С. М. Воеводин, Т. В. Шеманаева // Соврем. проблемы здравоохранения и мед. статистики. – 2018. – № 2. – С. 86-93.

34. Выявление признаков аутистических расстройств у детей дошкольного возраста : метод. рек. : дайджест по материалам печати и Интернета / Бюджет. учреждение высш. образования Ханты-Манс. авт. округа – Югры «Сургут. гос. пед. ун-т», Регион. ресурсный центр. – Сургут : [б. и.], 2019 – 76 с.

35. Геномные аномалии при аутизме: поиск биомаркёров с помощью молекулярно-цитогенетических технологий / С. Г. Ворсанова [и др.] // Совр. проб. науки и образования. – 2014. – № 2. – С. 3-7.

36. Гипоксия плода и новорожденного. Первичная реанимация, выхаживание и лечение новорожденных в остром постгипоксическом периоде : учеб.-метод. пособие / Т. Н. Войтович [и др.]. – Минск : БГМУ, 2020. – 20 с.

37. Горбачев, А. Л. Аутизм. Медико-биологические маркеры / А. Л. Горбачев // Вестник Северо-Восточного государственного университета. – 2019. – № 32. – С. 6-12.

38. Горюнова, А. В. Критерии диагностики аутизма в раннем возрасте / А. В. Горюнова, Ю. С. Шевченко // Аутизм: медико-психолого-педагогическая, социально-экономическая и правовая проблема : XII Мнухинские чтения, Санкт-Петербург, 27-28 марта 2014 г. / под общ. ред. Ю. А. Фесенко, Д. Ю. Шигашова. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 32-33.

39. Григоренко, Е. Л. Расстройства аутистического спектра. Вводный курс : учеб. пособие для студентов / Е. Л. Григоренко. – Москва : Практика, 2018. – 281 с.

40. Данилина, К. К. Использование методики ADOS для диагностики расстройств аутистического спектра у подростков и взрослых / К. К. Данилина, Н. Ю. Коровина // Детская и подростковая реабилитация. – 2019. – № 3(39). – С. 54-56.

41. Диагностика аутизма – опыт применения современных методик / Н. Н. Карякин, В. В. Дворянинова, О. В. Баландина, Г. А. Мишанов // Вопросы психического здоровья детей и подростков. – 2018. – Т. 18, № 1. – С. 105-109.

42. Диагностика аутизма: взаимодействие врачей и родителей в интересах детей / Л. М. Мухарямова, Ж. В. Савельева, К. К. Яхин [и др.] // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2020. – Т. 11, № 3. – С. 644-653.

43. До середины прошлого столетия понятия «аутизм» не существовало [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sb.by/articles/perevernutyu-mir44.html>. – Дата доступа: 16.11.2020.

44. Докукина, Т. В. Клинико-эпидемиологические характеристики расстройств аутистического спектра в Республике Беларусь / Т. В. Докукина, С. А. Марчук // Вестн. Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2016. – Т. 3, № 2. – С. 51-55.

45. Забагонская, Е. Р. Анализ диагностики ранних признаков расстройств аутистического спектра [Электронный ресурс] / Е. Р. Забагонская, С. В. Бизюкевич // Сборник материалов конференции студентов и молодых ученых, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Борец Валентины Максимовны, 20-21 апреля 2017 г., [Гродно] / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2017. – С. 201-202. – 1 электрон. опт. диск.

46. Забагонская, Е. Р. Диагностика уровня развития адаптивного поведения у детей с расстройствами аутистического спектра [Электронный ресурс] / Е. Р. Забагонская, В. А. Пивоварчик, С. В. Бизюкевич // Сборник материалов научно-практической конференции студентов и молодых

ученых, посвященной 60-летию учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», 26-27 апреля 2018 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 202. – 1 электрон. опт. диск.

47. Значимость аллельных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у детей с дебютом поражения ЦНС в грудном возрасте / О. А. Львова [и др.] // Перм. мед. журн. – 2012. – Т. 2, № 5. – С. 51-62.

48. Иванов Е. С. Детский аутизм: диагностика и коррекция / Е. С. Иванов, Л. Н. Демьянчук, Р. В. Демьянчук. – СПб : Дидактика Плюс, 2004. – 80 с.

49. Иванов, М. В. Диагностика нарушений психического развития в раннем детском возрасте (скрининговая методика) / М. В. Иванов, Н. В. Симашкова, Г. В. Козловская // Методологические и прикладные проблемы медицинской (клинической) психологии : коллективная монография / под ред. Н. В. Зверевой, И. Ф. Рожиной. – Москва, 2018. – С. 212-221.

50. Иванов, М. В. Эпидемиология риска возникновения расстройств аутистического спектра у детей 16-24 месяцев жизни (данные по России за 2015-2016 гг.) / М. В. Иванов, Н. В. Симашкова, Г. В. Козловская, Е. В. Макушкин // Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2018 – Т. 118, № 5. – С. 12-19.

51. Иммунологические аспекты расстройств аутистического спектра у детей / Д. В. Мальцев [и др.] // Клин. иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2016. – № 3. – С. 9-14.

52. Иммунологический кластер при диагностике расстройств аутистического спектра (технология «аутизм-иммунно-тест»). Технология диагностики : метод. рек. / Т. П. Ключник [и др.]. – Москва : ФГБНУ НЦПЗ, 2017. – 24 с.

53. Инвалидность вследствие аутизма у детей в Республике Беларусь / Т. С. Голубева [и др.] // Репрод. здоровье. Вост. Европа. – 2012. – № 6. – С. 49-59.

54. Инвалидность вследствие расстройств аутистического спектра у населения Орловской области в динамике за 2015-2019 гг. / Л. Н. Агошкова [и др.] // Мед.-соц. проблемы инвалидности. – 2021. – № 1. – С. 110-119.

55. Инструкция о порядке медицинской помощи детям с расстройствами аутистического спектра (для врачей общей практики, врачей-педиатров, психологов, медицинских сестер и других медицинских работников, оказывающих специализированную медицинскую помощь детям с расстройствами аутистического спектра). – Минск : Белсэнс, 2023. – 35 с.

56. К Всемирному дню психического здоровья [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://rspch.by/ru/node/169>. – Дата доступа: 28.11.2021.

57. Калмыкова, Н. Ю. Аутизм и расстройства аутистического спектра: направления диагностики (сообщение 1) / Н. Ю. Калмыкова // Специальная психология: исследования и практика. – 2019. – № 1. – С. 35-44.

58. Калмыкова, Н. Ю. Аутизм и расстройства аутистического спектра: направления диагностики (сообщение 2) / Н. Ю. Калмыкова // Специальная психология: исследования и практика. – 2019. – № 2. – С. 38-47.

59. Касимова, Л. Н. Трудности диагностики аутизма у детей на ранних этапах (анкетирование родителей) / Л. Н. Касимова, Ж. В. Альбицкая, В. В. Дворянинова // Вопр. психического здоровья детей и подростков. – 2017. – № 1. – С. 79-83.

60. Клинические аспекты гипергомоцистеинемии : монография / В. А. Снежицкий [и др.]; под общ. ред. В. А. Снежицкого, В. М. Пырочкина. – Гродно : ГрГМУ, 2011. – 290 с.

61. Козел, Д. В. Синдром дефицита внимания и гиперактивности у детей с расстройствами аутистического спектра [Электронный ресурс] / Д. В. Козел, Д. А. Ковальчук, С. В. Бизюкевич // Сборник материалов научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 60-летию учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», 26-27 апреля 2018 г. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 282-283. – 1 электрон. опт. диск.

62. Козловская, Г. В. Психодиагностический тест «Гном» для определения уровня психического развития детей раннего возраста / Г. В. Козловская, М. А. Калинина, А. В. Горюнова. – 3-е изд. испр. и доп. – Москва : МГИУ, 2017. – 118 с.

63. Корреляция данных скрининговой и диагностической методик для выявления расстройств спектра аутизма / У. А. Мамохина [и др.] // Комплексное сопровождение детей с расстройствами аутистического спектра : сб. материалов III Всерос. науч.-практ. конф, 28-30 нояб. 2018 г., Москва / под общ. ред. А. В. Хаустова. – Москва, 2018. – С. 21-23.

64. Крючков, В. П. Система помощи детям с расстройством аутистического спектра в США / В. П. Крючков, Я. Муллаева // Актуальные проблемы логопедии : сборник научных и научно-методических трудов / Саратовский нац. исслед. гос. ун-т имени Н. Г. Чернышевского. – Саратов : Издательство «Саратовский источник», 2020. – С. 5-24.

65. Ларина, Т. Н. Фолатный цикл: патогенетические механизмы осложнений беременности (литературный обзор) / Т. Н. Ларина, С. В. Супрун // Бюл. физиол. и патол. дыхания. – 2018. – № 70. – С. 113-120.

66. Макаров, И. В. Диагностика детского аутизма: ошибки и трудности / И. В. Макаров, А. С. Автенок // Соц. и клин. психиатрия. – 2018. – Т. 28, № 23. – С. 74-81.

67. Макушкин, Е. В. Распространенность аутизма: подлинная и мнимая / Е. В. Макушкин, И. В. Макаров, В. Э. Пашковский // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2019. – Т. 119. – № 2. – С. 80-86.

