

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ
НМАПО ИМЕНИ П.Л. ШУПИКА
Кафедра неврологии №1

Д. В. Мальцев

РАССТРОЙСТВА
СПЕКТРА АУТИЗМА
У ДЕТЕЙ С ДЕФИЦИТОМ
ФОЛАТНОГО ЦИКЛА

МОНОГРАФИЯ

Издательство
«Центр учебной литературы»
Киев – 2016

УДК 616.98-052.3

ББК 57.33

М 21

Рецензенты:

Чуприков Анатолий Павлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры детской, социальной и судебной психиатрии НМАПО имени П.Л. Шупика, директор Киевского городского центра «Психическое здоровье детей и подростков» при КГКПНБ №1, заслуженный деятель науки и техники Украины;

Коляденко Нина Владимировна, доктор медицинских наук, психиатр высшей категории.

М 21 **Мальцев Д. В.** Расстройства спектра аутизма у детей с дефицитом фолатного цикла [монография] / Д. В. Мальцев. – Киев: Центр учебной литературы, 2016. – 136 с.

ISBN 978-617-672-455-0

В настоящей монографии приведены результаты научных работ, посвященных изучению иммунологических аспектов расстройств спектра аутизма у детей, ассоциированных с генетическим дефицитом цикла фолиевой кислоты. Приведены актуальные обзоры литературы по клиническому полиморфизму генетического дефицита фолатного цикла и результатам иммунологических исследований у детей с аутизмом и аутистическим спектром. В главах оригинальных испытаний охарактеризован широкий клинический фенотип у детей с расстройствами спектра аутизма, связанными с дефицитом цикла фолиевой кислоты, а также проведена оценка иммунного статуса и описана новая форма первичного иммунодефицита, продемонстрирована эффективность высокодозовой иммуноглобулинотерапии и обоснован ступенчатый, этапный подход к терапии и реабилитации детей с учетом новых открытий.

УДК 616.98-052.3

ББК 57.33

ISBN 978-617-673-455-0

© Мальцев Д. В., 2016.
© Центр учебной литературы, 2016.

ГЛАВА 1. Клинический полиморфизм генетического дефицита энзимов цикла фолиевой кислоты	4
ГЛАВА 2. Иммунологические аспекты патогенеза расстройств спектра аутизма у детей	26
ГЛАВА 3. Расширенный клинико-лабораторный фенотип при генетически детерминированном нарушении фолатного цикла у детей с расстройствами спектра аутизма	51
ГЛАВА 4. Оценка иммунного статуса у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с дефицитом фолатного цикла	81
ГЛАВА 5. Эффективность высокодозовой в/в иммуноглобулинотерапии у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с генетическим дефицитом ферментов фолатного цикла	103
ГЛАВА 6. Этапное лечение расстройств аутистического спектра, ассоциированных с генетическим дефицитом фолатного цикла	126

Клинический полиморфизм генетического дефицита энзимов цикла фолиевой кислоты

Дефицит энзимов цикла фолиевой кислоты относится к когорте наиболее распространенных в популяции генетических болезней человека. Считают, что носителями хотя бы одного полиморфизма/мутации в генах фолатного цикла является, по крайней мере, 30% современного населения планеты. Контролируемые исследования, посвященные оценке клинической значимости генетического дефицита фолиевой кислоты, демонстрируют беспрецедентную гетерогенность проявлений – от пороков развития нервной системы во время внутриутробного периода до повышенного риска атеросклероза и связанных с этим цереброваскулярных событий в третьей части жизни. При дефиците фолатного цикла могут поражаться различные органы и системы, однако особенно велик удельный вес неврологических и нейропсихиатрических осложнений. Текущая доказательная база указывает на необходимость рациональной диагностики первичного дефицита фолатного цикла в клинической практике. В Украине широко доступны соответствующие генетические тесты, которые могут выполняться в сжатые сроки и характеризуются низкой стоимостью. Данная глава посвящена всестороннему анализу клинико-генетических ассоциаций при первичном дефиците фолатного цикла, что, по нашему мнению, может помочь реализовать давно назревшую необходимость – внедрить генетическое тестирование в клиническую практику различных медицинских специалистов, включая неврологов и психиатров.

Как известно, цикл фолиевой кислоты реализуется благодаря деятельности трех ключевых ферментов: метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) и метионинсинтазы (MTR). Этот цикл функционирует в неразрывной связи с циклом метионина, в результате которого синтезируется продукт, получивший название гомоцистеин (рис. 1). Показано, что этот метаболит оказывает токсическое воздействие на эндотелий сосудов, вызывая состояние эндотелиальной дисфункции, и нейроны ЦНС, индуцируя феномен синаптического дисбаланса и гибель нервных клеток. Нейротоксический эффект гомоцистеина связан с поражением нейронального эндоплазматического ретикулама, гиперактивацией глутамататных рецепторов с развитием эффекта глутаматэргической эксайтотоксичности и повреждением молекул ДНК [9].

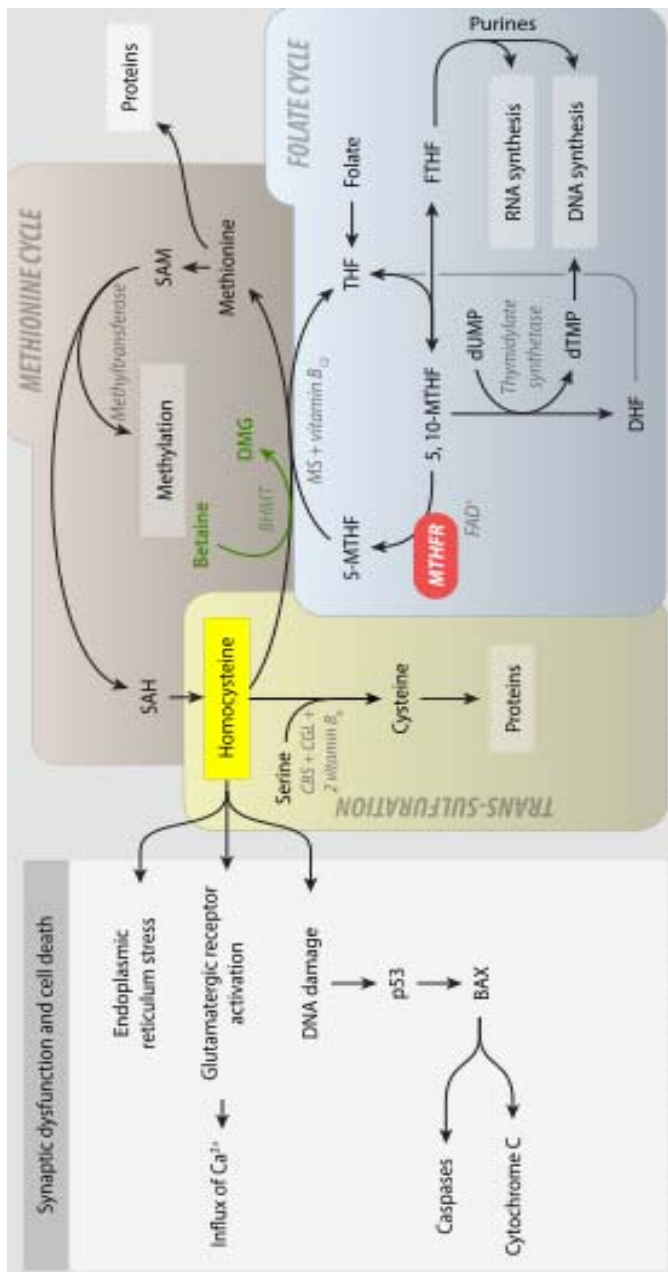


Рис. 1. Схематическое изображение взаимосвязанных биохимических циклов фолевой кислоты и метионина в свете гомоцистеиновой теории

Известные замены нуклеотидов в генах ключевых энзимов фолатного цикла одними авторами обозначаются как мутации, другими же – как полиморфизмы. В любом случае, при полиморфизмах/мутациях в генах ферментов фолатного цикла создаются условия для аномально повышенной выработки гомоцистеина – феномена, получившего название гипергомоцистеинемии, с которым сегодня связывают прогрессирование цереброваскулярной патологии в третьей части жизни [9] и нарушение развития нервной системы во время внутриутробного периода онтогенеза [41]. На данный момент описаны два основных полиморфизма в гене MTHFR, связанные с заменой цитозина на тимин в кодоне 677 (677 C>T; rs1801133) и аденина на цитозин в кодоне 1298 (1298 A>C; rs1801131). Недавно заявили о клинической значимости дополнительного полиморфизма MTHFR G1793A (rs2274976). Нарушения в гене MTHFR наиболее клинически значимы и приводят к наибольшему количеству неблагоприятных проявлений. В генах MTRR и MTR известны полиморфизмы, обусловленные заменой аденина на гуанозин (A>G) в кодонах 66 и 2756 соответственно. Недавно заявили про клиническую значимость дополнительной аллели MTRR C524T.

Указанные полиморфизмы/мутации бывают в гетеро- и гомозиготном состоянии. Гетерозиготные полиморфизмы обозначаются как MTHFR 677 C/T, MTHFR 1298 A/C, MTRR A/G и MTR A/G, а гомозиготные – соответственно MTHFR 677 T/T, MTHFR 1298 C/C, MTRR G/G и MTR G/G. У одного человека в среднем может обнаруживаться от 1 до 4 полиморфизмов в генах фолатного цикла в различном состоянии. Метаболические нарушения чаще всего усугубляются по мере накопления генетических поломок. В соответствии с этим, продемонстрированы кумулятивные эффекты полиморфизмов по отношению к клиническому фенотипу. Помимо этого, в современных исследованиях изучают значимость доминантной и рецессивной модели наследования полиморфизмов генов цикла фолиевой кислоты. Например, по отношению к замене MTHFR C677T доминантной моделью является система TT + T/C против CC, а рецессивной – соответственно CC + T/C против TT.

Согласно классическим представлениям патологию генов ферментов цикла фолиевой кислоты связывают с такими осложнениями как гипергомоцистеинемия, атеросклероз, сердечно- и нейрососудистые катастрофы [9] и деменция в третьей части жизни [42], пороки развития плода, прежде всего – нервной системы и сердца [44], патология беременности, в том числе – множественные эпизоды спонтанных абортов [82], высокий риск развития некоторых опухолей, в том числе – рака толстой и прямой кишки [56], гепатоцеллюлярной карциномы [59], рака молочной железы [86], шейки матки [3] и яичников [68], а также более

тяжелое течение другой генетической патологии, включая синдром Дауна [71], в связи с нарушением метилирования ДНК (табл. 1).

Табл. 1
Классические взгляды на разнообразие и клиническое значение полиморфизмов генов фолатного цикла у людей

Ген	Полиморфизм	Аллель нейтральный	Аллель риска	Проявления генотипа с аллелями риска
MTHFR	MTHFR: 677 C>T	C/C	C/T, T/T Частота – 30-40%	Снижение функциональной активности фермента, 3-кратное повышение риска сердечно-сосудистых заболеваний в молодом возрасте, тромбоз эмболии. Невынашивание беременности, поздний гестоз, преэклампсия, отслойка плаценты. Антенатальная гибель плода, задержка и дефекты развития плода. Увеличение риска развития колоректальной аденомы в 3 раза при генотипе T/T. Риск развития рака молочной железы. Усиление побочных эффектов химиотерапии
	MTHFR: 1298 A>C	A/A	A/G, G/G Частота – 20-30%	Снижение функциональной активности фермента. Рост уровня гомоцистеина в крови. Повышение риска развития синдрома Дауна. Нарушение развития плода – незаращение нервной трубки
MTR	MTHFR: 1298 A>C	A/A	A/G, G/G Частота – 20-30%	Снижение функциональной активности фермента. Рост уровня гомоцистеина в крови. Повышение риска развития синдрома Дауна. Нарушение развития плода – незаращение нервной трубки
MTRR	MTRR: 66 A>G	A/A	A/A, G/G Частота – 20-30%	Снижение функциональной активности фермента. Рост уровня гомоцистеина в крови. Дефекты развития нервной трубки. Усиливает патологический эффект, ассоциированный с полиморфизмами гена MTHFR

На сегодняшний день благодаря стремительному накоплению новых доказательств значительно расширились взгляды на клиническую картину генетического дефицита фолатного цикла у людей, что обосновало необходимость подготовки настоящей главы.

Утвердились представления, что гипергомоцистеинемия, обусловленная генетическим дефицитом фолатного цикла, может приводить к нарушению развития головного мозга плода. Так, Marseglia L.M. с соавт. в клиническом контролируемом исследовании показали связь генотипов MTHFR A1298C и A1298C/C677T с аномалиями белого вещества полушарий большого мозга у новорожденных, а именно – перивентрикулярной демиелинизацией и утратой объема белого вещества вокруг желудочков с развитием викарной вентрикуломегалии [41].

Хорошо известная связь генетического дефицита фолатного цикла с гипергомоцистеинемией, эндотелиальной дисфункцией, атеросклерозом сосудов и эссенциальной артериальной гипертензией дополняется новыми доказательствами. Song Y. с соавт. недавно привели результаты мета-анализа, охватывающего данные 22 клинических исследований по типу случай-контроль, согласно которым генотип MTHFR C677T тесно ассоциирован с повышенным риском развития ишемического инсульта у людей в третьей части жизни [70].

Дефицит фолатного цикла влияет на развитие некоторых тяжелых нейродегенеративных заболеваний. Rai V. по результатам последнего мета-анализа материалов 41 контролируемого клинического испытания показал тесную ассоциацию генотипа MTHFR C677T и болезни Альцгеймера в третьей части жизни [60]. Данные другого мета-анализа Peng Q. с соавт., охватывающего результаты 40 клинических исследований по типу случай-контроль, также демонстрируют явную связь генотипа MTHFR C677T и болезни Альцгеймера у людей [55].

García S. с соавт. в контролируемом исследовании с участием 140 пациентов исследуемой группы и 216 здоровых лиц группы контроля выявили тесную ассоциацию rs1801133 MTHFR со спорадической формой болезни Паркинсона [22]. Zhu Y. с соавт. провели мета-анализ результатов 15 контролируемых клинических исследований, продемонстрировав связь полиморфизма MTHFR C677T с болезнью Паркинсона среди европейцев, но не азиатов [88]. Результаты другого мета-анализа, подготовленного Wu Y.L. с соавт. в 2013 году, показали тесную ассоциацию генотипа MTHFR C677T и болезни Паркинсона как среди европейцев, так и азиатов [81]. Todorović Z. с соавт. продемонстрировали существенное возрастание сывороточной концентрации гомоцистеина у пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с генотипом MTHFR C677T, после назначения леводопы из-за негативного кумуля-

тивного эффекта препарата и генетического нарушения [73]. Munisamy M. с соавт. в другом контролируемом исследовании показали, что при наличии аллели MTHFR C677T применение антиконвульсантов различных фармакологических групп по поводу эпилептических синдромов приводит к резкому возрастанию уровня гомоцистеина в сыворотке крови, что ускоряет прогрессирование токсической энцефалопатии у пациентов с эпилепсиями [45].

Sazci A. с соавт. в контролируемом клиническом исследовании с участием 437 пациента исследуемой группы и 439 здоровых лиц группы контроля показали тесную ассоциацию полиморфизмов MTHFR C677T и A1298C со спорадическим боковым амиотрофическим склерозом в гендер-зависимой манере, поскольку связь подтверждалась только в женской популяции [67]. Тем не менее, результаты клинического испытания Kühnlein P. С соавт. указывают на ассоциацию генотипа MTHFR C677T и бокового амиотрофического склероза у немцев без гендерных отличий [35]. Представляют интерес данные исследования Bellia C. с соавт., согласно которым полиморфизм MTHFR C677T связан с фенотипом латерального амиотрофического склероза, однако наличие указанного полиморфизма не коррелировало с феноменом повышенного содержания гомоцистеина в сыворотке крови и ликворе, что предполагало иной механизм повреждения нервных клеток при этой ассоциации [6]. Впервые о нарушении активности ферментов, конвертирующих дивагаты фолиевой кислоты, в ткани мозга при боковом амиотрофическом склерозе заявили Yoshino Y. и Wakabayashi Y. в 1983 году [85].

Результаты последних клинических испытаний показывают, что генетический дефицит фолатного цикла – важный фактор риска ряда тяжелых психических расстройств у людей. Róžuska A. с соавт. в исследовании по типу случай-контроль показали тесную ассоциацию полиморфизма MTHFR C677T и депрессии у женщин в постменопаузальный период в польской популяции [65]. В соответствии с этим, Velichko V.L. с соавт. в контролируемом клиническом испытании выявили связь генотипа MTHFR C677T и униполярной депрессии среди украинцев [78]. В то же время, Evinova A. с соавт. показали ассоциацию генотипа MTHFR A1298C, но не C677T, и большой депрессии у словаков [19].

Вместе с тем, Roecklein K.A. с соавт. в контролируемом клиническом испытании показали отрицательную ассоциацию полиморфизма MTRR A66G и мигрени с аурой в американской популяции [64], что может объяснить снижение частоты и тяжести приступов головной боли в третьей части жизни, когда проявляется связь этого генетического нарушения с атеросклерозом и цереброваскулярными катастрофами.

Hei G. с соавт. провели контролируемое клиническое исследование с участием 130 пациентов исследуемой группы и 80 здоровых лиц группы контроля, продемонстрировав связь генотипа MTHFR C677T и ассоциированных с этим низкой сывороточной концентрации фолиевой кислоты и гипергомоцистеинемии с шизофренией [26]. В другом контролируемом испытании El-Hadidy M.A. с соавт. установили ассоциацию генотипа MTHFR C677T с шизофренией и биполярным расстройством психики, причем наличие указанного полиморфизма было связано с более ранним клиническим дебютом биполярного расстройства [18]. Данные мета-анализа, подготовленного Hu C.Y. с соавт., подтверждают ассоциацию генотипа MTHFR C677T с шизофренией и биполярным расстройством в азиатской и африканской популяциях [27]. Мета-анализ контролируемых клинических испытаний, подготовленный Nishi A. с соавт., указывает на тесную ассоциацию полиморфизма MTHFR C677T с шизофренией среди японцев [48]. В соответствии с этим, результаты контролируемого клинического исследования Zhang Y. с соавт. показывают связь генотипа MTHFR C677T с повышенным риском развития шизофрении, нарушения функции эпизодической памяти и снижения плотности серого вещества головного мозга у китайцев [87]. В дополнение, Reglad B. с соавт. выявили связь полиморфизма MTHFR C677T с шизофреноподобным психозом среди шведов [63], а Lochman J. с соавт. – с классической шизофренией в чешской популяции [38]. Keverer L. в соавт. идентифицировали ассоциацию генотипа MTHFR C677T с шизофренией, психотическими эпизодами и расстройствами настроения среди латышей [33]. Peerbooms O. с соавт. в контролируемом клиническом испытании установили, что наличие MTHFR C677T критически видоизменяет психотическую реакцию на экзогенные стрессовые факторы у носителей замены Val158Met COMT [53]. Мета-анализ результатов контролируемых клинических исследований, проведенный в 2011 году, подтверждает ассоциацию генотипа MTHFR C677T, но не A1298C, с шизофренией, биполярным расстройством и униполярной депрессией как среди азиатов, так и европейцев [54].

Результаты мета-анализа контролируемых клинических исследований Pu D. с соавт., охватывающий данные 8 испытаний по типу случай-контроль с участием 1672 пациентов, показывают тесную связь генотипа MTHFR C677T с расстройствами спектра аутизма у детей [57]. Результаты контролируемого клинического исследования Mohammad N.S. с соавт. с участием 138 психически больных детей исследуемой группы демонстрируют, что аллель MTHFR C677T тесно ассоциирована с аутистическим спектром, а аллель MTHFR A1298C играет роль дополнительного отягчающего фактора. В то же время, авторы выявили,

что полиморфизмы MTRR A66G и SHMT C1420T, напротив, имеют некоторое протективное значение [43]. Paşca S.P. с соавт. в контролируемом испытании показали, что аллель MTHFR C677T достоверно чаще отмечается у детей с аутизмом по сравнению с пациентами с нарушениями аутистического спектра, синдромом Аспергера, неклассифицированным и комплексным расстройствами психического развития. Также продемонстрированы типичные биохимические нарушения у психически больных детей с полиморфизмом MTHFR C677T [52]. Данные контролируемого клинического исследования Guo T. с соавт., в котором участвовало 186 детей исследуемой группы и 186 здоровых лиц группы контроля, указывают на тесную ассоциацию расстройств спектра аутизма и полиморфизма MTHFR C677T, особенно – варианта TT, в китайской популяции [25].

Известна связь генетического дефицита фолатного цикла с многими экстрацеребральными осложнениями. По результатам последнего дополненного мета-анализа генотип MTHFR C677T связан со сниженной плотностью костной ткани на уровне поясничного отдела позвоночника и шейки бедренной кости у европейцев в целом и особенно – у женщин в постменопаузальный период, а также – общим снижением плотности костной ткани среди лиц женского пола [37].

Продемонстрирована связь генетического дефицита фолатного цикла с некоторыми аутоиммунными болезнями человека, преимущественно – патологией, развивающейся по клеточному механизму согласно классификации Джелла и Кумбса. Sevik B. с соавт. в контролируемом клиническом испытании с участием 130 пациентов исследуемой группы и 150 здоровых лиц группы контроля установили тесную связь генотипа MTHFR C677T и рассеянного склероза среди турков [12]. Однако Fekih Mrissa N. выявили ассоциацию полиморфизма MTHFR A1298C, но не C677T, и рассеянного склероза в тунисской популяции [20]. В контролируемом исследовании с участием 180 пациентов исследуемой группы и 231 здорового лица группы контроля Naghibalhossaini F. с соавт. показали тесную ассоциацию полиморфизмов MTHFR C677T и A1298C с рассеянным склерозом, причем отмечен кумулятивный эффект накопления различных полиморфизмов по отношению к риску развития аутоиммунного осложнения [46].

Boughrara W. с соавт. в исследовании по типу случай контроль с участием 110 пациентов исследуемой группы и 110 здоровых лиц группы контроля показали тесную ассоциацию MTHFR A1298C с ревматоидным артритом у людей [10]. Yigit S. с соавт. описали связь полиморфизма MTHFR C677T с анкилозирующим спондилеоартритом [84], а Kalkan G. с соавт. – с alopecia areata [32]. В контролируемом клиниче-

ском испытании у участием 106 пациентов исследуемой группы и 141 здорового лица группы контроля продемонстрировали ассоциацию генотипа MTR A2756G с системной красной волчанкой в польской популяции. Вместе с тем, Carlus S.J. с соавт. в контролируемом исследовании выявили связь MTHFR C677T с ревмокардитом, сопровождающимся поражением сердечных клапанов [11].

Имеется доказательная база связи генетического дефицита фолатного цикла с аллергической патологией человека. Wang T. с соавт. провели мета-анализ 26 контролируемых клинических исследований (16 когортных, 7 по типу случай-контроль и 3 перекрестно-секционных), согласно результатам которого продемонстрирована ассоциация генотипа MTHFR C677T и бронхиальной астмы [79]. Husemoen L.L. в контролируемом клиническом исследовании показали тесную связь генотипа MTHFR C677T с атопией у людей, причем уровень гомоцистеина не влиял напрямую на риск развития аллергических проявлений [28].

Генетический дефицит фолатного цикла негативно влияет на фертильность человека. Chen H. с соавт. привели результаты систематического обзора и мета-анализа 16 клинических исследований по типу случай-контроль с участием 1420 пациенток и 1408 лиц группы контроля, согласно которым мутации MTHFR C677T связаны с высоким риском спонтанных повторных прерываний беременности при доминантной (TT + CT vs. CC; OR = 2,10, 95 % CI 1,76-2,50), рецессивной (TT vs. CC + CT; OR = 2,36, 95 % CI 1,92-2,90), гетерозиготной (CT vs. CC; OR = 1,77, 95 % CI 1,32-2,37), гомозиготной (TT vs. CC; OR = 3,55, 95 % CI 2,76-4,56) и аддитивной (T vs. C; OR = 1,83, 95 % CI 1,64-2,05) моделях [13]. Qi Q. с соавт. в контролируемом клиническом исследовании выявили ассоциацию генотипа MTHFR C677T, но не A1298C, с синдромом поликистозных яичников у женщин, причем вариант TT оказался дополнительно связан с инсулинорезистентностью при синдроме поликистозных яичников [58]. Последний мета-анализ результатов 26 контролируемых клинических испытаний показывает тесную связь генотипа MTHFR C677T с бесплодием у мужчин [24].

Укрепились представления о связи генетического дефицита фолатного цикла и канцерогенеза. Последние систематический обзор и мета-анализ контролируемых клинических исследований, проведенные Yi K. с соавт. и охватывающие результаты 13 испытаний с изучением 677 случаев и 1191 контроля, показал ассоциацию MTHFR A1298C с цервикальным раком [83]. Результаты дополненного кумулятивного мета-анализа Wang Y. с соавт. продемонстрировали, что генотипы MTHFR A1298C AC+CC связаны с развитием рака молочной железы в китайской популяции [80]. В соответствии с этим, Li C. с соавт. в данных ме-

та-анализа контролируемых клинических испытаний показали ассоциацию MTHFR A1298C и хронического миелоцитарного лейкоза у людей [36]. В то же время, Chen L. с соавт. по данным мета-анализа клинических испытаний по типу случай контроль, охватывающего 5757 случаев и 8501 контроль, установили, что генотип MTHFR C677T связан с раком желудка среди азиатов [14].

Дефицит фолатного цикла отягощает течение и повышает риск развития другой генетической патологии человека из-за нарушения процесса метилирования ДНК. Классическими считаются данные о связи дефицита энзимов цикла фолиевой кислоты и болезни Дауна. Результаты последнего мета-анализа 34 контролируемых клинических исследований подтверждают тесную ассоциацию полиморфизма MTHFR C677T и риска развития болезни Дауна у людей [61]. Ismail M.F. с соавт. провели небольшое контролируемое испытание с участием 33 пациентов исследуемой группы и 15 здоровых лиц группы контроля, по результатам которого показали повышенный риск синдрома Тернера у детей, матери которых имеют генотип MTHFR A1298C [29] (табл. 2).

Табл. 2

Ассоциации полиморфизмов различных генов цикла фолиевой кислоты и клинических проявлений

Полиморфизм	Клинический фенотип
MTHFR C677T	Атеросклероз сосудов, эссенциальная артериальная гипертензия, острые кардио- и цереброваскулярные события, нейродегенеративные и психические заболевания, включая аутистический спектр у детей и шизофрению у взрослых, а также – многие аутоиммунные болезни, включая рассеянный склероз и ревматоидный артрит, а также – остеопороз у женщин, бесплодие у мужчин и женщин, пороки развития нервной системы плода, повышенный риск болезни Дауна, бронхиальная астма и атопия, онкологические осложнения, особенно – рак толстой и прямой кишки, молочной железы, шейки матки, желудка, желчного пузыря и простаты, гепатоцеллюлярная карцинома, острый лимфобластный лейкоз, менингиомы и глиомы мозга, а также - токсический эффект леводопы при болезни Паркинсона и антиконвульсантов при эпилептических синдромах
MTHFR A1298C	Отягощение полиморфизма MTHFR C677T, атеросклероз сосудов, эссенциальная артериальная гипертензия, острые цереброваскулярные события, некоторые аутоиммунные и онкологические осложнения (в том числе – рак шейки матки и молочной железы, хронический миелолейкоз), повышенный риск синдрома Тернера, токсический эффект метотрексата при остром лимфобластном лейкозе

Полиморфизм	Клинический фенотип
MTHFR G1793A	Болезнь Паркинсона, рак желчного пузыря и почки, неспецифический язвенный колит
MTRR A66G	Онкологические осложнения, особенно – колоректальный рак, менингеома, рак молочной железы, а также – атеросклероз сосудов, тромбоз глубоких вен, врожденные пороки развития сердца и нервной системы, повышенный риск болезни Дауна, однако – ослабление риска аутизма у детей и тяжести мигрени с аурой, риска коронарной болезни сердца в третьей части жизни
MTRR C524T	Врожденные пороки сердца
MTR A2756G	Онкологические осложнения, особенно – ретинобластома, рак молочной железы, головы и шеи, желчного пузыря, множественная миелома, а также – атеросклероз сосудов, бесплодие у мужчин, болезнь Паркинсона, системная красная волчанка, отягощение течения болезни Дауна, однако – протективный эффект по отношению к острому лимфобластному лейкозу у детей и колоректальному раку у взрослых

Как же объяснить столь широкий клинический фенотип генетического нарушения фолатного цикла, включающий на первый взгляд разрозненную патологию, в том числе – атеросклероз сосудов и цереброваскулярные катастрофы, нейродегенеративные процессы, психические заболевания, рассеянный склероз и другие аутоиммунные синдромы, аллергию, бесплодие и онкологические осложнения? Только метаболическим дефектом и связанной с этим гипергомоцистеинемией нельзя исчерпывающе обосновать гетерогенные проявления болезни. Нарушения иммунитета, ассоциированные с генетическим дефицитом фолатного цикла, могут быть недостающим звеном для исчерпывающего объяснения широкого клинического фенотипа заболевания, поскольку в таком случае развивается преимущественно иммунозависимая патология. Хорошо известно, что атеросклероз и цереброваскулярные события тесно связаны с иммуновоспалительными процессами в организме человека [74]. Церебральное локальное иммунное воспаление описано и хорошо охарактеризовано при нейродегенеративных болезнях и ключевых психических расстройствах человека [15]. Аутоиммунные, аллергические и онкологические осложнения позиционируются как проявления первичных иммунодефицитов. Установлено ряд иммунозависимых форм бесплодия у людей, включая множественные эпизоды спонтанных абортов [77].