68. Мальцев, Д. В. Дефицит натуральных киллерных Т-клеток / Д. В. Мальцев // Украин. мед. журн. – 2015. – № 1. – С. 65-70.

69. Мальцев, Д. В. Дефицит натуральных киллеров: гетерогенность, клиника, диагностика, лечение, клинические примеры / Д. В. Мальцев, Я. Я. Недопако // Украин. мед. журн. – 2013. – № 2. – С. 129-142.

70. Мальцев, Д. В. Расширенный клинико-лабораторный фенотип при генетически детерминированном нарушении фолатного цикла у детей с расстройствами спектра аутизма / Д. В. Мальцев // Междунар. неврол. журн. – 2018. – Т. 5, № 99. – С. 5-19.

71. Мальцев, Д. В. Эффективность высокодозовой внутривенной иммуноглобулинотерапии у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с генетическим дефицитом ферментов фолатного цикла / Д. В. Мальцев, С. К. Евтушенко // Междунар. неврол. журн. – 2016. – № 2. – С. 35-48.

72. Марунова, Л. А. Использование шкалы CARS (шкала количественной оценки детского аутизма) с целью диагностики детей группы РАС в процессе коррекционно-реабилитационной работы / Л. А. Марунова // Психология и педагогика: методика и проблемы практического применения : материалы IV Междунар. науч.-практ. конф., Новосибирск, 14 марта – 12 апр. 2017 г. / С. С. Чернов (гл. ред.). – Новосибирск, 2017. – С. 88-95.

73. Марунова, Л. А. Использование шкалы CARS (шкала количественной оценки детского аутизма) с целью диагностики детей группы РАС в процессе коррекционно-реабилитационной работы / Л. А. Марунова // Психология и педагогика: методика и проблемы практического применения : материалы IV Междунар. науч.-практ. конф., 14 марта-12 апр. 2017, Новосибирск / С. С. Чернов (гл. ред.). – Новосибирск : Центр развития научного сотрудничества», 2017. – С. 88-95.

74. Марчук, С. А. Полиморфизм генов металлотионеина как этиопатогенетический фактор развития расстройств аутистического спектра / С. А. Марчук, Т. В. Докукина, А. А. Гилеп // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. науч. тр. / Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной. – Вып. V. – Минск : РНМБ, 2015. – С. 121-124.

75. Метод комплексной диагностики расстройств аутистического спектра у детей : инструкция по применению № 248-1218: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 24.12.2018 / С. А. Марчук, Т. В. Докукина, Т. А. Емельянцева, О. Ю. Захаревич, С. А. Гребень, А. И. Мартыненко, А. А. Гилеп, Г. В. Сергеев, И. В. Гайдукевич ; РНПЦ психического здоровья. – Минск, 2018. – 28 с.

76. Метод определения мутаций 5382insc и 4153delc гена brca1: инструкция по применению № 249-1218: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.12.2018 / Е. Л. Савоневич, Т. Л. Степура, А. В. Шульга. – Гродно, 2018. – 7 с.

77. МКБ. Международная классификация болезней (10-й пересмотр). Классификация психических и поведенческих расстройств. Клинические описания и указания по диагностике / под ред. Ю. Л. Нуллера, С. Ю. Циркина. – СПб. : Оверлайн, 1994. – 303 с.

78. Молекулярно-генетическая диагностика расстройств аутистического спектра / Т. В. Докукина [и др.] // Вестн. Совета

молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2016. – Т. 3, № 2 (13). – С. 46-50.

79. Морозов, С. А. Выявление риска развития расстройств аутистического спектра в условиях первичного звена здравоохранения у детей раннего возраста / С. В. Морозов. – Воронеж : [б. и.], 2014. – 52 с.

80. Морозов, С. А. Некоторые особенности ранней помощи детям с расстройствами аутистического спектра / С. А. Морозов, С. С. Морозова, Т. И. Морозова // Аутизм и нарушения развития. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 19-31.

81. Напалкова, С. А. Факторы риска развития аутизма у детей Самарской области / С. А. Напалкова, Л. И. Мазур // Современные проблемы естественных наук и медицины : Сборник статей Всероссийской научн. конф., Йошкар-Ола, 18-20 мая 2020 г. – Йошкар-Ола: Марийский гос. ун-т, 2020. – С. 504-507.

82. Нестабильность генома головного мозга: этиология, патогенез и новые биологические маркёры психических болезней / А. С. Тиганов [и др.] // Вестн. РАМН. – 2012. – № 9. – С.45-53.

83. Никифорова, Е. Ю. Дифференциальная диагностика детей с РАС на первичном приеме / Е. Ю. Никифорова, Е. О. Бойко // Аутизм: медико-психолого-педагогическая, социально-экономическая и правовая проблема : XII Мнухинские чтения, Санкт-Петербург, 27-28 марта 2014 г. / под общ. ред. Ю. А. Фесенко, Д. Ю. Шигапова. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 25-27.

84. Об изменении законов по вопросам здравоохранения и оказания психологической помощи [Электронный ресурс]: Закон Респ. Беларусь, 11 дек. 2020 г. № 94-3 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=H12000094>. – Дата доступа: 19.07.2021.

85. Организация психиатрической помощи детям с расстройствами аутистического спектра: популяционный скрининг, многокомпонентная реабилитационная система / В. А. Макашева [и др.] // Психическое здоровье детей страны – будущее здоровье нации: Сб. материалов Всерос. конф. по

детской психиатрии и наркологии, 4-6 октяб. 2016 г., Ярославль / под ред. проф. Е. В. Макушкина. – Ярославль, 2016. – С. 243–244.

86. Особенности спектральных характеристик ЭЭГ у лиц с расстройствами аутистического спектра / Н. Л. Горбачевская [и др.] // Психиатрия. – 2018. – № 2. – С. 48-54.

87. Оценка течения деформации позвоночника у детей с идиопатическим сколиозом на основе исследования полиморфизма генов фолатного цикла / А. Н. Филиппова [и др.] // Ежегодная научно-практическая конференция по актуальным вопросам травматологии и ортопедии детского возраста «Турнеровские чтения» : сб. ст., Санкт-Петербург, 03-04 окт. 2019 г. – Санкт-Петербург : Науч.-исслед. дет. ортопед. ин-т им. Г. И. Турнера, 2019. – С. 342-348.

88. План диагностического обследования при аутизме : руководство / К. Лорд [и др.] ; пер. на рус. язык и адаптация А. Сорокина [и др.]. – [Б. м.] : Giunti O. S., 2016. – 544 с.

89. Полиморфизм генов фолатного цикла у детей с нарушением кишечного всасывания / Т. А. Шуматова [и др.] // Тихоокеанский медицинский конгресс, Владивосток, 17-19 сентября 2014 года. – Владивосток : Медицина Дальнего Востока, 2014. – С. 67-68.

90. Полиморфизмы генов фолатного цикла и тромбофилии в патогенезе нарушений мозгового кровообращения у детей / Е. А. Сорокина [и др.] // Современные диагностические и лечебные технологии : сб. науч.-практ. работ, посвящ. 20-летию Краевого гос. бюджет. учрежд. здравоохранения «Диагностический центр Алтайского края». – Барнаул : Графикс, 2013. – С. 338-340.

91. Приоритизация процессов-кандидатов при умственной отсталости и аутизме на основе данных молекулярного кариотипирования о вариациях числа копий последовательностей ДНК / М. А. Зеленова [и др.] // Междунар. журн. приклад. и фундам. исследований. – 2018. – № 3. – С. 100-104.

92. Проблемы диагностики расстройств аутистического спектра у детей / Е. А. Ткачук [и др.] // Тихоокеан. мед. журн. – 2020. – № 4. – С. 35-43.

93. Протокол педагогического обследования детей с расстройствами аутистического спектра / А. В. Хаустов [и др.] // Практ. упр. ДОУ. – 2014. – № 1. – С. 32-50.

94. Психиатрическая помощь населению Республики Беларусь: информ. – стат. сб. Министерство здравоохранения РБ, ГУ «РНПЦ психического здоровья» / сост.: А. И. Старцев [и др.] // Профессиональные издания. – Минск, 2015. – С. 7-8.

95. Психическое здоровье на всех этапах жизни: стратегии психопрофилактики [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mentalhealth.by/press-tsentr/novosti/16-dekabrya-sostoyalas-konferentsiya-na-temu-psikhicheskoe-zdorov-e-na-vsekh-etapakh-zhizni-strategii-psikhoprofilaktiki>. – Дата доступа: 10.12.2021.

96. Распределение аллельных вариантов генов ферментов фолатного цикла и уровень гомоцистеина у пациентов с врожденными пороками сердца с функционально единственным желудочком / Ю. Г. Лугачева [и др.] // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 2015. – Т. 60, № 6. – С. 55-59.

97. Расстройства аутистического спектра / Н. В. Симашкова, Т. П. Ключник // Расстройства аутистического спектра у детей : науч.-практ. рук. / под ред. Н. В. Симашковой. – Москва : Авторская акад., 2013. – С. 13-38.