Известен первичный иммунодефицит, который обусловлен не менделевскими мутациями, а, подобно дефициту фолатного цикла, накоп-

лением генетических полиморфизмов. Речь идет о дефиците маннозосвязывающего белка, фенотип которого очень напоминает таковой у нарушения фолатного цикла и включает помимо инфекционного синдрома быстрое прогрессирование атеросклероза и высокий риск сосудистых катастроф [39], множественные эпизоды спонтанных абортос [16], болезнь Альцгеймера [69] и биполярное расстройство личности [21], ряд аутоиммунных проявлений, в том числе – ревматоидный артрит [66], системную красную волчанку [23], ревмокардит [30] и спондилоартрит [2], такие аллергические проявления как бронхиальная астма и атопия [8], а также – подобные онкологические осложнения [] (табл. 3). Разительное сходство фенотипов первичного иммунодефицита и генетического метаболического расстройства может указывать на то, что при дефиците фолатного цикла формируется клинически значимая иммуносупрессия.

Табл. 3.

Сравнительная характеристика фенотипов генетического дефицита фолатного цикла и первичного дефицита маннозосвязывающего белка

№	Признак	Дефицит фолатного цикла	Дефицит маннозосвязывающего белка
1	Инфекционный синдром	Сниженная резистентность к стрептококку [31], герпесвирусам, вирусу кори и краснухи [47] у детей с аутизмом, ассоциированным с дефицитом фолатного цикла	Склонность к стрептококковой, нейссеральной, герпесвирусной инфекции [34]
2	Аутоиммунный синдром	Ревматоидный артрит [10], системная красная волчанка, ревмокардит [11], спондилоартрит [84]	Ревматоидный артрит [66], системная красная волчанка [23], ревмокардит [30], спондилоартрит [2]
3	Аллергический синдром	Бронхиальная астма [79], атопия [28]	Бронхиальная астма, атопия [8]
4	Психиатрическая патология	Биполярное расстройство, депрессия [54], аутизм [57]	Биполярное расстройство, панические атаки [21]
3	Нейродегенеративная патология	Болезни Альцгеймера [60]	Болезнь Альцгеймера [69]
4	Онкологический синдром	Острый лимфолейкоз, рак яичников [68], гепатоцеллюлярная карцинома [59] и другие	Острый лимфолейкоз, рак яичников, гепатоцеллюлярная карцинома [72] и другие

№	Признак	Дефицит фолатного цикла	Дефицит маннозосвязывающего белка
5	Иммуновоспалительные поражения	Неспецифический язвенный колит [84]	Неспецифический язвенный колит, болезнь Крона [34]
6	Отягощение другой генетической патологии	Повышение риска развития и отягощение болезни Дауна [61]	Отягощение болезни Дауна [49]
7	Сосудистые поражения	Атеросклероз и связанные с этим осложнения [9]	Атеросклероз и связанные с этим осложнения [39]
8	Бесплодие	Множественные эпизоды спонтанных абортс [82]	Множественные эпизоды спонтанных абортс [16]
9	Гемокоагуляционные нарушения	Склонность к тромбозам [9]	Склонность к тромбозам [51]

Наличие иммунодефицита при болезнях обмена веществ не является редкостью, и хорошими примерами в этом отношении могут быть дефициты аденозиндеаминазы [4], пуриноклеозидфосфорилазы [40], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [5] и гликогенос I типа [62]. Действительно, имеется ряд описаний разнообразных нарушений иммунного статуса при дефиците фолиевой кислоты, которые могут быть в определенной степени экстраполированы на первичный дефицит фолатного цикла, при котором типична низкая концентрация или дисбаланс фолиевой кислоты в сыворотке крови. Так, van der Weyden M.B. с соавт. установили угнетение метаболизма лимфобластов при фолатном дефиците, включающее нарушение деоксинуклеотидного метаболизма и тимидилатного цикла [76]. Courtemanche C. с соавт. продемонстрировали, что фолатный дефицит приводит к угнетению пролиферации первичных CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов [17]. Abe I. с соавт. показали, что дефицит фолиевой кислоты приводит к уменьшению количества естественных киллеров, Т-лимфоцитов и В-клеток, но не базофилов и гранулоцитов [1]. Troen A.M. с соавт. установили, что неметаболизированная фолиевая кислота в сыворотке крови приводит к угнетению цитотоксичности естественных киллеров у женщин в постменопаузальный период [75]. A Bhatnagar N. с соавт. описали панцитопению при тяжелом фолатном дефиците [7].

Кроме того, показано, что полиморфизмы/мутации генов фолатного цикла могут отягощать первичные иммунодефициты. Так, Nucera C. с соавт. продемонстрировали, что именно гетерозиготные мутации MTHFR C677T и A1298C были ответственны за развитие первичного антифосфолипидного синдрома при синдроме Ди Джорджи [50]. По-

этому представляется перспективным проведение специально спланированных исследований по оценке иммунного статуса при генетическом дефиците фолатного цикла.

Таким образом, первичный дефицит фолатного цикла – довольно распространенная в популяции генетическая болезнь, которая оказывает выраженное и разнонаправленное негативное влияние на здоровье современного человека. Отмечается широкий клинический фенотип заболевания, охватывающий бесплодие у мужчин и женщин, пороки развития нервной системы плода, аутизм и расстройства аутистического спектра у детей, нейродегенеративные и психические поражения, аутоиммунную и аллергическую патологию во время различных этапов онтогенеза, остеопороз у женщин в постменопаузальный период, атеросклероз сосудов, эссенциальную артериальную гипертензию и связанные с этим острые кардио- и цереброваскулярные события в третьей части жизни, а также – разнообразные потенциально летальные онкологические осложнения. На характер клинической манифестации фолатного дефицита влияют природа генетического полиморфизма, кумулятивный эффект аллелей риска, возраст, пол, этническая принадлежность пациента, воздействие вмешивающихся факторов внутренней и внешней среды, взаимодействие с другими генетическими поломками и даже – медикаментозная терапия. Один и тот же полиморфизм может предрасполагать к одной патологии и защищать от развития другой. Некоторые ассоциированные болезни чаще встречаются среди азиатов, тогда как другие – среди европейцев. Украинская популяция – особенная в этом отношении, поскольку ощутила на себе влияние как европейского, так и азиатского генофондов. Поэтому представляет интерес выполнение соответствующих популяционных исследований в Украине. Широкий клинический фенотип болезни трудно объяснить исключительно метаболическим дефектом, причем результаты некоторых испытаний не подтверждают корреляцию установленной клинкогенетической ассоциации с уровнем гомоцистеина в биологических средах [6, 28, 46]. Нарушения иммунитета могут быть недостающим звеном патогенетической связи между наличием генетической поломки и развитием ряда важных клинических проявлений при первичном дефиците фолатного цикла, что обосновывает необходимость проведения дополнительных исследований в этом направлении.

Список литературы

1. Abe I., Shirato K., Hashizume Y. Folate-deficiency induced cell-specific changes in the distribution of lymphocytes and granulocytes in rats // Environ Health Prev. Med. – 2013. – Vol. 18(1). – P. 78–84.

2. Aydin S.Z., Atagunduz P., Inanc N. et al. Mannose binding lectin levels in spondyloarthropathies // *J. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 34(10). – P. 2075-2077.
3. Badiga S., Johanning G.L., Macaluso M. et al. A lower degree of PBMC L1 methylation in women with lower folate status may explain the MTHFR C677T polymorphism associated higher risk of CIN in the US post folic acid fortification era // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(10) – e110093.
4. Baffelli R., Notarangelo L.D., Imberti L. et al. Diagnosis, Treatment and Long-Term Follow Up of Patients with ADA Deficiency: a Single-Center Experience // *J. Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 35(7). – P. 624–637.
5. Baird K. Origins and implications of neglect of G6PD deficiency and primaquine toxicity in *Plasmodium vivax* malaria // *Pathog. Glob. Health.* – 2015. – Vol. 109(3). – P. 93–106.
6. Bellia C, Bivona G, Caruso A et al. MTHFR C677T allelic variant is not associated with plasma and cerebrospinal fluid homocysteine in amyotrophiclateral sclerosis // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 53(3). – e73–75.
7. Bhatnagar N., Wechalekar A., McNamara C. Pancytopenia due to severe folate deficiency // *Intern. Med. J.* – 2012. – Vol. 42(9). – P. 1063–1064.
8. Birbian N., Singh J., Jindal S.K. et al. Association of the wild-type A/A genotype of MBL2 codon 54 with asthma in a North Indian population // *Dis. Markers.* – 2012. – Vol. 32(5). – p. 301–308.
9. Borges M.C., Hartwig F.P., Oliveira I.O., Horta B.L. Is there a causal role for homocysteine concentration in blood pressure? A Mendelian randomization study // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2016. – Vol. 103(1). – P. 39–49.
10. Boughrara W., Aberkane M., Fodil M. et al. Impact of MTHFR rs1801133, MTHFR rs1801131 and ABCB1 rs1045642 polymorphisms with increased susceptibility of rheumatoid arthritis in the West Algerian population: A case-control study // *Acta Rheumatol. Port.* – 2015. – Vol. 40(4). – P. 363–371.
11. Carlus S.J., Abdallah A.M., Bhaskar L.V. et al. The MTHFR C677T polymorphism is associated with mitral valve rheumatic heart disease // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20(1). – P.109–114.
12. Cevik B., Yigit S., Karakus N. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism with multiple sclerosis in Turkish patients // *J. Investig. Med.* – 2014. – Vol. 62(8). – P. 980–984.
13. Chen H., Yang X., Lu M. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 293(2). – P. 283–290.
14. Chen L., Lu N., Zhang B.H. et al. Association between the MTHFR C677T polymorphism and gastric cancer susceptibility: A meta-analysis of 5,757 cases and 8,501 controls // *Oncol Lett.* – 2015. – Vol. 10(2). – P. 1159–1165.
15. Chen S.H., Oyarzabal E.A., Hong J.S. Critical role of the Mac1/NOX2 pathway in mediating reactive microgliosis-generated chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 26. – P. 54–60.
16. Christiansen O.B., Kilpatrick D.C., Souter V. et al. Mannan-binding lectin deficiency is associated with unexplained recurrent miscarriage // *Scand. J. Immunol.* – 1999. – Vol. 49(2) – P. 193–196.

17. Courtemanche C., Elson-Schwab I., Mashiyama S.T. Folate deficiency inhibits the proliferation of primary human CD8+ T lymphocytes in vitro // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173(5). – P. 3186–3192.
18. El-Hadidy M.A., Abdeen H.M., Abd El-Aziz S.M., Al-Harrass M. MTHFR gene polymorphism and age of onset of schizophrenia and bipolar disorder // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 318483.
19. Evinova A., Babusikova E., Straka S. et al. Analysis of genetic polymorphisms of brain-derived neurotrophic factor and methylenetetrahydrofolate reductase in depressed patients in a Slovak (Caucasian) population // *Gen. Physiol. Biophys.* – 2012. – Vol. 31(4). – P. 415–422.
20. Fekih Mrissa N., Mrad M., Klai S. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase A1298C polymorphism but not of C677T with multiple sclerosis in Tunisian patients // *Clin. Neurol. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 115(9). – P. 1657–1660.
21. Foldager L., Köhler O., Steffensen R. et al. Bipolar and panic disorders may be associated with hereditary defects in the innate immune system // *J. Affect Disord.* – 2014. – Vol. 164. – P. 148–154.
22. García S., Coral-Vázquez R., Gallegos-Arreola M.P. et al. Association of the rs1801133 variant in the MTHFR gene and sporadic Parkinson's disease // *Folia Neuropathol.* – 2015. – 53(1). – P. 24–28.
23. Glesse N., Monticielo O.A., Mattevi V.S. et al. Association of mannose-binding lectin 2 gene polymorphic variants with susceptibility and clinical progression in systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 29(6). – P. 983–990.
24. Gong M., Dong W., He T. et al. MTHFR 677C>T polymorphism increases the male infertility risk: a meta-analysis involving 26 studies // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10(3). – e0121147.
25. Guo T., Chen H., Liu B. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han population // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2012. – Vol. 16(8). – P. 968–973.
26. Hei G., Pang L., Chen X. et al. Association of serum folic acid and homocysteine levels and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with schizophrenia // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2014. – Vol. 94(37). – P. 2897–2901.
27. Hu C.Y., Qian Z.Z., Gong F.F. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism susceptibility to schizophrenia and bipolar disorder: an updated meta-analysis // *J. Neural. Transm. (Vienna).* – 2015. – Vol. 122(2). – P. 307–320.
28. Husemoen L.L., Toft U., Fenger M. et al. The association between atopy and factors influencing folate metabolism: is low folate status causally related to the development of atopy? // *Int. J. Epidemiol.* – 2006. – Vol. 35(4). – P. 954–961.
29. Ismail M.F., Zarouk W.A., Ruby M.O. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in Egyptian Turner Syndrome patients // *Acta Biochim. Pol.* – 2015. – Vol. 62(3). – P. 529–532.

30. Jin Z., Ji Z., Hu J. Mannose-binding lectin gene site mutations and the susceptibility of rheumatic heart disease // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2001. – Vol. 81(21). – P. 1284–1286.

31. Jyonouchi H., Geng L., Streck D.L., Toruner G.A. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study // *J. Neuroinflammation.* – 2012. – Vol. 9. – P. 4.

32. Kalkan G., Yigit S., Karakuş N. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation in patients with alopecia areata in Turkish population // *Gene.* – 2013. – Vol. 530(1). – P. 109–112.

33. Kevere L., Purvina S., Bauze D. et al. Homocysteine and MTHFR C677T polymorphism in children and adolescents with psychotic and mood disorders // *Nord. J. Psychiatry.* – 2014. – Vol. 68(2). – P. 129–136.

34. Kovacs M., Papp M., Lakatos P.L. et al. Low mannose-binding lectin (MBL) is associated with paediatric inflammatory bowel diseases and ileal involvement in patients with Crohn disease // *J. Crohns Colitis.* – 2013. – Vol. 7(2). – P. 134–141.

35. Kühnlein P., Jung H., Farkas M. et al. The thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase is a possible risk factor for amyotrophic lateral sclerosis // *Amyotroph. Lateral. Scler.* – 2011. – Vol. 12(2). – P. 136–139.

36. Li C., Yichao J., Jiaxin L. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and risk of chronic myelogenous leukemia: a meta-analysis // *J. BUON.* – 2015. – Vol. 20(6). – P. 1534–1545.

37. Li H.Z., Wang W., Liu Y.L., He X.F. Association between the methylenetetrahydrofolate reductase c.677C>T polymorphism and bone mineral density: an updated meta-analysis // *Mol. Genet. Genomics.* – 2016. – Vol. 291(1). – P. 169–180.

38. Lochman J., Plesník J., Janout V. et al. Interactive effect of MTHFR and ADRA2A gene polymorphisms on pathogenesis of schizophrenia // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2013. – Vol. 34(8). – P. 792–797.

39. Madsen H.O., Videm V., Svejgaard A. et al. Association of mannose-binding-lectin deficiency with severe atherosclerosis // *Lancet.* – 1998. – Vol. 352. – P. 959–960.

40. Markert M.L. Purine nucleoside phosphorylase deficiency // *Immunodefic. Rev.* – 1991. – Vol. 3(1). – P. 45–81.

41. Marseglia L.M., Nicotera A., Salpietro V. et al. Hyperhomocysteinemia and MTHFR polymorphisms as antenatal risk factors of white matter abnormalities in two cohorts of late preterm and full term newborns // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 543134.

42. Miller A.L. The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases // *Altern. Med. Rev.* – 2003. – Vol. 8(1). – P. 7–19.

43. Mohammad N.S., Jain J.M., Chintakindi K.P. et al. Aberrations in folate metabolic pathway and altered susceptibility to autism // *Psychiatr. Genet.* – 2009. – Vol. 19(4). – P. 171–176.

44. Morales de Machín A., Méndez K., Solís E. et al. C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in mothers of children affected with neural tube defects // *Invest. Clin.* – 2015. – Vol. 56(3). – P. 284–295.
45. Munisamy M., Al-Gahtany M., Tripathi M., Subbiah V. Impact of MTHFR (C677T) gene polymorphism on antiepileptic drug monotherapy in North Indian epileptic population // *Ann. Saudi. Med.* – 2015. – Vol. 35(1). – P. 51–57.
46. Naghibalhossaini F., Ehyakonandeh H., Nikseresht A., Kamali E. Association Between MTHFR Genetic Variants and Multiple Sclerosis in a Southern Iranian Population // *Int. J. Mol. Cell. Med.* – 2015. – Vol. 4(2). – P. 87–93.
47. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for *Mycoplasma* ssp., *Chlamydia pneumoniae*, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res.* – 2007 – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.
48. Nishi A., Numata S., Tajima A. et al. Meta-analyses of blood homocysteine levels for gender and genetic association studies of the MTHFR C677T polymorphism in schizophrenia // *Schizophr. Bull.* – 2014. – Vol. 40(5). – P. 1154–1163.
49. Nishihara R.M., Utiyama S.R., Oliveira N.P., Messias-Reason I.J. Mannan-binding lectin deficiency increases the risk of recurrent infections in children with Down's syndrome // *Hum. Immunol.* – 2010. – Vol. 71(1). – P. 63–66.
50. Nucera C., Vaccaro M., Moleti M. et al. Antiphospholipid antibodies syndrome associated with hyperhomocysteinemia related to MTHFR Gene C677T and A1298C heterozygous mutations in a young man with idiopathic hypoparathyroidism (DiGeorge syndrome) // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91(6). – P. 2021–2026.
51. Ohlenschlaeger T., Garred P., Madsen H.O., Jacobsen S. Mannose-binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus // *New Eng. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 260–267.
52. Paşca S.P., Dronca E., Kaucsár T. et al. One carbon metabolism disturbances and the C677T MTHFR gene polymorphism in children with autism spectrum disorders // *J. Cell. Mol. Med.* – 2009. – Vol. 13(10). – P. 4229–4238.
53. Peerbooms O., Rutten B.P., Collip D. et al. Evidence that interactive effects of COMT and MTHFR moderate psychotic response to environmental stress // *Acta Psychiatr. Scand.* – 2012. – Vol. 125(3). – P. 247–256.
54. Peerbooms O.L., van Os J., Drukker M. et al. Meta-analysis of MTHFR gene variants in schizophrenia, bipolar disorder and unipolar depressive disorder: evidence for a common genetic vulnerability? // *Brain. Behav. Immun.* – 2011. – Vol. 25(8). – P. 1530–1543.
55. Peng Q., Lao X., Huang X. et al. The MTHFR C677T polymorphism contributes to increased risk of Alzheimer's disease: evidence based on 40 case-control studies // *Neurosci. Lett.* – 2015. – Vol. 586. – P. 36–42.
56. Promthet S., Pientong C., Ekalaksananan T. et al. Risk factors for rectal cancer and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in a population in Northeast Thailand // *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13(8). – P. 4017–4023.

57. Pu D., Shen Y., Wu J. Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis // *Autism Res.* – 2013. – Vol. 6(5). – P. 384–392.
58. Qi Q., Zhang H., Yu M., Wang X. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* – 2015. – Vol. 32(3). – P. 400–404.
59. Qi X., Sun X., Xu J. et al. Associations between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and hepatocellular carcinoma risk in Chinese population // *Tumour. Biol.* – 2014. – Vol. 35(3). – P. 1757–1762.
60. Rai V. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T Polymorphism and Alzheimer Disease Risk: a Meta-Analysis // *Mol. Neurobiol.* – 2016. Jan 28. [Epub ahead of print].
61. Rai V., Yadav U., Kumar P. et al. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and down syndrome risk: a meta-analysis from 34 studies // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(9). – e108552.
62. Rajas F., Labrune P., Mithieux G. Glycogen storage disease type 1 and diabetes: learning by comparing and contrasting the two disorders // *Diabetes Metab.* – 2013. – Vol. 39(5). – P. 377–387.
63. Regland B., Germgård T., Gottfries C.G. et al. Homozygous thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in schizophrenia-like psychosis // *J. Neural. Transm. (Vienna).* – 1997. – Vol. 104(8-9). – P. 931–941.
64. Roecklein K.A., Scher A.I., Smith A. et al. Haplotype analysis of the folate-related genes MTHFR, MTRR, and MTR and migraine with aura // *Cephalalgia.* – 2013. – Vol. 33(7). – P. 469–482.
65. Różycka A., Słopeń R., Słopeń A. et al. The MAOA, COMT, MTHFR and ESR1 gene polymorphisms are associated with the risk of depression in menopausal women // *Maturitas.* – 2016. – Vol. 84. – P. 42–54.
66. Saevarsdottir S., Vikingsdottir T., Vikingsson A. et al. Low mannose binding lectin predicts poor prognosis in patients with early rheumatoid arthritis. A prospective study // *J. Rheumatol.* – 2001. – Vol. 28(4). – P. 728–734.
67. Sazci A., Ozel M.D., Emel E., Idrisoglu H.A. Gender-specific association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms with sporadic amyotrophic lateral sclerosis // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2012. – Vol. 16(7). – P. 716–721.
68. Singh A., Pandey S., Pandey L.K., Saxena A.K. In human alleles specific variation of MTHFR C677T and A1298C associated "risk factor" for the development of ovarian cancer // *J. Exp. Ther. Oncol.* – 2015. – Vol. 11(1). – P. 67–70.
69. Sjölander A., Minthon L., Nuytinck L. et al. Functional mannose-binding lectin haplotype variants are associated with Alzheimer's disease // *J. Alzheimers Dis.* – 2013. – Vol. 35(1). – P. 121–127.
70. Song Y., Li B., Wang C., Wang P. et al. Association between 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Gene Polymorphism and Risk of Ischemic Stroke: A Meta-analysis // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 25(3). – P. 679–687.

71. Sukla K.K., Jaiswal S.K., Rai A.K. et al. Role of folate-homocysteine pathway gene polymorphisms and nutritional cofactors in Down syndrome: A triad study // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30(8). – P. 1982–1993.

72. Swierczko A.S., Szala A., Sawicki S. et al. Mannose-Binding Lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2) in women with malignant and benign ovarian tumours // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – Jul 20. [Epub ahead of print].

73. Todorović Z., Džoljić E., Novaković I. et al. Homocysteine serum levels and MTHFR C677T genotype in patients with Parkinson's disease, with and without levodopa therapy // *J. Neurol. Sci.* – 2006. – Vol. 248(1-2). – P. 56–61.

74. Tousoulis D., Oikonomou E., Economou E.K. et al. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches // *Eur. Heart. J.* – 2016. Feb 2. [Epub ahead of print].

75. Troen A.M., Mitchell B., Sorensen B. Unmetabolized folic acid in plasma is associated with reduced natural killer cell cytotoxicity among postmenopausal women // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136(1). – P. 189–194.

76. Van der Weyden M.B., Hayman R.J. et al. Folate-deficient human lymphoblasts: changes in deoxynucleotide metabolism and thymidylate cycle activities // *Eur. J. Haematol.* – 1991. – Vol. 47(2). – P. 109–114.

77. Vannuccini S., Clifton V.L., Fraser I.S. et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome // *Hum. Reprod. Update.* – 2016. – Vol. 22(1). – P. 104–115.

78. Velichko V.L., Kudlach O.I., Shelepina O.A. A study of occurrence frequency of c677t polymorphism of the gene mthfr and plasma folate levels in patients with unipolar depression // *Lik. Sprava.* – 2015. – Vol. (1-2). – P. 156–157.

79. Wang T., Zhang H.P., Zhang X. et al. Is Folate Status a Risk Factor for Asthma or Other Allergic Diseases? // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 7(6). – P. 538–546.

80. Wang Y., Yang H., Duan G. et al. MTHFR gene A1298C polymorphisms are associated with breast cancer risk among Chinese population: evidence based on an updated cumulative meta-analysis // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8(11). – P. 20146–20156.

81. Wu Y.L., Ding X.X., Sun Y.H. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease: a meta-analysis // *J. Neurol. Sci.* – 2013. – Vol. 335(1-2). – P. 14–21.

82. Yang Y., Luo Y., Yuan J. et al. Association between maternal, fetal and paternal MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a comprehensive evaluation // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2015. [Epub ahead of print].

83. Yi K., Yang L., Lan Z., Xi M. The association between MTHFR polymorphisms and cervical cancer risk: a system review and meta analysis // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2016. Feb 15. [Epub ahead of print].

84. Yigit S., Inanir A., Tural S. et al. The effect of IL-4 and MTHFR gene variants in ankylosing spondylitis // *Z. Rheumatol.* – 2015. – Vol. 74(1). – P. 60–66.

85. Yoshino Y, Wakabayashi Y. Activities of folate-derivative converting enzymes in the brain of patients with amyotrophic lateral sclerosis // *Rinsho Shinkeigaku*. – 1983. – Vol. 23(7). – P. 563–569.

86. Zhang X.F., Liu T., Li Y., Li S. Association between MTHFR 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms and breast cancer risk // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – Vol. 14(4). – P. 16425–16430.

87. Zhang Y., Yan H., Tian L. et al. Association of MTHFR C677T polymorphism with schizophrenia and its effect on episodic memory and gray matter density in patients // *Behav. Brain. Res.* – 2013. – Vol. 243. – P. 146–152.

88. Zhu Y., Zhu R.X., He Z.Y. et al. Association of MTHFR C677T with total homocysteine plasma levels and susceptibility to Parkinson's disease: a meta-analysis // *Neurol. Sci.* – 2015. – Vol. 36(6). – P. 945–951.

РЕЗЮМЕ

Клінічний поліморфізм генетичного дефіциту ензимів циклу фолієвої кислоти

Генетичний дефіцит фолатного циклу – поширена в популяції генетична хвороба, пов'язана з широким клінічним фенотипом, що охоплює безпліддя у чоловіків і жінок, вади серця і нервової системи під час внутрішньоутробного розвитку, розлади аутистичного спектру у дітей, автоімунні та алергічні захворювання в різні періоди онтогенезу, важкі нейродегенеративні і психічні ураження, остеопороз у жінок в постменопаузальний період, атеросклероз і пов'язані з ним судинні катастрофи в третій частині життя, а також – онкологічні ускладнення. Велика питома вага неврологічних і нейропсихіатричних розладів. Порушення імунітету можуть бути невідомою ланкою патогенетичного зв'язку між наявністю генетичної поломки і розвитком ряду важливих клінічних проявів при первинному дефіциті фолатного циклу, що обґрунтовує необхідність проведення додаткових досліджень в цьому напрямку.