98. Раттер, М. Интервью для диагностики аутизма : руководство / М. Раттер, Э. Л. Куто, К. Лорд ; [русскоязычную версию подгот.: А. Сорокин и др.]. – [Б. м.] : Giunti O.S., 2014. – 122 с.

99. Раттер, М. Социально-коммуникативный опросник : руководство / М. Раттер, Э. Бэйли, К. Лорд ; [рус. изд. подгот.: А. Моховиков и др.]. – [Б. м.] : Giunti O.S., 2013. – 40 с.

100. Роль наследственной отягощенности по нервно-психическим заболеваниям и антенатальной и перинатальной патологии в развитии раннего детского аутизма / Н. В. Филиппова, Н. В. Алешина, М. А. Деева, Ю. Б. Барыльник // Бюллетень мед. интернет-конф. – 2015. – Т. 5, № 2. – С. 132-133.

101. Ряполова, Т. Л. Некоторые актуальные вопросы диагностики и оказания помощи детям с аутизмом / Т. Л. Ряполова // Журн. психiatr. и мед. психологии. – 2017. – № 3. – С. 56-65.

102. Северин, А. П. Диагностика расстройств аутистического спектра в детском возрасте / А. П. Северин // Chronos. – 2021. – Т. 6, № 8(58). – С. 35-38.

103. Семенович, Е. А. Гены фолатного цикла: частота и клиническая роль полиморфизмов / Е. А. Семенович // Фундаментальная наука в современной медицине 2019: сб. материалов сателл.-дис. научн.-практ. конф. студ. и мол. учён., Минск, 22 марта 2019 г., / под общ. ред. А. В. Давидян, Е. Ю. Пристром, Е. А. Погодина. – Минск : БГМУ, 2019. – С. 382-384.

104. Сорокин, А. Б. Скрининговые методы для выявления целевой группы «спектр аутизма» педагогами и психологами / А. Б. Сорокин, М. А. Зотова, М. Ю. Коровина // Психол. наука и образование. – 2016. – Т. 21, № 3. – С. 7-15.

105. Сорокин, А. Б. Скрининговые методы для выявления целевой группы «спектр аутизма» педагогами и психологами / А. Б. Сорокин, М. А. Зотова, М. Ю. Коровина // Психол. наука и образование. – 2016. – Т. 21, № 3. – С. 7-15.

106. Сорокин, А. Б. Изучение особенностей поведения и общения у детей ясельного возраста с подозрением на наличие расстройства в спектре аутизма при помощи «Плана диагностического обследования при аутизме» ADOS-2 / А. Б. Сорокин, Е. Ю. Давыдова // Аутизм и нарушения развития. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 38-44.

107. Стандартизированные методы диагностики аутизма: опыт использования ADOS-2 и ADI-R / А. Б. Сорокин [и др.] // Аутизм и нарушения развития. – 2021. – Т. 19, № 1. – С. 12-24.

108. Степень выраженности аутистических признаков у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированных с генетическим полиморфизмом ферментов фолатного цикла [Электронный ресурс] / С. В. Бизюкевич, В. А. Карпюк, Т. Л. Степура, Н. С. Букина, М. В. Воронко // Материалы республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета, 28 сентября 2018 г. / редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 86-89. – 1 электрон. опт. диск.

109. Строева, И. А. Применение «Плана диагностического обследования при аутизме» ADOS-2 в условиях реабилитационного центра для детей и подростков с ограниченными возможностями здоровья / И. А. Строева

// Комплексное сопровождение детей с расстройствами аутистического спектра : сб. материалов III Всерос. науч.-практ. конф., 22–24 нояб. 2017 г., Москва / МГППУ. – Москва, 2017. – С. 270-274.

110. Технология выявления детей группы риска по наличию синдромальной формы аутизма и умственной отсталости – синдрома FXS / Н. Л. Горбачевская [и др.] // Дефектология – 2019. – № 2. – С. 11-20.

111. Трифонова, Е. А. Аутизм как проявление нарушения молекулярных механизмов регуляции развития и функции синапсов / Е. А. Трифонова [и др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 6, № 20. – С. 959-967.

112. Устинова, Н. В. Роль педиатра в раннем определении риска развития, диагностике и медицинском сопровождении детей с расстройствами аутистического спектра / Н. В. Устинова, Л. С. Намазова-Баранова // Вопр. соврем. педиатрии. – 2021. – Т. 20, № 2. – С. 116-121.

113. Фесенко, Ю. А. Диагностика раннего детского аутизма: противоречия и объективная оценка / Ю. А. Фесенко // Children's Medicine of the North-West. – 2021. – Т. 9. – № 1. – С. 356-357.

114. Фесенко, Ю. А. Современная проблема диагностики раннего детского аутизма (РДА) и расстройств аутистического спектра (РАС) / Ю. А. Фесенко, Е. Ю. Фесенко // Вестн. Ленингр. гос. ун-та им. А. С. Пушкина. – 2021. – № 2. – С. 374-382.

115. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема коррекции / В. О. Бицадзе [и др.] // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2016. – № 1. – С. 38-48.

116. Фолаты в XXI веке вне беременности. Только доказанные факты / под ред. В. Е. Радзинского. – Москва: Status Paesens, 2014. – 16 с.

117. Цитогенетика и молекулярная цитогенетика аутизма / С. Г. Ворсанова [и др.]. – Москва : Изд. дом Акад. Естествознания, 2016. – 144 с.

118. Чулков, В. С. Полиморфизм генов фолатного цикла при онкологических заболеваниях / В. С. Чулков, Вл. С. Чулков // Вестн. Совета молодых учёных Челябин. обл. – 2018. – Т. 2, № 1. – С. 104-106.

119. Шапошникова, А. Ф. Опыт применения шкалы количественной оценки детского аутизма (ШКОДА) для исследования особенностей структуры и динамики высокофункциональных аутистических расстройств у детей младшего школьного возраста / А. Ф. Шапошникова, О. А. Соловьева, В. Л. Колосова // Психическое здоровье. – 2015. – № 9 – С. 50-54.

120. Шапошникова, А. Ф. Методика обследования детей 6–12 лет при помощи шкалы количественной оценки детского аутизма // Психическое здоровье. – 2013. – № 5. – С. 7-11.

121. Шапошникова, А. Ф. Результаты пилотажного обследования детей при помощи шкалы количественной оценки детского аутизма (ШКОДА) // Психическое здоровье. – 2012. – № 8 – С. 44-48.

122. Шапошникова, А. Ф. Скрининговая диагностика и динамический контроль детей с заболеваниями аутистического спектра с использованием рейтинговой шкалы для оценки детского аутизма / А. Ф. Шапошникова // Соц. и клин. психиатрия. – 2012. – Т. 22, № 2. – С. 63-68.

123. Шапошникова, А. Ф. Скрининговая диагностика и динамический контроль детей с заболеваниями аутистического спектра с использованием рейтинговой шкалы для оценки детского аутизма / А. Ф. Шапошникова // Соц. и клин. психиатрия. – 2012. – Т. 22, № 2. – С. 63-68.

124. Шмакова, О. П. Структурно-динамические особенности ранней инвалидности вследствие психических болезней / О. П. Шмакова // Мед.-фармацевт. журн. Пульс. – 2020. – Т. 22, № 10. – С. 62-67.

125. Эпидемиология риска возникновения расстройств аутистического спектра у детей 16–24 месяцев жизни (данные по России за 2015-2016 гг.) / Н. В. Симашкова [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2018. – Т. 118, № 5-2. – С. 12-19.

126. Aberrations in folate metabolic pathway and altered susceptibility to autism /N. S. Mohammad [et al.] // Psychiatr. Genet. – 2009. – Vol. 19, iss. 4. – P. 171-176.

127. Advanced glycation endproducts, dityrosine and arginine transporter dysfunction in autism – a source of biomarkers for clinical

- diagnosis / A. Anwar [et al.] // Mol. Autism. – 2018. – Vol. 9. – P. 3.
128. Advanced parental age and autism risk in children: a systematic review and meta-analysis / S. Wu [et al.] // Acta Psychiat. Scand. – 2017. – Vol. 135, iss. 1. – P. 29-41.
129. Advancing maternal age is associated with increasing risk for autism: a review and meta-analysis / S. Sandin [et al.] // J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry. – 2012. – Vol. 51, iss. 5. – P. 477-486.
130. Advancing paternal age and autism / A. Reichenberg [et al.] // Arch. Gen. Psychiatry. – 2006. – Vol. 63, iss. 9. – P. 1026-1032.
131. Al-Mazidi, S. Plasma Levels of Alpha and Gamma Synucleins in Autism Spectrum Disorder: An Indicator of Severity / S. Al-Mazidi, L. Y. Al-Ayadhi // J. Med. Princ. Pract. – 2021. – Vol. 30, iss. 2. – P. 160-167.
132. Approaches to studying and manipulating the enteric microbiome to improve autism symptoms / R. E. Frye [et al.] // Microb. Ecol. Health. Dis. – 2015. – Vol. 26. – Art. 26878.
133. Arab, A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants confer potential vulnerability to autism spectrum disorder in a Saudi community / A. Arab, N. Elhawary // J. Neuropsychiatr Dis. Treat. – 2019. – Vol. 15. – P. 3569-3581.
134. Association Between MTHFR C677T Polymorphism and Susceptibility to Autism Spectrum Disorders: A Meta-Analysis in Chinese Han Population / Chen-Xi Li [et al.] // J. Front. Pediatr. – 2021. – Vol. 9. – Art. 598805.
135. Association between prenatal and perinatal factors and the severity of clinical presentation of children with ASD : Report from the ELENA COHORT / S. Traver [et al.] // J. Psychiatr. Res. – 2021. – Vol. 137 – P. 634-642.
136. Association of Autism with Maternal Infections, Perinatal and Other Risk Factors: A Case-Control Study / D. R. Guisso [et al.] // J. Autism Dev. Disord. – 2018. – Vol. 48, iss. 6. – P. 2010-2021.
137. Association of Cesarean Delivery with Risk of Neurodevelopmental and Psychiatric Disorders in the Offspring: A Systematic Review and Meta-analysis / Z. Tianyang [et al.] // JAMA Netw. Open. – 2019. – Vol. 2, iss. 8. – Art. e1910236.
138. Association of MTHFR 677C>T and 1298A>C Polymorphisms with Susceptibility to Autism: a Systematic Review

and Meta-Analysis / T. Sadeghiyeh [et al.] // Asian J. Psychiatry. – 2019. – Vol. 46. – P. 54-61.

139. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B₁₂ and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population / Z. Zhang [et al.] // J. Med. Sci. Monit. – 2018. – Vol. 24. – P. 370-376.

140. Atypical brain asymmetry in autism-a candidate for clinically meaningful stratification / D. L. Floris [et al.] // Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging. – 2021. – Vol. 6, iss. 8. – P. 802-812.

141. Autism spectrum disorder: early identification and management in primary care / L. P. M. Tsang [et al.] // J. Singapore Med. – 2019. – Vol. 60, iss. 7. – P. 324-328.

142. Autism spectrum disorders and other developmental disorders: from raising awareness to building capacity : meeting report (Geneva, 16-18 September 2013) / World Health Organization. – Geneva : WHO Document Production Services, 2013. – 50 p.

143. Autism-associated miR-873 regulates ARID1B, SHANK3 and NRXN2 involved in neurodevelopment / J. Lu [et al.] // Transl. Psychiatry. – 2020. – Vol. 10, iss. 1. – P. 418.

144. Baio, J. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014 / J. Baio [et al.] // MMWR Surveil. Sum. – 2018. – Vol. 67, iss. 6. – P. 1-23.

145. Ballouz, S. Strength of functional signature correlates with effect size in autism / S. Ballouz, J. Gillis // Genome Med. – 2017. – Vol. 9, iss. 1. – P. 64.

146. Barriers to early identification of autism in Brazil / S. H. Ribeiro [et al.] // Braz. J. Psychiatry – 2017. – Vol. 39, iss. 4. – P. 352-354.

147. Better together: developmental screening and monitoring best identify children who need early intervention / B. Barger [et al.] // J. Disabil. Health. – 2018. – Vol. 11, iss. 3. – P. 420-426.

148. Biomarkers in Autism / A. S. Andre [et al.] // Front. Psychiatry. – 2014. – Vol. 5. – P. 100.

149. Biziukevich, S. Polymorphism of folate cycle genes in children with autism spectrum disorders : abstracts of the 27th European Congress of Psychiatry / S. Biziukevich // European Psychiatry. – 2019. – Vol. 56, S1. – P. 43-44.

150. Blocking and binding folate receptor alpha autoantibodies identify novel autism spectrum disorder subgroups / R. E. Frye [et al.] // *Front. Neurosci.* – 2016. – Vol. 10, iss. 80. – P. 1-10.

151. Boris, M. Association of MTHFR Gene Variants with Autism / M. Boris [et al.] // *J. Am. Physicians Surg.* – 2004. – Vol. 9, iss. 4. – P. 106-108.

152. Bozhkova, E. D. Autism Spectrum Disorders: State-of-the-Art (Review) / E. D. Bozhkova, O. V. Balandina, A. A. Kononov // *Modern Technologies in Medicine.* – 2020. – Vol. 12. – No 2. – P. 111-120.

153. Brown, A. S. Epidemiologic studies of exposure to prenatal infection and risk of schizophrenia and autism / A. S. Brown // *Dev. Neurobiol.* – 2012. – Vol. 72, iss. 10. – P. 1272-1276.

154. Burstyn, I. Autism spectrum disorders, maternal characteristics and obstetric complications among singletons born in Alberta, Canada / I. Burstyn, F. Sithole, L. Zwaigenbaum // *Chronic Dis. Can.* – 2010. – Vol. 30, iss. 4. – P. 125-134.

155. Carter, C. J. Autism genes are selectively targeted by environmental pollutants including pesticides, heavy metals, bisphenol A, phthalates and many others in food, cosmetics or household products / C. J. Carter, R. A. Blizard // *Neurochem. Int.* – 2016. – Vol. 101. – P. 83-109.

156. Carter, C. S. Developmental consequences of oxytocin / C. S. Carter // *Physiol. Behav.* – 2003. – Vol. 79, iss. 3. – P. 383-397.

157. Clinical and molecular characteristics of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder / R. Shannon [et al.] // *Mol. Diag. Ther.* – 2018. – Vol. 22, iss. 5. – P. 571-593.

158. Clinical utility of folate pathway genetic polymorphisms in the diagnosis of autism spectrum disorders / S. M. Naushad [et al.] // *Psychiatr. Genet.* – 2016. – Vol. 26, iss. 6. – P. 281-286.

159. Comparison of perinatal risk factors associated with autism spectrum disorder (ASD), intellectual disability (ID), and co-occurring ASD and ID / L. A. Schieve [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2015. – Vol. 4, iss. 8. – P. 2361-2372.

160. Costs of autism spectrum disorders in the United Kingdom and the United States / A. V. Buescher [et al.] // *Clin. Pediatr.* – 2014. – Vol. 168, iss. 8. – P. 721-728.

161. Council on children with disabilities, section on developmental and behavioral pediatrics. Identification, Evaluation,

and Management of Children With Autism Spectrum Disorder / S. L. Hyman [et al.] // Pediatrics. – 2020. – Vol. 145, iss. 1. – Art. e20193447.

162. Dawkins, T. The relationship between the Childhood Autism Rating Scale: Second Edition and clinical diagnosis utilizing the DSM-IV-TR and the DSM-5 / T. Dawkins, A. T. Meyer, M. E. Van Bourgondien // J. Autism Dev. Disord. – 2016. – Vol. 46, iss. 10. – P. 3361-3368.

163. Defining the broader, medium and narrow autism phenotype among parents using the Autism Spectrum Quotient (AQ) / S. Wheelwright [et al.] // Mol. Autism. – 2020. – Vol. 1, iss. 1. – P. 10.

164. Delhey, L. M. The effect of mitochondrial supplements on mitochondrial activity in children with autism spectrum disorder / L. M. Delhey // J. Clin. Med. – 2017. – Vol. 6, iss. 2. – P. 18-25.

165. Desai, A. Prevention of behavioral deficits in rats exposed to folate receptor antibodies: Implication in autism / A. Desai, J. M. Sequeira, E. V. Quadros // Mol. Psychiat. – 2016. – Vol. 22, iss. 9. – P. 1291-1297.

166. Diagnosis of Autism Spectrum Disorder After Age 5 in Children Evaluated Longitudinally Since / I. S. Ozonoff [et al.] // J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry. – 2018. – Vol. 57, iss. 11. – P. 849-857.

167. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders / American Psychiatric Association. – 5th ed. – Arlington, V A : American Psychiatric Publishing, 2013. – 992 p.

168. Diagnostic stability in young children at risk for autism spectrum disorder: a baby siblings research consortium study / S. Ozonoff [et al.] // J. Child. Psychol. Psychiatry. – 2015. – Vol. 56, iss. 9. – P. 988-998.

169. Diagnostic tests for autism spectrum disorder (ASD) in preschool children / M. Randall [et al.] // Review Cochrane Database Syst Rev. – 2018. – Vol. 7, iss. 7. – Art. CD009044.

170. Differences in folate production by bifidobacteria of different origins / S. Hirosuke [et al.] // Biosci. Microbiota Food Health. – 2015. – Vol. 34, iss. 4. – P. 87-93.

171. Dumont-Mathieu, T. Screening for autism in young children: The Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT)

and other measures / T. Dumont-Mathieu, D. Fein // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* – 2005. – Vol. 11, iss. 3. – P. 253-262.

172. Early detection of autism spectrum disorder in young isi Zulu-speaking children in South Africa / N. J. Chambers [et al.] // *Autism.* – 2017. – Vol. 21, iss. 5. – P. 518-526.

173. Early diagnosis of autism spectrum disorder: stability and change in clinical diagnosis and symptom presentation / W. Guthrie [et al.] // *J. Child Psychol. Psychiatry.* – 2013. – Vol. 54, iss. 5. – P. 582-590.

174. Early environmental risk factors for neurodevelopmental disorders – a systematic review of twin and sibling studies / T. Carlsson [et al.] // *J. Dev. Psychopathol.* – 2020. – P. 1-48.

175. Early Identification of Autism Spectrum Disorder: Recommendations for Practice and Research / L. Zwaigenbaum [et al.] // *Pediatrics.* – 2015. – Vol. 136, suppl. 1. – P. 10-40.

176. Early screening of autism spectrum disorder: recommendations for practice and research / L. Zwaigenbaum [et al.] // *Pediatrics.* – 2015. – Vol. 136, suppl. 1. – P. 60-81.

177. Evaluation of antibodies to cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in patients with autism spectrum disorder / S. Valayi [et al.] // *Human Antibodies.* – 2018. – Vol. 26, iss. 3. – P. 165-169.

178. Evaluation of Autism Spectrum Disorder in Early Childhood According to the DSM-5 Diagnostic Criteria / D. Kaba, A. S. Aysev // *Turk. Psikiyatri Derg.* – 2020. – Vol. 31, iss. 2. – P. 106-112.

179. Examination of the Korean Modified Checklist of Autism in Toddlers: Item Response Theory / H. Seung [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2015. – Vol. 45, iss. 9. – P. 2744-2757.

180. Examining the phenotypic heterogeneity of early autism spectrum disorder: subtypes and short-term outcomes / S. H. Kim [et al.] // *J. Child. Psychol. Psychiatry.* – 2016. – Vol. 57, iss. 1. – P. 93-102.

181. Factors associated with DSM-5 severity level ratings for autism spectrum disorder / M. O. Mazurek [et al.] // *Autism.* – 2019. – Vol. 23, iss. 2. – P. 468-476.

182. Fetene, D. M. Mechanisms in endocrinology: Maternal thyroid dysfunction during pregnancy and behavioural and psychiatric disorders of children: a systematic review / D. M. Fetene, K. S. Betts,

- R. Alati // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 177, iss. 5. – P. 261-273.
183. First Alarm and Time of Diagnosis in Autism Spectrum Disorders / S. Mitroulaki [et al.] // *Compr. Child Adolesc. Nur.* – 2020. – P. 1-17.
184. Folate receptor autoantibodies are prevalent in children diagnosed with autism spectrum disorder, their normal siblings and parents / E. V. Quadros [et al.] // *Autism Res.* – 2018. – Vol. 11, iss. 5. – P. 707-712.
185. French, L. Annual Research Review: Early intervention for infants and young children with, or at-risk of, autism spectrum disorder: a systematic review / L. French, E. M. M. Kennedy // *J. Child. Psychol. Psychiatry.* – 2018. – Vol. 59, iss. 4. – P. 444-456.
186. Fuller, E. A. The Effects of Early Intervention on Social Communication Outcomes for Children with Autism Spectrum Disorder: A Meta-analysis / E. A. Fuller, A. P. Kaiser // *J. Autism Dev. Disord.* – 2020. – Vol. 50, iss. 5. – P. 1683-1700.
187. Haghiri, R. Analysis of methionine synthase (rs1805087) gene polymorphism in autism patients in Northern Iran / R. Haghiri [et al.] // *J. Acta. Neurobiol. Exp.* – 2016. – Vol. 76, iss. 4. – P. 318-323.
188. Heng, H. A Systems biology perspective on molecular cytogenetics / H. Heng, S. Regan // *Current Bioinformatics.* – 2017. – Vol. 12, iss. 1. – P. 4-10.
189. High prevalence of serum folate receptor autoantibodies in children with autism spectrum disorders / Z. Jiaxiu [et al.] // *Biomarkers.* – 2018. – Vol. 23, iss. 7. – P. 622-624.
190. Howlin, P. Autism spectrum disorder / P. Howlin, I. Magiati // *Curr. Opin. Psychiatry.* – 2017. – Vol. 30, iss. 2. – P. 69-76.
191. Hus, V. The autism diagnostic observation schedule, module 4: revised algorithm and standardized severity scores / V. Hus, C. Lord // *J. Autism Dev. Disord.* – 2014. – Vol. 44, iss. 8. – P. 1996-2012.
192. Iakoucheva, L. M. Getting to the Cores of Autism / L. M. Iakoucheva, A. R. Muotri, J. Sebat // *J. Cell.* – 2019. – Vol. 178, iss. 6. – P. 1287-1298.
193. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder / J. Grove [et al.] // *Nat. Genet.* – 2019. – Vol. 51, iss. 3. – P. 431-444.

194. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder / J. Grove [et al.] // J. Nat. Genet. – 2019. – Vol. 51, iss. 3. – P. 431-444.

195. Impaired gas exchange at birth and risk of intellectual disability and autism: A Meta-analysis / A. Modabbernia [et al.] // J. Autism Dev. Disord. – 2016. – Vol. 46, iss. 5. – P. 1847-1859.

196. Improving autism perinatal risk factors: A systematic review / J. Cheng [et al.] // J. Med. Hypotheses. – 2019. – Vol. 127. – P. 26-33.

197. Inherited and de novo genetic risk for autism impacts shared networks / E. K. Ruzzo [et al.] // J. Cell. – 2019. – Vol. 178, iss. 4. – P. 850-866.e826.

198. Innate and adaptive immune responses to viral infection and vaccination / T. Aoshi [et al.] // Curr. Opin. Virol. – 2011. – Vol. 1, iss. 4. – P. 226-232.

199. Is there a causal role for homocysteine concentration in blood pressure? A Mendelian randomization study/ M. C. Borges [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2016. – Vol. 103, iss. 1. – P. 39-49.

200. Kamp-Becker, I. Autism spectrum disorder in childhood and adults: diagnosis and differential diagnoses / I. Kamp-Becker, S. Stroth, T. Stehr // Der Nervenarzt. – 2020. – Vol. 91, iss. 5. – P. 457-470.

201. Khowaja, M. Utilizing two-tiered screening for early detection of autism spectrum disorder / M. Khowaja, D. L. Robins, L. B. Adamson // Autism. – 2018. – Vol. 22, iss. 7. – P. 881-890.

202. Kraan, C. M. Epigenetics of fragile X syndrome and fragile X-related disorders / C. M. Kraan, D. E. Godler, D. J. Amor // Dev. Med. Child Neurol. – 2018. – Vol. 61, iss. 2. – P. 121-127.

203. Landa, R. J. Diagnosis of autism spectrum disorders in the first 3 years of life / R. J. Landa // Nat. Clin. Pract. Neurol. – 2008. – Vol. 4, iss. 3. – P. 138-147.

204. Large-Scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism / F. K. Satterstrom [et al.] // J. Cell. – 2020. – Vol. 180, iss. 3. – P. 568-584.

205. Linking risk factors and outcomes in autism spectrum disorder: is there evidence for resilience? / M. Elsabbagh [et al.] // BMJ. – 2020. – Vol. 368. – Art. l6880.

206. Lynn, M. M. Association of autism with induced or augmented childbirth / M. M. Lynn, R. Anthonopolos, G. G. Simon / J. Am. Obstet. Gynecol. – 2014. – Vol. 210, iss. 5. – P. 492-3.

207. Maddox, B. B. Comorbid Social Anxiety Disorder in Adults with Autism Spectrum Disorder / B. B. Maddox, S. W. White // J. Autism Devel. Disord. – 2015. – Vol. 45, № 12. – P. 3949-3960.

208. Magnitude and heterogeneity of brain structural abnormalities in 22q11.2 deletion syndrome: a meta-analysis / M. Rogdaki [et al.] // Mol. Psychiatry. – 2020. – Vol. 25, iss. 8. – P. 1704-1717.

209. Mandy, W. P. Testing the construct validity of proposed criteria for DSM-5 autism spectrum disorder / W. P. Mandy, T. Charman, D. H. Skuse // J. Am. Acad. Child. Adolesc Psychiatry. – 2012. – Vol. 51, iss. 1. – P. 41-50.

210. Maramba, L. A. Pre- and perinatal risk factors for autism spectrum disorder in a New Jersey cohort / L. A. Maramba, W. He, X. Ming // J. Child. Neurol. – 2014. – Vol. 29, iss. 12. – P. 1645-1651.

211. Maternal breastfeeding and autism spectrum disorder in children: A systematic review and meta-analysis / P.-T. Tseng [et al.] // Nutr. Neurosci. – 2019. – Vol. 22, iss. 5. – P. 354-362.

212. Maternal cytomegalovirus seropositivity and autism symptoms in children / B. L. Slawinski [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2018. – Vol. 79, iss. 5. – Art. e12840.

213. Maternal genetics influences fetal neurodevelopment and postnatal autism spectrum disorder-like phenotype by modulating in-utero immunosuppression / R. Jaini [et al.] // Transl. Psychiatry. – 2021. – Vol. 11, iss. 1. – P. 348.

214. Maternal Immunoreactivity to Herpes Simplex Virus 2 and Risk of Autism Spectrum Disorder in Male off spring / M. Mahic [et al.] // J. mSphere. – 2017. Vol. 2, iss. 1. – C. 16-17.

215. Maternal thyroid function in early pregnancy and child neurodevelopmental disorders: A Danish Nationwide Case-Cohort Study / S. L. Andersen [et al.] // Thyroid. – 2018. – Vol. 28, iss. 4. – P. 537-546.