Ключові слова: дефіцит фолатного циклу, гіпергомоцистеїнемія, імунодефіцит.

ABSTRACT

Clinical polymorphism of genetic enzymes deficiency of folic acid cycle

The genetic deficiency of folate cycle - common in the population genetic disease associated with a wide clinical phenotype, which covers infertility in men and women, heart and nervous system abnormalities during

fetal development, autism spectrum disorders in children, autoimmune and allergic diseases in different periods of ontogeny, severe neurodegenerative and psychiatric injury, osteoporosis in postmenopausal women, atherosclerosis and associated cardio- and cerebrovascular catastrophes in the third part of life, as well as – oncological complications. A large proportion of neurological and neuropsychiatric disorders. Violations of immunity may be the missing link of pathogenetic association between genetic damage and the development of a number of important clinical manifestations of primary deficiency of folate cycle, which justifies the need for further research in this direction.

Key words: deficiency of folate cycle, hyperhomocysteinemia, immunodeficiency.

Иммунологические аспекты патогенеза расстройств спектра аутизма у детей

Расстройства психики аутистического спектра встречаются в 1% случаев среди детей современной человеческой популяции [58]. Эта тяжелая инвалидизирующая патология является актуальной проблемой психиатрии, которая до сих пор не нашла своего решения. В последние десятилетия утвердились представления о генетической гетерогенности синдрома расстройств психики аутистического спектра у людей. Fyfe R.E. (2015) в недавнем фундаментальном обзоре, посвященном этой проблеме, рассматривает генетические нарушения ферментов фолатного цикла и митохондриальную патологию как основу расстройств аутистического спектра у детей [35]. Помимо этого, мутации гена синтазы оксида азота позиционируются как причина аутистических расстройств в некоторых семьях [28]. Тем не менее, все чаще описывают раритетные причины расстройств аутистического спектра. Так, Viamino E. с соавт. сообщили недавно о новой делеции 3q29, ассоциированной с аутизмом, интеллектуальным снижением, другими психическими расстройствами и ожирением [7].

На данный момент накоплены доказательства участия иммунных механизмов в патогенезе расстройств аутистического спектра у детей, что может открыть дорогу для апробации иммунотерапевтических вмешательств при этом тяжелом и распространенном недуге. По-видимому, эти иммунные нарушения являются результатом генетической патологии, лежащей в основе предрасположенности к развитию аутизма у людей.

Так, продемонстрирована тесная связь расстройств аутистического спектра с некоторыми локусами гистосовместимости, подобно ряду аутоиммунных и аллергических синдромов человека [105]. Puangpetch A. с соавт. недавно завершили контролируемое клиническое исследование по типу случай-контроль, посвященное изучению указанной ассоциации. Показали, что аллели HLA-B 13:02 ($P = 0,019$; $OR = 2,229$), HLA-B 38:02 ($P = 0,049$; $OR = 1,628$), HLA-B 44:03 ($P = 0,016$; $OR = 1,645$) и HLA-B 56:01 ($P = 1,78 \times 10^{-4}$; $OR = 4,927$) встречаются достоверно чаще среди пациентов с расстройствами психики аутистического спектра по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы. По-видимому, такие локусы гистосовместимости являются предрасполагающим фактором к развитию аутизма. В то же время, аллели HLA-B 18:02 ($P = 0,016$; $OR = 0,375$) и HLA-B 46:12 ($P = 0,008$, OR

= 0,147) отрицательно коррелировали с фенотипом расстройств психики аутистического спектра, что указывает на определенный протективный эффект этих вариантов молекул гистосовместимости по отношению к аутизму [96]. Ранее Johnson W.G. с соавт. показали, что аллель HLA-DR4 является фактором риска развития аутизма у людей [66].

У детей с расстройствами психики аутистического спектра описаны различные формы первичных иммунодефицитов, а исследования, посвященные некоторым первичным иммунным дисфункциям, указывают на повышенный риск развития аутизма. Juonouchi H. с соавт. в специально спланированном исследовании показали связь расстройств спектра аутизма с первичным дефицитом специфических антиполисахаридных антител, что может объяснить склонность к рецидивирующей пневмококковой инфекции, отмечающуюся у многих детей с аутизмом, а также – к аллергическим и аутоиммунным осложнениям [67]. В соответствии с этим, Whiteley P. продемонстрировал повышенную частоту стрептококковых инфекций, включая импетиго, в раннем детстве у детей с расстройствами аутистического спектра [132]. Baldaçara L. с соавт. описали случай развития расстройств аутистического спектра после перенесенного эпизода пневмококкового менингоэнцефалита [6]. Учитывая концепцию PANDAS, известное снижение резистентности к стрептококковой инфекции может объяснить некоторые случаи развития экстрапиримидных и обсессивно-компульсивных расстройств у детей с аутизмом [74]. Ранее Reinert P.B. с соавт. показали дефицит специфического клеточного иммунного ответа к вирусу кори у пациентов с расстройствами психики аутистического спектра, который приводит к аномально сниженной резистентности таких детей при соответствующем инфицировании [97]. Santaella M.L. с соавт. в контролируемом исследовании продемонстрировали, что у ближайших родственников пациентов с первичным избирательным дефицитом IgA резко повышен риск развития расстройств психики аутистического спектра [103]. В соответствии с этим, Wagen R.P. с соавт. показали тесную связь изолированного дефицита IgA и аутистического спектра у детей, выделив отдельную подгруппу пациентов с аутизмом, страдающую этим гуморальным иммунодефицитом [128]. Wasilewska J. с соавт. выявили аномально низкую сывороточную концентрацию IgA и резко повышенную экспрессию молекулы CD23 на поверхности В-лимфоцитов периферической крови у детей с признаками регрессивного аутизма в возрасте 3-6 лет [130]. В другом контролируемом испытании Russo A.J. с соавт. продемонстрировали, что дефицит миелопероксидазы фагоцитов является специфическим признаком иммунного статуса пациентов с расстройствами спектра аутизма, который, по-видимому, и определяет

типичное развитие иммуноопосредованного кишечного синдрома у таких детей [100]. Неоднократно сообщали об ассоциации аутизма с избирательным дефицитом субклассов IgG и неклассифицированной гипои иммуноглобулинемией [56, 60]. Warten R.P. с соавт. (1994) описали связь аутистических расстройств с дефицитом компонента комплемента C4b [125]. Аутистические черты описаны при таких первичных иммунодефицитах как общий вариабельный иммунодефицит [102], дефицит молекул адгезии II типа [40], атаксия-телеангиэктазия [123], синдром Ди Джорджи [107], канналопатия CaV1.2 [72], гипер-IgE-синдром [51].

Имеющиеся нарушения иммунитета – не просто свидетель патологического процесса при аутизме, но и активный участник патогенеза, так как именно нарушениями иммунного статуса можно объяснить ряд хорошо известных особенностей детей с расстройствами спектра аутизма, включая аномально низкую резистентность к ряду оппортунистических микроорганизмов, склонность к генерации аллергических и аутоиммунных осложнений и плохую переносимость вакцин. Имеются доказательства, что иммунодефициты напрямую влияют на развитие аутизма, тяжесть и динамику психических нарушений. Так, Heuer L. с соавт. в специально спланированном исследовании установили, что степень редукции уровней основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови тесно коррелирует с тяжестью аутистических расстройств психики у детей [60]. Согласно результатам исследования Grether J.K. с соавт., аномально низкая концентрация IgG в сыворотке крови новорожденного является независимым фактором риска развития расстройств аутистического спектра в будущем [50].

Помимо иммунодефицита, у пациентов с расстройствами психики аутистического спектра отмечаются признаки иммунной дисрегуляции, характерные для аутоиммунных и аллергических синдромов. Описаны угнетение миграции макрофагов при добавлении основного белка миелина [131], сниженный митоген-индуцированный бластогенез лимфоцитов [115], малое количество Т-клеток с нарушенным соотношением хелперов и супрессоров [127], сниженное количество Т-хелперов и В-лимфоцитов [135], дефицит цитотоксических Т-лимфоцитов [129], низкая активность естественных киллеров [126].

У детей с аутистическим спектром отмечаются также признаки гиперпродукции провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-1бета и интерлейкин-6 [111], что согласуется с представлениями об иммунной дисрегуляции при аутизме. Данные последнего систематического обзора и мета-анализа контролируемых клинических исследований показывают повышение сывороточной концентрации провоспалительных медиаторов интерлейкина-1бета

($P < 0,001$), интерлейкина-6 ($P = 0,03$), интерлейкина-8 ($P = 0,04$), интерферона-гамма ($P = 0,02$), зотаксина ($P = 0,01$) и моноцитарного хемотаксического фактора 1 ($P < 0,05$) и снижение содержания противовоспалительного цитокина трансформирующего фактора роста бета1 ($P < 0,001$) у детей с расстройствами спектра аутизма ($n = 743$) по сравнению со здоровыми пациентами ($n = 592$) [81]. Как известно, эти цитокины обладают нейротропными эффектами и могут модулировать психическую деятельность у детей с аутистическим спектром, например, стимулировать гиперактивность.

Имеются неединичные сообщения о появлении аутизма у взрослых и детей после перенесенных эпизодов нейроинфекций, преимущественно – оппортунистической природы. Эти оппортунистические нейроинфекции, как правило, развиваются у иммуноскомпрометированных лиц, что согласуется с приведенными выше данными о наличии иммунодефицита и иммунной дисрегуляции у пациентов с аутистическим спектром. Так, Ghaziuddin M. с соавт. в 2002 году сообщили о появлении симптомов аутизма после перенесенного височного долевого энцефалита, вызванного простым вирусом герпеса 1 типа [44]. Имеется также ряд более ранних клинических сообщений об ассоциации расстройств спектра аутизма и височного герпесвирусного энцефалита у взрослых и детей, которые были опубликованы в рецензируемых научных изданиях в период с 1981 по 1992 гг. [27, 43, 45, 46, 49]. В результате этих наблюдений Vinstock T. выдвинул гипотезу, что сочетанное развитие психических и кишечных симптомов у пациентов с расстройствами аутистического спектра в некоторых случаях может быть связано с проникновением вируса простого герпеса 1 типа в нейроны передней инсулярной коры в результате трансольфакторной миграции патогена из слизистой оболочки верхних дыхательных путей [9]. Трансольфакторный путь перемещения вируса в ЦНС был выявлен и охарактеризован в гистологических исследованиях Dinn J.J. в 1980 году [30]. Сейчас также продемонстрирована возможность трансольфакторной миграции вируса герпеса 6 типа человека [59], из-за чего этот возбудитель связывают с развитием височного медианного склероза [31] – феномена, часто отмечающегося и, по-видимому, ответственного за развитие некоторых клинических проявлений, включая эпилептический синдром, у пациентов с расстройствами аутистического спектра, как это продемонстрировали Monge-Galindo L. с соавт. в специально спланированном лонгитудинальном исследовании, охватывавшем катанестическое наблюдение на протяжении 19 лет [83].

К развитию аутизма могут быть причастны и другие виды вирусов герпеса. Контролируемое ретроспективное клиническое исследование,

проведенное Sakamoto A. с соавт., показало повышенную частоту случаев врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей с расстройствами спектра аутизма по сравнению с общей детской популяцией ($p=0,004$) [101]. Engman M.L. с соавт. (2015) получили аналогичные результаты в другом ретроспективном контролируемом испытании. Признаки врожденной цитомегаловирусной инфекции среди детей с аутизмом имели место в 3% случаев, тогда как в общей популяции врожденная цитомегаловирусная инфекция встречалась лишь 0,2% случаев [33]. Ранее связь расстройств аутистического спектра с пренатально перенесенной цитомегаловирусной инфекцией продемонстрировали Pinillos-Pisón R. в соавт. в 18-летнем лонгитудинальном исследовании [90]. Было также опубликовано описание ряда клинических случаев тяжелого аутизма у детей с врожденной и приобретенной цитомегаловирусной инфекцией [32, 64, 79, 113, 116, 134]. Kawatani M. с соавт. обнаружили цитомегаловирус в сохраненной замороженной пуповинной крови пациента с расстройствами спектра аутизма [68]. О причинной роли врожденной краснухи при аутизме у людей хорошо известно [63]. Mankoski R.E. с соавт. сообщили о ряде случаев развития аутизма после перенесенной малярии [76].

В соответствии с этим, Marques F. с соавт. описали развитие проявлений аутизма в результате энтеровирусного энцефалита [80]. Известен также ряд случаев развития расстройств аутистического спектра после коревого энцефалита не только у детей, но и у взрослых [61]. В систематическом обзоре Jefferson T. с соавт. указывают на связь иммунизации живой аттенуированной вакциной против кори, краснухи, паротита с расстройствами аутистического спектра у детей [65]. Хотя результаты некоторых последних исследований не поддерживают такую ассоциацию, в нашей клинической практике подобные случаи встречаются нередко. Lintas C. в соавт. при исследовании гистологических образцов головного мозга, полученных при аутопсии, продемонстрировали достоверно более частое обнаружение полиомавирусов у пациентов с аутистическим спектром по сравнению с лицами, не страдающими аутизмом (40% против 7,7% соответственно; $P=0,08$) [73]. Эти клинические данные согласуются с результатами экспериментальных исследований, которые показывают развитие психических расстройств, напоминающих аутистический спектр у людей, у подопытных животных после пренатальной или неонатальной инокуляции нейротропных вирусов, включая вирус простого герпеса 1 типа, вирус гриппа, ретровирусы [13].

Atladóttir H.O. с соавт. показали в контролируемом клиническом испытании, что матери детей с аутизмом чаще обращались за стацио-

нарным лечением по поводу вирусных инфекций на протяжении первого и второго триместра беременности [5]. По данным популяционного исследования по типу случай-контроль, проведенного Fang S.Y. с соавт., развитие аутистических расстройств у ребенка было ассоциировано с более частыми эпизодами генитальных инфекций и гетерогенных по локализации бактериальных поражений у матери в третьем триместре беременности (OR=1,34; 95% CI=1,12-1,60 и OR=1,24; 95%CI=1,06-1,43 соответственно) [34].