216. Maternal Type 1 Diabetes and Risk of Autism in off spring / A. H. Xiang [et al.] // JAMA. – 2018. – Vol. 320, iss. 1. – P. 89-91.

217. Mawson, A. R. Rubella virus infection, the congenital rubella syndrome, and the link to autism / A. R. Mawson, A. M. Croft // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2019. – Vol. 16, iss. 19. – P. 3543.

218. Meredith, R. M. Sensitive and critical periods during neurotypical and aberrant neurodevelopment: A framework for neurodevelopmental disorders / R. M. Meredith // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2015. – Vol. 50. – P. 180-188.

219. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han population / T. Guo [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. – 2012. – Vol. 16, iss. 8. – P. 968-973.

220. Mild prenatal hypoxia-ischemia leads to social deficits and central and peripheral inflammation in exposed offspring / D. J. O. Driscoll [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2018. – Vol. 69. – P. 418-427.

221. MTHFR 1298A>C is a risk factor for autism spectrum disorder in the Korean population. / J. Park [et al.] // *Psychiatr. Research*. – 2014. – Vol. 215, iss. 1. – P. 258-259.

222. MTHFR C677T is not a risk factor for autism spectrum disorders in South Brazil / P. A. dos Santos [et al.] // *Psychiatr. Genetics*. – 2010. – Vol. 20, iss. 4. – P. 187-189.

223. Narzisi, A. Prevalence of Autism Spectrum Disorder in a large Italian catchment area: a school-based population study within the ASDEU project / A. Narzisi [et al.] // *Epidemiol. Psychiat. Sci.* – 2018. – Vol. 29. – P. 1-10.

224. Neurodevelopmental disorders and adaptive functions: A study of children with autism spectrum disorders (ASD) and/or attention deficit and hyperactivity disorder (ADHD) / V. Scandurra [et al.] // *Front. Psychiatry*. – 2019. – Vol. 10. – P. 673.

225. Niyazov, D. M. Primary mitochondrial disease and secondary mitochondrial dysfunction: importance of distinction for diagnosis and treatment / D. M. Niyazov, S. G. Kahler, R. E. Frye // *Mol. Syndromol.* – 2016. – Vol. 7, iss. 3. – P. 122-137.

226. Novel biomarkers of metabolic dysfunction in autism spectrum disorder: potential for biological diagnostic markers / A. M. Khemakhem [et al.] // *Metab. Brain. Dis.* – 2017. – Vol. 32, № 6. – P. 97-1983.

227. Oxidative Stress, Folate Receptor Autoimmunity, and CSF Findings in Severe Infantile Autism / V. T. Ramaekers [et al.] // *Autism Res. Treat.* – 2020. – Vol. 2020. – Art. 9095284.
228. Oxidative stress-related biomarkers in autism: Systematic review and meta-analyses / A. Frustaci [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 52, iss. 10. – P. 2128-2141.
229. Parental age and autism spectrum disorders / E. T. Parner [et al.] // *Ann. Epidemiol.* – 2012. – Vol. 22, iss. 3. – P. 143-150.
230. Parmeggiani, A. Early features of autism spectrum disorder: a cross-sectional study / A. Parmeggiani, A. Corinaldesi, A. Posar // *Ital. J. Pediatr.* – 2019. – Vol. 45, iss. 1. – P. 144.
231. Pathways to a diagnosis of autism spectrum disorder in Germany: a survey of parents / J. Höfer [et al.] // *Child Adolesc. Psychiatry Ment. Health.* – 2019. – Vol. 13. – Art. 16.
232. Patterns of autism symptoms: hidden structure in the ADOS and ADI-R instruments / J. Lefort-Besnard [et al.] // *Transl. Psychiatry.* – 2020. – Vol. 10, iss. 1. – P. 257.
233. Perinatal factors and the development of autism: a population study / E. J. Glasson [et al.] // *Arch. Gen. Psychiatry.* – 2004. – Vol. 61, iss. 6. – P. 618-627.
234. Perinatal Factors Associated with Autism Spectrum Disorder in Jamaican Children / S. Saroukhani [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2020. – Vol. 50, iss. 9. – P. 3341-3357.
235. Perinatal stress, brain inflammation and risk of autism- Review and proposal / A. Angelidou [et al.] // *BMC Pediatrics.* – 2012. – Vol. 12, iss. 1. – P. 2-12.
236. Population- and family-based studies associate the MTHFR gene with idiopathic autism in simplex families / X. Liu [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2011. – Vol. 41, iss. 7. – P. 938-944.
237. Potential Risk Factors for Autism in Children Requiring Neonatal Intensive Care Unit / M. B. Matos [et al.] // *Neuropediatrics.* – 2021. – Vol. 52, iss. 4. – P. 284-293.
238. Practice parameter: screening and diagnosis of autism: report of the quality standards subcommittee of the American academy of neurology and the child neurology society / P. A. Filipek [et al.] // *Neurology.* – 2000. – Vol. 55, iss. 4. – P. 468-479.

239. Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism / V. Guinchat [et al.] // *Acta Obst. Gynecol. Scand.* – 2012. – Vol. 91, iss. 3. – P. 287-300.

240. Preeclampsia, placental insufficiency, and autism spectrum disorder or developmental delay / C. K. Walker [et al.] // *JAMA Pediatrics.* – 2015. – Vol. 169, № 2. – P. 154.

241. Prenatal and perinatal risk factors and the clinical implications on autism spectrum disorder / Y. L. Chien [etal.] // *Autism.* – 2019. – Vol. 23. – P. 783-791.

242. Prenatal, perinatal, and neonatal factors associated with autism spectrum disorders / D. Bilder [et al.] // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 123, iss. 5. – P. 1293-1300.

243. Prenatal, perinatal, and neonatal risk factors of autism spectrum disorder / E. Hisle-Gorman [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2018. – Vol. 84, iss. 2. – P. 190-198.

244. Primary Care Autism Screening and Later Autism Diagnosis / P. S. Carbone [et al.] // *Pediatrics.* – 2020. – Vol. 146, iss. 2. – Art. e20192314.

245. Primary Care Autism Screening and Later Autism Diagnosis / P. S. Carbone [et al.] // *Pediatrics.* – 2020. – Vol. 146, iss. 2. – Art. e20192314.

246. Quantitative and Qualitative Sex Modulations in the Brain Anatomy of Autism / C. Hammill [et al.] // *Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging.* – 2021. Vol. 6, iss. 9. – P. 898-909.

247. Reference Guide ICD-11 [Electronic resource]. – Mode of access: <http://icd.who.int/icd11refguide/en/index.html>. – Date access: 02.02.2020.

248. Richard, E. F. Folate metabolism abnormalities in autism: potential biomarkers / E. F. Richard, C. S. John, V. Q. Edward // *Biomark. Med.* – 2017. – Vol. 8, № 11. – P. 1-13.

249. Richard, E. F. Folate metabolism abnormalities in autism: potential biomarkers / E. F. Richard, C. S. John, V. Q. Edward // *Biomark. Med.* – 2017. – Vol. 8, iss. 11. – P. 1-13.

250. Rieske, R. D. Parental Age at Conception and the Relationship with Severity of Autism Symptoms / R. D. Rieske, J. L. Matson // *Dev. Neurorehabil.* – 2019. – Vol. 23, iss. 5. – P. 265-270.

251. Risk factors for autism: perinatal factors, parental psychiatric history, and socioeconomic status / H. J. Larsson [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2005. – Vol. 161, iss. 10. – P. 916-925.

252. Rosenstein, M. G. Does augmentation or induction of labor with oxytocin increase the risk for autism? / M. G. Rosenstein, T. B. Newman, M. E. Norton // *J. Am. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 210, iss. 5. – P. 495-496.

253. Rossignol, D. A. A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures / D. A. Rossignol, R. E. Frye // *Mol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 17, iss. 4. – P. 389-401.

254. Schopler, E. The Children Autism Rating Scale (CARS) / E. Schopler, R. J. Reichler, B. R. Renner. – Los Angeles : Western Psychological Services, 1988. – 16 p.

255. Sener, E. F. MTHFR Gene C677T Polymorphism in Autism Spectrum Disorders / E. F. Sener, D. B. Oztup, Y. Ozkul // *Genet. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-5.

256. Sensitivity and specificity of early screening for autism / P. Suren [et al.] // *BJPsych Open.* – 2019. – Vol. 5, iss. 3. – Art. e41.

257. Shahjadi, S. Mitochondrial dysfunction in early diagnosed autism spectrum disorder children / S. Shahjadi, S. K. Arif, U. A. Mesbah // *J. Dhaka Med. Coll.* – 2017. – Vol. 1, iss. 26. – P. 7-43.

258. Skonieczna-Zydecka, K. The Prevalence of Autism Spectrum Disorders in West Pomeranian and Pomeranian Regions of Poland / K. Skonieczna-Zydecka [et al.] // *J. Appl. Res. Intellect. Disabil.* – 2017. – Vol. 30, iss. 2. – P. 283-289.

259. Stability of diagnostic assessment for autism spectrum disorder between 18 and 36 months in a high-risk cohort / L. Zwaigenbaum [et al.] // *Autism.* – 2016. – Vol. 9, iss. 7. – P. 790-800.

260. Study of C677T variant of methylene tetrahydrofolate reductase gene in autistic spectrum disorder Egyptian children / S. Ismail [et al.] // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* – 2019. – Vol. 180, iss. 5. – P. 305-309.

261. Study of genotype–phenotype correlation of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms in a sample

of Egyptian autistic children / R. M. Shawky [et al.] // EJMHG. – 2014. – Vol. 15, iss. 4. – 335-341.

262. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of MTHFR Gene in autism spectrum disorder / F. El-Baz [et al.] // Electron. Physician. – 2017. – Vol. 9, iss. 9. – P. 5287-5293.

263. Symptom severity in autism spectrum disorder is related to the frequency and severity of nausea and vomiting during pregnancy: a retrospective case-control study / A. J. O. Whitehouse [et al.] // Mol. Autism. – 2018. – Vol. 9. – Art. 37.

264. Szatmari, P. Prospective Longitudinal Studies of Infant Siblings of Children With Autism: Lessons Learned and Future Directions / P. Szatmari [et al.] // J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry. – 2016. – Vol. 55, iss. 3. – P. 179-187.

265. Thabtah, F. Early Autism Screening: A Comprehensive Review / F. Thabtah, D. Peebles / J. Environ Res. Public Health. – 2019. – Vol. 16, iss. 18. – P. 3502.

266. The ADOS calibrated severity score: relationship to phenotypic variables and stability over time / S. Shumway [et al.] // Autism Res. – 2012. – Vol. 5, iss. 4. – P. 267-276.

267. The basis for folinic acid treatment in neuro-psychiatric disorders / V. T. Ramaekers [et al.] // Biochimie. – 2016. – Vol. 126. – P. 79-90.

268. The Broad Autism Phenotype Questionnaire / R. S. Hurley [et al.] // J. Autism Devel. Disorders. – 2007. – Vol. 37, iss. 9. – P. 1679-1690.

269. The EU-AIMS Longitudinal European Autism Project (LEAP): design and methodologies to identify and validate stratification biomarkers for autism spectrum disorders / E. Loth [et al.] // Mol. Autism. – 2017. – Vol. 8. – P. 24.

270. The Mid-Fusiform Sulcus in Autism Spectrum Disorder: Establishing a Novel Anatomical Landmark Related to Face Processing / C. J. Ammons [et al.] // Autism Res. – 2020. – Vol. 14, iss. 1. – P. 53-64.

271. The modified checklist for autism in toddlers: reliability in a diverse rural American sample / A. Scarpa [et al.] // J. Autism Dev. Disord. – 2013. – Vol. 43, iss. 10. – P. 2269-2279.

272. The Promising Role of Probiotics in Managing the Altered Gut in Autism Spectrum Disorders / B. Abdellatif [et al.] // *Int. J. Mol. Sciences.* – 2020. – Vol. 21, iss. 11. – P. 4159.

273. Thyroid function in early pregnancy, child IQ, and autistic traits: A Meta-Analysis of Individual Participant Data / D. Levie [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 103, iss. 8. – P. 2967-2979.

274. Total screening of the risk of developing mental illness of young children in primary health care in Russia / N. Simashkova [et al.] // *European Psychiatry.* – 2019. – Vol. 56, № S1. – P. 54.

275. Use of the Modified Checklist for Autism, Revised with Follow Up-Albanian to Screen for ASD in Albania / L. Brennan [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2016. – Vol. 46, iss. 11. – P. 3392-3407.

276. Vandana, R. Association of methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) gene C677T polymorphism with autism: evidence of genetic susceptibility / R. Vandana // *Metab. Brain. Dis.* – 2016. – Vol. 31, iss. 4. – P. 727-735.

277. Whole-genome deep-learning analysis identifies contribution of noncoding mutations to autism risk / J. Zhou [et al.] // *Nat. Genet.* – 2019. – Vol. 51, iss. 6. – P. 973-980.

278. Wisniowiecka-Kowalnik, B. A. Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder-current evidence in the field / B. A. Wisniowiecka-Kowalnik, B. A. Nowakowska // *J. Appl. Genet.* – 2019. – Vol. 60, iss. 1. – P. 37-47.

279. Ziats, C. A. Syndromic autism revisited: review of the literature and lessons learned / C. A. Ziats, W. G. Patterson, M. Friez // *Pediat. Neurol.* – 2020. – Vol. 114. – P. 21-25.

280. Preliminary evaluation of a novel nine-biomarker profile for the prediction of autism spectrum disorder / A. El-Ansary [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, iss. 1. – Art. e0227626.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
Е.Л.Богдан
20.07.2021г.
Регистрационный № 072-0621

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: Бизюкевич С. В., к.м.н., доцент Карпюк В. А.

Гродно, 2021

Продолжение Приложения 1

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен алгоритм диагностики расстройств аутистического спектра (РАС) с использованием молекулярно-генетического исследования и стандартизированного метода диагностики «Плана диагностического обследования при аутизме ADOS-2» (Autism Diagnostic Observation Schedule-2).

Алгоритм, изложенный в настоящей инструкции, предполагает осуществление раннего вмешательства, направленного на диагностику расстройств аутистического спектра у детей.

Метод предназначен для врачей-психиатров-наркологов, врачей-психотерапевтов, врачей-педиатров (врач-специалист) организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с расстройствами аутистического спектра в стационарных и (или) амбулаторных условиях, и (или) в условиях отделения дневного пребывания.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МАТЕРИАЛОВ

1. Набор реактивов для экстракции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лейкоцитов венозной крови.
2. Набор реактивов для постановки реакции амплификации.
3. Амплификатор с возможностью регистрации результата в режиме реального времени.
4. Комплект «План диагностического обследования при аутизме ADOS-2» (руководство ADOS-2, протоколы для фиксации обследования и кодирования результатов, набор стимульных материалов).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Расстройства аутистического спектра (F.84.0–F.84.9)

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Врачу-специалисту предлагается алгоритм диагностических действий к установлению клинико-функционального диагноза расстройств аутистического спектра у детей, начиная с возраста 12 месяцев. Трудности диагностики и дифференциальной диагностики РАС в раннем возрасте обусловлены возрастным уровнем психологического развития детей и связанными с этим ограниченными возможностями клинико-психопатологического обследования.

При выявлении врачом-специалистом и (или) при обращении

Продолжение Приложения 1

(направлении) к врачу-специалисту родителей или законных представителей ребёнка с жалобами на наличие следующих особенностей в психическом развитии:

- отсутствует или недостаточная реакция на слуховые раздражители при нормальном слухе,
- гиперсензитивность к обычным звукам,
- зрительный контакт не устанавливает или устанавливает кратковременно и формально («взгляд сквозь»),
- речевое развитие не соответствует возрастным нормам или ребенок произносит лишь отдельные слова без обращения,
- не реагирует на обращенную речь при нормальном слухе,
- не выполняет даже простых инструкций,
- отношения с матерью по типу «симбиоза» или «не видят» мать,
- не выделяет мать от окружения чужих людей,
- обследует людей как неодушевленные предметы,
- проявляет агрессию по отношению к детям своего возраста или аутоагрессию,
- отсутствует указательный жест,
- не разделяет свои впечатления и эмоции с другими,
- интерес к неигровым предметам или использует игрушки не по назначению,
- избирательность в еде,
- низкий горловой плач или крик,
- стереотипные движения, раскачивания,

для объективной диагностики расстройств аутистического спектра необходимо проведение молекулярно-генетического анализа и психодиагностического исследования с информированием родителя или законного представителя ребёнка об следующих этапах диагностики РАС.

I этап. Выявление полиморфизмов в генах фолатного цикла: MTHFR C677T, MTRR A66G

1.1. Материал для ПЦР-диагностики (венозная кровь) в объеме не менее 1 мл собирается в одноразовую пластиковую пробирку с раствором антикоагулянта (4% раствор цитрата натрия в соотношении 500 мкл крови на 50 мкл антикоагулянта).

1.2. Экстракция ДНК из полученных образцов осуществляется согласно методике производителя наборов для выделения ДНК из цельной крови.

1.3. Постановка реакций амплификации осуществляется согласно методике производителя наборов для определения полиморфизмов в генах фолатного цикла. Настройка амплификатора производится согласно руководству пользователя к прибору.

При выполнении всех этапов полимеразной цепной реакции с детекцией результата в режиме реального времени необходимо соблюдение основных требований, изложенных в инструкции по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13.11.2008 № 090-1008 «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)».

По результатам анализа реакции амплификации, при выявлении у ребёнка следующих полиморфизмов в генах фолатного цикла: **MTRR A66G (G/G)** и (или) **MTHFR C 677T (T/T)**, что свидетельствует о высоком риске РАС, ребёнок направляется на обследование у психолога организаций здравоохранения, оказывающих специализированную психиатрическую помощь детскому населению, с помощью «Плана диагностического обследования при аутизме ADOS-2».

II этап. Проведение специализированного обследования по ADOS-2 для диагностики РАС

Для диагностики расстройств аутистического спектра для детей раннего возраста используются Модули: Т, 1, 2, 3 «Плана диагностического обследования при аутизме ADOS-2». Выбор Модуля, фиксация наблюдаемого поведения, шифровка и перевод «шифра» в балльные оценки осуществляется согласно руководству ADOS-2.