Ряд исследований посвящены обнаружению аномально большой микробной нагрузки у пациентов с расстройствами психики спектра аутизма, что является непрямым доказательством наличия иммунной дисфункции у таких пациентов. Так, Binstock T. выделил subgroup детей с аутизмом с так называемыми интрамоноситарными патогенами – вирусом кори, цитомегаловирусом, вирусом герпеса 6 типа, *Yersinia enterocolitica*. Для таких детей было характерно угнетение гемопоэза, нарушение периферического иммунитета, повышение проницаемости гематоэнцефалитического барьера и демиелинизация [10]. Продемонстрировано также аномально высокое напряжение иммунной памяти к вирусу варицелла зостер у детей с расстройствами аутистического спектра в исследовании по типу случай-контроль [41]. Mora M. с соавт. показали ассоциацию аномально высоких титров антител к вирусу герпеса 2 типа и наличия расстройств аутистического спектра у детей [84], а Singh V.K. с соавт. (1998, 2002) – подобную связь с антикоревыми иммуноглобулинами, а также – антителами к краснухе и вирусу герпеса 6 типа [108, 110]. Torunlii T.Iu. с соавт. показали аномально частое обнаружение признаков парвовирусной инфекции у детей с расстройствами спектра аутизма [118]. Тем не менее, не все исследования подтверждают ассоциацию аутизма с аномально напряженным гуморальным ответом к оппортунистическим вирусам, а сами серологические методы не рассматриваются на сегодняшний день как оптимальные в верификации диагноза инфекции. Nicolson G.L. с соавт. в контролируемом исследовании, используя ПЦР сыворотки крови, показали аномально частое обнаружение микоплазмы пневмонии, хламидии пневмонии и вируса герпеса 6 типа у детей с аутизмом [86]. Lupo J. с соавт. описали фатальный случай острого гастроэнтерита у ребенка с расстройствами аутистического спектра, у которого отмечались множественные вирусные инфекции, выявленные при помощи метода ПЦР [74].

У детей с расстройствами аутистического спектра выявляют разнообразные аутоантитела к мозговым антигенам, которые не отмечаются у здоровых лиц, чаще всего – к основному белку миелина, нейрофиламентам и рецепторам нейронов [109]. Появление аутоантител согласу-

ется с данными о наличии иммунодефицита у таких пациентов и может быть объяснено нарушением реакций поддержания иммунной толерантности к мозговым аутоантигенам в условиях иммунной дисфункции. Одни разновидности таких аутоантител оказывают прямое или опосредованное повреждающее воздействие на ЦНС, в частности – приводят к демиелинизации, тогда как другие вмешиваются в процессы нейротрансмиссии, не индуцируя прямого разрушения нервной ткани.

Rout U.K. с соавт. обнаружили аутоантитела к мозговому антигену GAD65 среди детей с аутизмом в 15% случаев, аутистическим спектром – в 27% случаев и ни у одного здорового ребенка группы контроля [99]. Frye R.E. с соавт. (2013) идентифицировали антитела к рецепторам фолиевой кислоты головного мозга у детей с расстройствами аутистического спектра [36]. Cabanlit M. с соавт. установили ассоциацию аутистического спектра у детей и наличия аутоантител к гипоталамусу и таламусу [20]. Кроме того, имеется ряд сообщений о развитии аутизма при анти-NMDA-энцефалите [48, 69, 106], причем в таких случаях эффективны в/в иммуноглобулин, стероиды и инфликсимаб [48]. Продемонстрирована также продукция аутоантител к серотониновым рецепторам нейронов у детей с аутизмом [117].

Показана способность антимозговых аутоантител повреждать мозг, индуцируя психические отклонения. Gonzalez-Gronow M. с соавт. показали, что каталитические аутоантитела IgG и IgA, выделенные из крови пациентов с аутизмом, нарушают процессы гиппокампальной нейропластичности у крыс. Кроме того, авторами продемонстрирована способность IgA к основному белку миелина действовать в качестве сериновой протеиназы, расщепляя указанный человеческий аутоантиген *in vitro* [47]. В других исследованиях показано, что после введения аутоантител, полученных из крови детей с аутистическим спектром, у макак-резус развиваются поведенческие нарушения, очень напоминающие таковые при аутизме у людей [42]. Mostafa G.A., Al-Ayadhi L.Y. не только выявили повышенный титр аутоантител к ганглиозиду M1 нервной ткани у детей с расстройствами психики аутистического спектра, но и продемонстрировали корреляцию между титром этих аутоантител и тяжестью психических расстройств [85].

Аутоантитела к аутоантигенам нервной ткани иногда могут иметь изоиммунное происхождения, попадая из материнского организма к плоду путем трансплацентарной миграции во время внутриутробного периода. Brimberg L. с соавт., исследуя 2431 образец крови матерей пациентов с аутизмом и 653 женщин общей популяции, показали тесную ассоциацию антимозговых аутоантител и других признаков аутоиммунитета, включая продукцию антинуклеарных иммуноглобулинов в кон-

тексте системной красной волчанки у женщин исследуемой группы [16]. Zerbo O. с соавт. в исследовании CHARGE с участием 538 детей с расстройствами спектра аутизма, 163 пациентов с задержкой психического развития и 421 здоровых участников контрольной группы показали, что эпизоды гипертермии у матери во время беременности ассоциированы с повышенным риском развития аутизма и задержки развития у будущего ребенка (OR=2,12; 95%CI=1,17-3,84 и OR=2,50; 95%CI=1,20-5,20 соответственно) [136].

Оппортунистические вирусы также могут быть причастны к индукции антимозгового аутоиммунитета у детей с расстройствами спектра аутизма из-за феномена молекулярной мимикрии [38]. Mora M. с соавт. показали в контролируемом исследовании выявили аномально высокие титры антител в вирусу простого герпеса 2 типа у детей с аутизмом, которые были ассоциированы с аутоантителами к мозговым антигенам (77% - против миндалевидного тела, 70% - против хвостатого ядра, 47,5% - против мозжечка и ствола мозга, 45% - против гиппокампов, 40% - против мозолистого тела и 17,5% - против коры полушарий большого мозга) [84]. Singh V.K. с соавт. (1998) установили ассоциацию высокой сероположительности к вирусу кори и вирусу герпеса 6 типа и аномально большого титра аутоантител к основному белку миелина и белку филаментов аксонов нейронов у детей с аутизмом [110]. В другом исследовании показана перекрестная реактивность между антикоревыми антителами и аутоантителами против основного белка миелина у детей с аутистическим синдромом [108]. Индукцию перекрестно-реагирующих антител могут провоцировать разнообразные суперантигены в условиях иммунодефицита. Vojdani A. с соавт. показали, что у детей с расстройствами аутистического спектра пептиды *Chlamydia pneumoniae*, М-протеин стрептококков и бутирофиллин молока приводят к продукции неполноценных специфических антител с перекрестной реактивностью, способных распознавать не только микробные и пищевые антигены, но и некоторые молекулы нервной ткани, в частности – основной белок миелина, миелин-ассоциированный гликопротеин, миелиновый олигодендроглицитарный протеин, белки нейрофиламентов и тубулина [124].

Помимо прямого повреждающего воздействия на ЦНС и индукции антимозгового аутоиммунитета, оппортунистические инфекции могут влиять на развитие аутизма путем нарушения эндокринного статуса. Так, имеются доказательства, что хроническая токсоплазменная инфекция приводит к повышению сывороточной концентрации тестостерона в организме матери, что повышает риск рождения ребенка с аутизмом [1]

У пациентов с аутизмом продемонстрирован повышенный риск развития злокачественных опухолей. Как указывают Crawley J.N. с соавт.,

канцерогенез у пациентов с аутистическим спектром связан с общностью генетической основы этих психических нарушений и повышенного риска злокачественной трансформации [23]. Иммунодефицит, неоднократно описанный у детей с аутизмом, может, по крайней мере, частично, объяснить канцерогенез сниженным иммунным надзором над опухолевыми клетками.

Кишечный синдром, являющийся характерным для детей с расстройствами аутистического спектра, также имеет иммунозависимый механизм развития. Кишечные нарушения, отмечающиеся у пациентов с аутизмом, могут иметь три различных фенотипа: энтеропатии с элементами непереваренной пищи в стуле, колита с персистирующими запорами или обоих расстройств одновременно.

Одним из объяснений кишечного синдрома является развитие целиакии, о которой ранее неоднократно сообщали в контексте ассоциации с избирательным дефицитом IgA [88], дефицитом естественных киллерных Т-лимфоцитов [53] и других первичных иммунодефицитов. Связь между гиперчувствительностью к пищевым антигенам и психическими расстройствами усматривают в нарушении функционирования оси микробиота-кишечник-мозг, ключевую роль в которой играют тучные клетки [29]. Lau N.M. с соавт. провели контролируемое клиническое испытание, в котором показали повышенную сывороточную концентрацию IgG к глиадину у детей с расстройствами психики аутистического спектра по сравнению со здоровыми сверстниками ($p < 0,01$). Кроме того, концентрация антиглиадиновых IgG была выше у детей с расстройствами спектра аутизма, у которых отмечались гастроинтестинальные проявления, по сравнению с участниками исследуемой группы, у которых аутизм не был ассоциирован с кишечным синдромом ($p < 0,01$). Связи расстройств спектра аутизма с антителами к тканевой трансглутаминазе и дезаминированным пептидам глиадина не было обнаружено. [71] В то же время, Rosenspire A. с соавт. выявили subgroupу детей с расстройствами психики аутистического спектра, у которых кишечные проявления были ассоциированы с повышенным титром IgA к тканевой трансглутаминазе 2 типа [98].

Известны также случаи гиперчувствительности к казеину коровьего молока как причины нарушения деятельности кишечника у детей с аутизмом. de Magistris L. с соавт. провели контролируемое исследование, посвященное обнаружению антител против пищевых антигенов у детей с диагнозом расстройств психики аутистического спектра. Показали, что титр IgG к глиадину и дезаминированному пептиду глиадина достоверно выше среди детей с аутизмом по сравнению со здоровыми сверстниками, причем отмечалась лишь частичная положительная ди-

намика после назначения безглютеновой диеты. Высокая сывороточная концентрация IgG к казеину встречалась у больных детей достоверно чаще, а уровень этой концентрации оказался намного выше, чем в контрольной группе. Повышенная проницаемость кишечной стенки зарегистрирована в 25,6% случаев среди пациентов с аутизмом и только в 2,3% случаев в группе контроля [25].

Помимо целиакии, описаны особые иммуноопосредованные лимфоцитарные формы поражения желудочно-кишечного тракта у детей с аутизмом, которые напоминают диффузную лимфоидную нодулярную интестинальную гиперплазию, характерную для изолированного дефицита IgA [94] и других гуморальных иммунодефицитов, или воспалительные заболевания кишечника при дефиците естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов [52]. Так, Russo A.J. с соавт. описали илеоцекальную лимфоидную нодулярную гиперплазию кишечника у детей с расстройствами аутистического спектра, напоминающую лимфоцитарную нодулярную гиперплазию кишечника у пациентов с первичными иммунодефицитами [100]. Вместе с тем, Torrente F. с соавт. (2002) охарактеризовали тонкокишечную энтеропатию с эпителиальными депозитами молекул комплемента и IgG у детей с регрессивным аутизмом [120]. В другом исследовании у пациентов с регрессивным аутизмом описана картина многоочагового лимфоцитарного иммуновоспалительного гастрита с накоплением CD8+ Т-лимфоцитов и гистологическими отличиями от гастрита, вызванного *H. pylori*, и поражением желудка при болезни Крона [2004]. Furlano R.I. с соавт. сообщили о типичном накоплении CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов и интраэпителиальных гамма/дельта Т-лимфоцитов в стенке толстой кишки у детей с аутистическими расстройствами, сочетающимися с кишечной дисфункцией [39].

Недавно завершилось контролируемое испытание, проведенное Mari-Bauset S. с соавт. (2016), в котором изучался эффект безглютеновой и безказеиновой диеты на развитие детей с расстройствами аутистического спектра. Продемонстрировано улучшение качества жизни, набора массы тела, микроэлементного и витаминного статуса у детей, пребывающих на специальной диете по сравнению с пациентами, которые получали обычную пищу без ограничения глютена и казеина [77]. Последний систематический обзор, посвященный анализу контролируемых испытаний в области ограничительной диеты при аутизме, рекомендует применять безглютеновую и безказеиновую диету только при лабораторно подтвержденной целиакии и аллергии на казеин с целью улучшения деятельности кишечника и оптимизации общего нутритивного статуса ребенка. Не продемонстрировано прямого эффекта диеты

на состояние психики у детей с аутизмом [78]. По-видимому, хорошо известные случаи уменьшения выраженности аутистических расстройств после назначения специальной диеты связаны с непрямими эффектами улучшения функции кишечника на общее развитие ребенка.

Более того, результаты ряда клинических испытаний указывают на пользу от применения иммунотерапии у некоторых пациентов с расстройствами аутистического спектра. Ранее сообщали об улучшении поведения во время использования в/в иммуноглобулина при расстройствах аутистического спектра у детей. Эффективность в/в иммуноглобулина связывают с нейтрализацией антимозговых аутоантител и подавлением опосредованной Т-клетками активации аутореактивных В-лимфоцитов. Кроме того, полезными при аутизме являются противовоспалительные свойства препарата, в том числе – способность подавлять гиперпродукцию провоспалительных цитокинов, хорошо продемонстрированные у детей с синдромом Кавасаки [19]. Важны также иммуномодулирующие и иммунозаместительные эффекты иммуноглобулина, особенно – при гуморальных иммунодефицитах, включая гипои иммуноглобулинемию, дефицит субклассов IgG и дефицит специфических антител [56, 67].

Plioplys A.V. (1998) провел небольшое неконтролируемое исследование с участием 10 детей (2 девочек и 8 мальчиков) в возрасте от 4 до 17 лет, страдающих расстройствами аутистического спектра. Пациенты получали низкодозовую терапию в/в иммуноглобулином в дозе 200-400 мг/кг каждые 6 недель четыре раза. Только у одного ребенка отмечался выраженный регресс аутистических проявлений после курса иммунотерапии. Еще у 4 пациентов имело место небольшое улучшение со стороны психических расстройств, однако 5 детей оказались резистентными к лечению [93]. DelGiudice-Asch G. с соавт изучили эффективность иммунотерапии в открытом пилотном исследовании с участием 5 детей с картиной аутистических расстройств. Препарат в/в иммуноглобулина назначали в дозе 400 мг/кг в месяц на протяжении полугода. Из 10 используемых шкал только шкала Ritvo-Freeman продемонстрировала положительную клиническую динамику [26]. Gupta S. изучил эффективность низкодозовой иммуноглобулинотерапии у 10 детей в возрасте 3-12 лет с расстройствами аутистического спектра в открытом пилотном исследовании. Препарат назначали в дозе 400 мг/кг каждые 4 недели на протяжении 6 месяцев подряд. Улучшение со стороны психических расстройств отмечалось почти во всех случаях, причем регистрировалось как исследователем, так и специалистами по поведенческому и речевым расстройствам, родителями и медсестрами, осуществляющими инфузии препарата. Дети раннего возраста лучше реагировали на им-

мунотерапию [54]. Niederhofer H. с соавт. провели небольшое двойное слепое плацебо контролируемое перекрестное исследование с участием 12 мальчиков в возрасте от 4,2 до 14,9 лет с расстройствами спектра аутизма. Пациенты получали низкодозовую терапию в/в иммуноглобулином однократно (400 мг/кг). Продемонстрировано улучшение по основным критериям шкалы ABC: раздражительности, гиперактивности, неадекватному главному контакту, несоответствующей речи [87]. Boris M. с соавт. (2006) провели ретроспективное исследование эффективности иммунотерапии у 27 детей с расстройствами аутистического спектра (21 мальчик и 6 девочек). Пациенты получали в/в иммуноглобулин в дозе 400 мг/кг каждые 4 недели на протяжении 6 месяцев подряд. Для контроля использовали шкалу ABC. Почти у всех участников отмечалось существенное улучшение по изучаемым показателям: гиперактивности, несоответствующей речи, возбудимости, вялости и стереотипии. Однако у 22 из 26 детей, ответивших на иммунотерапию, отмечался полный или частичный возврат симптомов аутизма через 2-4 месяца после завершения курса в/в иммуноглобулина [11].

Таким образом, низкодозовая иммуноглобулинотерапия дает непостоянный, умеренный и, по-видимому, недолговечный положительный клинический эффект при расстройствах спектра аутизма у детей.

Единственное исследование, в котором изучалась эффективность высокодозовой иммуноглобулинотерапии, показало более обнадеживающие результаты. 13 детей с расстройствами аутистического спектра в возрасте от 2,7 до 10,9 лет (10 мальчиков и 3 девочек) получали в/в иммуноглобулин в дозе 1,5-2,0 г/кг/мес. Отмечалось выраженное улучшение поведения, речи, функции социальной интерференции у всех участников, причем у двоих детей имело место полное устранение фенотипа аутизма. В отличие от низкодозового режима, не отмечалось утраты достижений после завершения курса иммунотерапии [14].

Ранее Plebani A. с соавт. продемонстрировали эффективность в/в иммуноглобулинотерапии при рефрактерной детской эпилепсии у пациентов с избирательным дефицитом субклассов IgG. Клинический эффект объяснили сочетанным иммунозаместительным и иммуномодулирующим воздействием препарата [91]. Позже Billiau An.D. с соавт. показали эффективность в/в иммуноглобулина при рефрактерной эпилепсии у детей без учета данных иммунного статуса, что указывает, по-видимому, на прямое противоэпилептическое воздействие иммунотерапии в таких случаях, в частности – за счет снижения ликворной концентрации провоспалительных цитокинов [8]. Ранее в двойном слепом плацебо контролируемом исследовании продемонстрировали клиническую эффективность высокодозовой иммуноглобулинотерапии при

PANDAS у детей, причем достигнутый результат соответствовал такому у плазмафереза [89]. Препарат орального иммуноглобулина показал эффективность при кишечном синдроме у детей с аутизмом в открытом проспективном пилотном исследовании [104], хотя дальнейшее плацебо контролируемое испытание не подтвердило полученного клинического эффекта [57].

Ранее Price C.S. с соавт. в специально спланированном исследовании продемонстрировали, что препараты нормального в/в иммуноглобулина безопасны и не способствуют развитию аутизма у детей [95]. В соответствии с этим, Sjoen L.A. с соавт. показали, что применение антирезусного иммуноглобулина для профилактики гемолитической болезни плода также не повышает риск развития аутистических расстройств [24]. Как указывают Wynn J.L. с соавт., использование высокодозовой иммуноглобулинотерапии не только не подавляет развитие иммунной системы ребенка, но и способствует созреванию незрелой иммунной системы у недоношенных детей [133].

Глюкокортикостероиды как иммуномодулирующие агенты продемонстрировали эффективность при расстройствах спектра аутизма у детей в нескольких контролируемых испытаниях и сообщениях о клинических случаях, особенно – при наличии афазии и эпилептического синдрома [22, 121]. Эффект стероидов связывают с противовоспалительным воздействием и способностью подавлять аутоиммунные реакции благодаря индукции иммуносупрессии. Применение глюкокортикоидов было лимитировано у некоторых детей развитием кушингоида и других побочных эффектов. Matarazzo E.B. сообщил о двух случаях успешного применения препарата адренокортикотропного гормона для подавления симптомов расстройств аутистического спектра у детей [82]. Эффективность препаратов адренокортикотропного гормона подтверждена в контролируемом клиническом испытании [18] и нескольких двойных слепых плацебо контролируемых исследованиях [17, 122]. Имеются единичные сообщения о пользе от применения этанерцепта и инфликсимаба [48]. Кроме того, среди лекарств с иммуносупрессивным механизмом действия в контролируемых испытаниях показана эффективность леналидомида [21] и антидиабетического препарата пиоглитазона [12] хотя этих данных не достаточно для рутинного применения данных лечебных стратегий.

Stubbs E.G. с соавт. доложили об эффективности трансфер-фактора в лечении аутизма у пациента с признаками врожденной цитомегаловирусной инфекции [114]. Fudenberg H.H. показал положительное воздействие трансфер фактора на психику у детей с аутизмом и расстройствами аутистического спектра в небольшом неконтролируемом испытании

с участием 40 пациентов [37]. Имеются также ограниченные данные о пользе от применения молозива детям с аутизмом [70]. Результаты контролируемого исследования Al-Farsi Y.M. с соавт. указывают на повышение риска аутизма при позднем прикладывании к груди и исключении молозива из курса грудного вскармливания ребенка [4].

Пентоксифиллин, как известно, способен подавлять продукцию провоспалительных цитокинов, в связи с чем может быть полезен при аутизме у детей. Результаты небольшого двойного слепого плацебо контролируемого исследования показывают клиническую эффективность добавления пентоксифиллина к рисперидону у детей с расстройствами аутистического спектра [3]. Ранее Gupta S. с соавт. (1996) сообщили о ряде случаев успешного применения пентоксифиллина при расстройствах аутистического спектра у детей [55]. Соли вальпроевой кислоты способны подавлять продукцию интерлейкина-1бета, с чем частично связывают клинический эффект этих антиконвульсантов при аутизме, продемонстрированный в ряде контролируемых клинических испытаний [62, 92].

Как известно, наиболее радикальным способом лечения первичных иммунодефицитов является трансплантация стволовых гемопоэтических клеток. Bradstreet J.J. с соавт. в открытом пилотном исследовании показали эффективность и безопасность пересадки фетальных гемопоэтических клеток у детей с расстройствами психики аутистического спектра. Достигнуто существенное улучшение баллов по шкалам АТЕС и АВС. Отмечался прогресс в навыках речи, социальных контактах, чувствительной сфере и состоянии общего здоровья [15]. Ранее Akaho R. с соавт. сообщили о нескольких успешных пересадках аллогенного костного мозга у детей с аутизмом [2].

Все эти весомые аргументы заставляют обратить пристальное внимание на роль иммунозависимых механизмов в патогенезе аутистических нарушений. Текущая доказательная база позволяет утверждать, что пациенты с расстройствами психики спектра аутизма являются иммуноскомпрометированными лицами, и именно иммунодефицитом можно исчерпывающе объяснить типичное развитие ряда взаимосвязанных иммунозависимых осложнений, влияющих на возникновение психических нарушений, их тяжесть и динамику развития, а также – общее состояние здоровья ребенка. Действительно, у детей с аутистическим спектром отмечаются признаки иммунодефицита и иммунной дисрегуляции при оценке иммунного статуса, регистрируются хронические и/или тяжелые формы оппортунистических и условнопатогенных инфекций, выявляются аномальные аутоантитела к мозговому антигену, имеет место гиперчувствительность к пищевым аллергенам, по-

вышенный риск канцерогенеза и неблагоприятный профиль переносимости некоторых вакцин, а также – продемонстрирована эффективность разных методов иммунотерапии и иммуномодуляции. Как известно, всеми этими атрибутами характеризуются именно иммунодефицитные болезни человека. Недаром Sperner-Unterweger В. в фундаментальном обзоре, посвященном аутистическому спектру у людей, настаивает на иммунологической этиологии заболевания [112]. Доказательства, накопленные в области нейроммунологии аутизма, должны способствовать инициации дальнейших клинических исследований по применению иммунотерапии при данной патологии. Однако уже по имеющимся доказательствам некоторые дети с тяжелым аутизмом и аутистическим спектром могут получать иммунотерапию при неэффективности иных рекомендуемых лечебных вмешательств.

Список литературы

1. Abdoli A., Dalimi A. Are There any Relationships between Latent *Toxoplasma gondii* Infection, Testosterone Elevation, and Risk of Autism Spectrum Disorder? // *Front. Behav. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 339.
2. Akaho R., Sasaki T., Yoshino M. et al. Bone marrow transplantation in subjects with mental disorders // *Psychiatry Clin. Neurosci.* – 2003. – Vol. 57(3). – P. 311–315.
3. Akhondzadeh S., Fallah J., Mohammadi M.R. et al. Double-blind placebo-controlled trial of pentoxifylline added to risperidone: effects on aberrant behavior in children with autism // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2010. – Vol. 34(1). – P. 32–36.
4. Al-Farsi Y.M., Al-Sharbati M.M., Waly M. et al. Effect of suboptimal breast-feeding on occurrence of autism: a case-control study // *Nutrition.* – 2012. – Vol. 28(7-8). – e27–32.
5. Atladóttir H.O., Thorsen P., Østergaard L. et al. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2010. – Vol. 40(12). – P. 1423–1430.
6. Baldaçara L., Diniz T., Parreira B. et al. Organic mental disorder after pneumococcal meningoenzephalitis with autism-like symptoms // *Rev. Bras. Psiquiatr.* – 2011. – Vol. 33(4). – P. 410–411.
7. Biamino E., Di Gregorio E., Belligni E.F. A novel 3q29 deletion associated with autism, intellectual disability, psychiatric disorders, and obesity // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr Genet.* – 2015 [Epub ahead of print].
8. Billiau An.D., Witters P., Ceulemans B. et al. Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure frequency, EEG activity and cerebrospinal fluid cytokine profile // *Epilepsia.* – 2007. – Vol. 48. – P. 1739–1749.
9. Binstock T. Anterior insular cortex: linking intestinal pathology and brain function in autism-spectrum subgroups // *Med. Hypotheses.* – 2001. – Vol. 57(6). – P. 714–717.

10. Binstock T. Intra-monocyte pathogens delineate autism subgroups // *Med. Hypotheses*. – 2001. – Vol. 56(4). – P. 523–531.
11. Boris M., Goldblatt A., Edelson S.M., Edelson PA-C. Improvement in children with autism treated with intravenous gamma globulin // *J. Nutr. Environ. Medicine*. – 2006. – Vol. 15 (4). – P. 1–8.
12. Boris M., Kaiser C.C., Goldblatt A. et al. Effect of pioglitazone treatment on behavioral symptoms in autistic children // *J. Neuroinflammation* – 2007. – Vol. 4. – P. 3.
13. Bortolato M., Godar S.C. Animal models of virus-induced neurobehavioral sequelae: recent advances, methodological issues, and future prospects // *Interdiscip. Perspect Infect Dis*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 380456.
14. Bradstreet J., Singh V.K., El-Dahr J. High dose intravenous immunoglobulin improves symptoms in children with autism // *The international symposium on autism*. – Dec. 28., 1999. – Athem, Netherlands.
15. Bradstreet J.J., Sych N., Antonucci N. et al. Efficacy of fetal stem cell transplantation in autism spectrum disorders: an open-labeled pilot study // *Cell. Transplant*. – 2014. – Vol. 23(1). – S105–112.
16. Brimberg L., Sadiq A., Gregersen P.K., Diamond B. Brain-reactive IgG correlates with autoimmunity in mothers of a child with an autism spectrum disorder // *Mol. Psychiatry*. – 2013. – Vol. 18(11). – P. 1171–1177.
17. Buitelaar J.K., Dekker M.E., van Ree J.M., van Engeland H. A controlled trial with ORG 2766, an ACTH-(4-9) analog, in 50 relatively able children with autism // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 1996. – Vol. 6(1). – P. 13–19.
18. Buitelaar J.K., van Engeland H., de Kogel K. et al. The adrenocorticotrophic hormone (4-9) analog ORG 2766 benefits autistic children: report on a second controlled clinical trial // *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*. – 1992. – Vol. 31(6). – P. 1149–1146.
19. Burns J.C., Franco A. The immunomodulatory effects of intravenous immunoglobulin therapy in Kawasaki disease // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 11(7). – P. 819–85.
20. Cabanlit M., Wills S., Goines P. et al. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 107. – P. 92–103.
21. Chez M. Effect of Lenalidomide on TNF-alpha elevation and behavior in autism. Presented at: International Meeting for Autism Research (IMFAR); May 20–22, 2010; Philadelphia, PA.
22. Chez M. Pulse high-dose steroids as combination therapy with valproic acid in epileptic aphasia patients with pervasive developmental delay or autism // *Ann. Neurol* – 1998. – Vol. 44. – P. 539.
23. Crawley J.N., Heyer W.D., LaSalle J.M. Autism and Cancer Share Risk Genes, Pathways, and Drug Targets // *Trends Genet.* – 2016. Jan 29. [Epub ahead of print].
24. Croen L.A., Matevia M., Yoshida C.K., Grether J.K. Maternal Rh D status, anti-D immune globulin exposure during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 99(3). – P. 234.

25. de Magistris L., Picardi A., Siniscalco D. et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 729349.
26. DelGiudice-Asch G., Simon L., Schmeidler J. Brief report: a pilot open clinical trial of intravenous immunoglobulin in childhood autism // *J. Autism Dev. Disord.* – 1999. – Vol. 29(2). – P. 157–160.
27. DeLong G.R., Bean S.C., Brown F.R. 3rd. Acquired reversible autistic syndrome in acute encephalopathic illness in children // *Arch. Neurol.* 1981. – Vol. 38(3). – P. 191–194.
28. Delorme R., Betancur C., Scheid I. Mutation screening of NOS1AP gene in a large sample of psychiatric patients and controls // *BMC Med. Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 108.
29. Dinan T.G., Cryan J.F. The impact of gut microbiota on brain and behaviour: implications for psychiatry // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2015. – Vol. 18(6). – P. 552–558.
30. Dinn J.J. Transolfactory spread of virus in herpes simplex encephalitis // *Br. Med. J.* – 1980. – Vol. 281(6252). – P. 1392.
31. Donati D., Akhyani N., Fogdell-Hahn A. et al. Detection of human herpesvirus-6 in mesial temporal lobe epilepsy surgical brain resections // *Neurology.* – 2003. – Vol. 61(10) – P. 1405–1411.
32. Engman M.L., Lewensohn-Fuchs I., Mosskin M., Malm G. Congenital cytomegalovirus infection: the impact of cerebral cortical malformations // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99(9). – P. 1344–1349.
33. Engman M.L., Sundin M., Miniscalco C. Prenatal acquired cytomegalovirus infection should be considered in children with autism // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol. 104(8). – P. 792–795.
34. Fang S.Y., Wang S., Huang N. et al. Prenatal Infection and Autism Spectrum Disorders in Childhood: A Population-Based Case-Control Study in Taiwan // *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* – 2015. – Vol. 29(4). – P. 307–316.
35. Frye R.E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder // *Epilepsy Behav.* – 2015. – Vol. 47. – P. 147–157.
36. Frve R.E., Sequeira J.M., Oquadros E.V. et al. Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder // *Mol. Psychiatry.* – 2013. – Vol. 18(3). – P. 369–381.
37. Fudenberg H.H. Dialysable lymphocyte extract (DLyE) in infantile onset autism: a pilot study // *Biotherapy.* – 1996. – Vol. 9(1-3). – P. 143–147.
38. Fujinami R.S. Molecular mimicry that primes for autoimmunity which is triggered by infection // *Mol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 7(2). – P. S32–33.
39. Furlano R.I., Anthony A., Day R. et al. Colonic CD8 and gamma delta T-cell infiltration with epithelial damage in children with autism // *J. Pediatr.* – 2001. – Vol. 138(3). – P. 366–372.
40. Gazit Y., Mory A., Etzioni A. et al. Leukocyte adhesion deficiency type II: long-term follow-up and review of the literature // *J. Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 30(2). – P. 308–313.

41. Gentile I., Zappulo E., Bonavolta R. Exposure to Varicella Zoster Virus is higher in children with autism spectrum disorder than in healthy controls. Results from a case-control study // *In Vivo*. – 2014. – Vol. 28(4). – P. 627–631.
42. Gesundheit B., Rosenzweig J.P., Naor D. et al. Immunological and autoimmune considerations of Autism Spectrum Disorders // *J. Autoimmun.* – 2013. – Vol. 44. – P. 1–7.
43. Ghaziuddin M., Tsai L.Y., Eilers L., Ghaziuddin N. Brief report: autism and herpes simplex encephalitis // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1992. – Vol. 22(1). – P. 107–113.
44. Ghaziuddin M., Al-Khouri I., Ghaziuddin N. Autistic symptoms following herpes encephalitis // *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 11(3). – P. 142–146.
45. Gillberg C. Onset at age 14 of a typical autistic syndrome. A case report of a girl with herpes simplex encephalitis // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1986. – Vol. 16(3). – P. 369–375.
46. Gillberg I.C. Autistic syndrome with onset at age 31 years: herpes encephalitis as a possible model for childhood autism // *Dev. Med. Child. Neurol.* – 1991. – Vol. 33(10). – P. 920–924.
47. Gonzalez-Gronow M., Cuchacovich M., Francos R. et al. Catalytic autoantibodies against myelin basic protein (MBP) isolated from serum of autistic children impair in vitro models of synaptic plasticity in rat hippocampus // *J. Neuroimmunol.* – 2015. – Vol. 287. – P. 1–8.
48. González-Toro M.C., Jadraque-Rodríguez R., Sempere-Pérez Á. et al. Anti-NMDA receptor encephalitis: two paediatric cases // *Rev. Neurol.* – 2013. – Vol. 57(11). – P. 504–508.
49. Greer M.K., Lyons-Crews M., Mauldin L.B., Brown F.R. 3rd. A case study of the cognitive and behavioral deficits of temporal lobe damage in herpes simplex encephalitis // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1989. – Vol. 19(2). – P. 317–326.
50. Grether J.K., Croen L.A., Anderson M.C. et al. Neonatally measured immunoglobulins and risk of autism // *Autism. Res.* – 2010. – Vol. 3(6). – P. 323–332.
51. Grimbacher B., Dutra A.S., Holland S.M. et al. Analphoid marker chromosome in a patient with hyper-IgE syndrome, autism, and mild mental retardation // *Genet. Med.* – 1999. – Vol. 1(5). – P. 213–218.
52. Grose R.H., Thompson F.M., Baxter A.G. et al. Deficiency of invariant NK T cells in Crohn's disease and ulcerative colitis // *Dig. Dis. Sci.* – 2007. – Vol. 52(6). – P. 1415–1422.
53. Grose R.H., Thompson F.M., Cummins A.G. Deficiency of 6B11+ invariant NK T-cells in celiac disease // *Dig. Dis. Sci.* – 2008. – Vol. 53(7). – P. 1846–1851.
54. Gupta S. Treatment of children with autism with intravenous immunoglobulin // *J. Child. Neurol.* – 1999. – Vol. 14(3). – P. 203–205.
55. Gupta S., Rimland B., Shilling P.D. et al. Pentoxifylline: brief review and rationale for its possible use in the treatment of autism // *J. Child. Neurol.* – 1996. – Vol. 11(6). – P. 501–504.

56. Gupta S., Samra D., Agrawal S. Adaptive and Innate Immune Responses in Autism: Rationale for Therapeutic Use of Intravenous Immunoglobulin // *J. Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 30(1). – S. 90–96.
57. Handen B.L., Melmed R.D., Hansen R.L. et al. A double-blind, placebo-controlled trial of oral human immunoglobulin for gastrointestinal dysfunction in children with autistic disorder // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2009. – Vol. 39(5). – P. 796–805.
58. Handen B.L., Sahl R., Hardan A.Y. Guanfacine in children with autism and/or intellectual disabilities // *J. Dev. Behav. Pediatr.* – 2008. – Vol. 29(4). – P. 303–308.
59. Harberts E., Yao K., Wohler J.E. et al. Human herpesvirus-6 entry into the central nervous system through the olfactory pathway // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2011. – Vol. 108(33). – P. 13734–13739.
60. Heuer L., Ashwood P., Schauer J. et al. Reduced Levels of Immunoglobulin in Children With Autism Correlates With Behavioral Symptoms // *Autism. Res.* – 2008. – Vol. 1(5). – P. 275–283.
61. Hiroshi H., Seiji K., Toshihiro K., Nobuo K. An adult case suspected of recurrent measles encephalitis with psychiatric symptoms // *Seishin Shinkeigaku Zasshi.* – 2003. – Vol. 105(10). – P. 1239–1246.
62. Hollander E., Chaplin W., Soorya L. et al. Divalproex sodium vs placebo for the treatment of irritability in children and adolescents with autism spectrum disorders // *Neuropsychopharmacol.* – 2010. – Vol. 35. – P. 990–998.
63. Hwang S.J., Chen Y.S. Congenital rubella syndrome with autistic disorder // *J. Chin. Med. Assoc.* – 2010. – Vol. 73(2). – P. 104–107.
64. Ivarsson S.A., Bjerre I., Vegfors P., Ahlfors K. Autism as one of several disabilities in two children with congenital cytomegalovirus infection // *Neuropediatrics.* – 1990. – Vol. 21(2). – P. 102–103.
65. Jefferson T., Price D., Demicheli V. et al. Unintended events following immunization with MMR: a systematic review // *Vaccine.* – 2003. – Vol. 21(25-26). – P. 3954–3960.
66. Johnson W.G., Buyske S., Mars A.E. et al. HLA-DR4 as a risk allele for autism acting in mothers of probands possibly during pregnancy // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – 2009. – Vol. 163(6). – P. 542–546.
67. Jyonouchi H., Geng L., Streck D.L., Toruner G.A. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study // *J. Neuroinflammation.* – 2012. – Vol. 9. – P. 4.
68. Kawatani M., Nakai A., Okuno T. et al. Detection of cytomegalovirus in preserved umbilical cord from a boy with autistic disorder // *Pediatr. Int.* – 2010. – Vol. 52(2). – P. 304–307.
69. Kiani R., Lawden M., Eames P. et al. Anti-NMDA-receptor encephalitis presenting with catatonia and neuroleptic malignant syndrome in patients with intellectual disability and autism // *BJPsych. Bull.* – 2015. – Vol. 39(1). – P. 32-35.
70. Kidd P.M. Autism, an extreme challenge to integrative medicine. Part 2: medical management // *Altern. Med. Rev.* – 2002. – Vol. 7(6). – P. 472–499.

71. Lau N.M., Green P.H., Taylor A.K. et al. Markers of Celiac Disease and Gluten Sensitivity in Children with Autism // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8(6). – e66155.

72. Liao P., Soong T.W. CaV1.2 channelopathies: from arrhythmias to autism, bipolar disorder, and immunodeficiency // *Pflugers Arch*. – 2010. – Vol. 460(2). – P. 353–359.

73. Lintas C., Altieri L., Lombardi F. et al. Association of autism with polyomavirus infection in postmortem brains // *J. Neurovirol*. – 2010. – Vol. 16(2). – P. 141–149.

74. Lupo J., Morel-Baccard C., Michard-Lenoir A.P. et al. Fatal case of acute gastroenteritis with multiple viral coinfections // *J. Clin. Virol*. – 2016. – Vol. 74. – P. 54–56.

75. Malone R.P., Harvey J.A. Abnormal movements with the addition of clindamycin to risperidone in a girl with autism // *J Child. Adolesc. Psychopharmacol*. – 2008. – Vol. 18(2). – P. 221–222.

76. Mankoski R.E., Collins M., Ndosi N.K. et al. Etiologies of autism in a case-series from Tanzania // *J. Autism. Dev. Disord*. – 2006. – Vol. 36(8). – P. 1039–1051.

77. Mari-Bauset S., Llopis-González A., Zazpe I. et al. Nutritional Impact of a Gluten-Free Casein-Free Diet in Children with Autism Spectrum Disorder // *J. Autism. Dev. Disord*. – 2016. – Vol. 46(2). – P. 673–684.

78. Mari-Bauset S., Zazpe I., Mari-Sanchis A. et al. Evidence of the gluten-free and casein-free diet in autism spectrum disorders: a systematic review // *J. Child. Neurol*. – 2014. – Vol. 29(12). – P. 1718–1727.

79. Markowitz P.I. Autism in a child with congenital cytomegalovirus infection // *J. Autism. Dev. Disord*. – 1983. – Vol. 13(3). – P. 249–253.

80. Marques F., Brito M.J., Conde M. Autism spectrum disorder secondary to enterovirus encephalitis // *J. Child Neurol*. – 2014. – Vol. 29(5). – P. 708–714.

81. Masi A., Quintana D.S., Glozier N. et al. Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis // *Mol. Psychiatry*. – 2015. – Vol. 20(4). – P. 440–446.

82. Matarazzo E.B. Treatment of late onset autism as a consequence of probable autoimmune processes related to chronic bacterial infection // *World J. Biol. Psychiatry*. – 2002. – Vol. 3(3). – P. 162–166.

83. Monge-Galindo L., Pérez-Delgado R., López-Pisón J. Mesial temporal sclerosis in paediatrics: its clinical spectrum. Our experience gained over a 19-year period // *Rev. Neurol*. – 2010. – Vol. 50(6). – P. 341–348.

84. Mora M., Quintero L., Cardenas R. Association between HSV-2 infection and serum anti-rat brain antibodies in patients with autism // *Invest. Clin*. – 2009. – Vol. 50(3). – P. 315–326.

85. Mostafa G.A., Al-Ayadhi L.Y. Increased serum levels of anti-ganglioside M1 auto-antibodies in autistic children: relation to the disease severity // *J. Neuroinflammation*. – 2011. – Vol. 25 – P. 8–39.

86. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for *Mycoplasma* spp., *Chlamydia pneumoniae*, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of

patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res.* – 2007. – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.

87. Niederhofer H., Staffen W., Mair A. Immunoglobulins as an alternative strategy of psychopharmacological treatment of children with autistic disorder // *Neuropsychopharmacology.* – 2003. – Vol. 28(5). – P. 1014–1015.

88. Pallav K., Xu H., Leffler D.A. et al. Immunoglobulin A deficiency in celiac disease in the United States // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2016. – Vol. 31(1). – P. 133–137

89. Perlmutter S.J., Leitman S.F., Garvey M.A. et al. Therapeutic plasma exchange and intravenous immunoglobulin for obsessive-compulsive disorder and tic disorders in childhood // *Lancet.* – 1999. – Vol. 354(9185). – P. 1153–1158.

90. Pinillos-Pisón R., Llorente-Cereza M.T