Если в результате обследования по ADOS-2 (по Модулю Т) выявлен диапазон наличия нарушений в спектре аутизма от умеренного до высокого, или в результате обследования по ADOS-2 (по Модулю 1-3) выявлена диагностическая категория «аутизм» и степень выраженности аутистических симптомов высокая или умеренная, то это

- указывает на наличие у обследуемого ребёнка расстройств аутистического спектра.

Пошаговый алгоритм действий врача-специалиста по диагностике расстройств аутистического спектра у детей раннего возраста представлен в приложении 1.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

При четком соблюдении выполнения алгоритма осложнений нет.

КАРТА РЕГИСТРАЦИИ особенностей протекания пренатального, перинатального и постнатального периодов

Ф.И.О ребенка: _____
 Ф.И.О. родителя или законного представителя _____
 Контактный телефон _____
 Дата поступления: _____
 Жалобы: _____
 Предварительный диагноз поступления _____

Условия и особенности протекания беременности и родов:	
Протекание беременности: (предшествующие выкидыши, мертворождение, аборт)	
Паритет беременности	
Возраст наступления беременности:	Матери:
	Отца:
Особенности течения настоящей беременности, срок беременности	
Угроза выкидыша	
Повышенное артериальное давление, отёки (преэклампсия)	
ФПН	
Многоводие	
Маловодие	
Вирусные или инфекционные заболевания	
ИППП (мать, отец)	
Экстрагенитальные заболевания	
Употребление ПАВ (мать, отец)	
Наличие хронических заболеваний (мать, отец)	
Наличие наследственных заболеваний	
Психологические особенности (конфликтные отношения в семье, нежелательность беременности)	
Особенности течения родов и послеродового периода:	
Сроки наступления родов (доношенность, недоношенность)	
Паритет родов	
В каком виде (в головном, тазовом, поперечном предлежании)	
Самостоятельные или Кесарево сечение	
Характер обезболивания при кесаревом сечении	
Рост новорождённого	
Вес новорождённого	
Оценка по шкале Апгар	
Своевременность первого крика новорождённого	
Акушерские пособия в родах (щипцы, вакуум-экстрактор, эпизиотомия)	
Диагноз при выписке из роддома	
ВПР при рождении	
Раннее моторное и психоэмоциональное развитие ребёнка до 12 месяцев:	
Спокойный или беспокойный был ребенок	
Вскармливание грудное, искусственное, прикорм	
Характер реакции на мокрые пеленки	
Наличие «страхов» раннего возраста (громких звуков; чужих; трудности привыкания к твердой пище; болезненная реакция на изменение режима; наличие симбиотической связи с матерью – непереносимость ее отсутствия)	

Сроки проведения вакцинации ребенка, особенности поствакцинального периода	
Частые срыгивания, тремор ручек, продбородка	
Беспричинные пронзительные крики	
Судороги на фоне высокой температуры (фебрильные судороги)	
Начал держать голову, мес.	
Начал переворачиваться, мес.	
Начал сидеть, мес.	
Начал ползать, мес.	
Начал ходить, мес.	
Наблюдался ли неврологом, с каким диагнозом	
Эмоциональные реакции (первые улыбки, комплекс оживления, появление страха чужого лица, контакт глаз)	
Характер манипуляций с играми, особенности игровых действий	
Гуление, мес.	
Лепет, мес.	
Первые слова, мес.	
Указывание частей тела, мес.	
Понимание собственно обращенной речи и ее интонации, мес.	
Развитие ребенка от 12 месяцев до 36 месяцев:	
Появление простой фразы	
Появление развернутой фразы	
Адекватное использование при этом мимики и жестов	
Способы привлечения ребенком внимания взрослых	
Характер взаимодействия со сверстниками	
Особенности познавательных интересов и игровой деятельности	
Наличие страхов	
Посещал ли ДДУ	
Как быстро адаптировался к ДДУ	
Навыки самообслуживания (самостоятельно ест, одевается, раздевается)	
Формирование самостоятельных навыков опрятности	
Травмы	
Операции	
Как часто болеет и какими заболеваниями	
Аллергические реакции	
Жалобы и данные предыдущих обследований:	
Когда впервые были замечены изменения в психическом и речевом развитии	
Жалобы в настоящее время	
Куда и к кому обращались	
Какие исследования проводились	
Какое лечение принимали	
Эффективность от принимаемой терапии	
На данный момент, где обучается, по какой программе	
Наличие сопутствующих заболеваний (неврологических, соматических, пороки развития)	
Наличие инвалидности и сроки установления	

Результат молекулярно-генетического анализа

Научно-исследовательская лаборатория УО «ГрГМУ»

НАПРАВЛЕНИЕ № 30

на молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов фолатного цикла

Ф.И.О. Сюр ТавровицВозраст: 03.10.2012 г.Показание: ОБСЛЕДОВАНИЕ

Материал: венозная кровь

Дата забора: 24.10.2017

Полиморфизм	MTR 2756 A>G	MTRR 66 A>G	MTHFR677 C>T	MTHFR1298 A>C
Аллель нейтральн.	AA	AA	CC	AA
Генотип	AG	AG	CT	AA

Заключение: Выявлены полиморфизмы генов *MTR* (*MTR* 2756 A>G) в гетерозиготном состоянии A/G, *MTRR* (*MTRR* 66A>G) в гетерозиготном состоянии A/G, *MTHFR* (*MTHFR* 677 C>T) в гетерозиготном состоянии C/T, что указывает на наличие генетически обусловленной предрасположенности к нарушению функциональной активности ферментов: метионин-синтазы, метионин-синтазы-редуктазы, метилентетрогидрофолатредуктазы.

Врач: Бизюкевич С.В.

Дата: 27.12.2017

Заключение по результатам обследования по ADOS-2

Заключение по результатам обследования по ADOS-2

☐ Егор.

Дата обследования 8.11.2017г.

Обследование проводилось с помощью плана диагностического обследования при аутизме ADOS-2, с использованием Модуля №1 (отдельные слова). В процессе обследования ребёнок спонтанно использовал отдельные слова, не менее 5- слов (раз, два, три, четыре, дай, мячик, рыбка, шарик) в сочетании с вокализациями, которые чаще адресовал родителю в одном контексте (просьба). Вокализация и интонация речи имеет несколько монотонный характер, включающая недостаточные вариации в тембре, редко встречающиеся преувеличенные или странные интонации. В речи присутствует прямая эхолалия (на протяжении всего обследования регулярно повторял слова). Использует руку исследователя ведёт (к чашке с мыльными пузырями) но без координированного взгляда. Использовал указывание, обращая внимание на предметы, но отсутствовала координация взгляда с указыванием. Спонтанно использовал инструментальные жесты, однако применение жестов отмечалось однократно во время реакции протеста. Во время всего обследования использовал слабо модулированный глазной контакт для инициирования, окончания или регуляции социального взаимодействия. Адресовал исследователю и родителю проявления сильных эмоций, но с ограниченным диапазоном выражений лица (радость, недовольство). Для сообщения о социальном намерении использует либо вокализацию, либо жесты. Качество инициации взаимодействия со стороны ребёнка включало в себя вокализацию, отдельные слова, без интеграции взгляда с поведением (просьба о продолжении игры с мыльными пузырями). Реакция на имя после предъявления 2 стимулов без установления глазного контакта. Качество социальных инициатив во время всего обследования ограничены личными потребностями и связаны с областью повышенных интересов, ребёнок предпринимал попытки вовлечь родителя и исследователя в свой интерес, удержать или направить внимание. Спонтанно не инициировал совместное внимание. Откликался на большинство социальных реакций, но реакции несколько ограничены, непоследовательны, неадекватны. Непостоянно вовлекался и поддерживал интерес к заданиям. Не передавал (не отдавал) игрушки исследователю или родителю. Функционально играл с некоторыми игрушками (машинка, самолёт), нет символической имитации. Отмечался выраженный интерес к определённой игрушке (пистолет с мыльными пузырями), однако интерес не мешал выполнять задания исследования. Взаимодействие во время обследования периодически, но не постоянно являлось естественным. Во время обследования вел себя беспокойно, в большей степени бегал по комнате, периодически проявлял недовольство и негативное поведение в отношении исследователя.

По результатам социального аффекта набрано (СА) - 13 баллов.

По ограниченным и стереотипным формам поведения (ОПС) – 1 балл.

Всего по (СА+ ОПС) – 14 баллов.

Сравнительный балл ADOS-2 – 6 баллов

Диагностическая группа по ADOS-2 – аутизм, степень выраженности умеренная.

Вр. Бизюкевич С.В.



Научное издание

Бизюкевич Светлана Викторовна

РАССТРОЙСТВА АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА
(клинико-диагностический и молекулярно-
генетический аспекты)

Монография

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной
Корректura С. В. Бизюкевич

Подписано в печать 22.01.2024

Формат 60х84/16. Бумага офсетная.

Гарнитура Таймс. Ризография.

Усл. печ. л. 8,84. Уч.-изд. л. 6,43. Тираж 30 экз. Заказ 11.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно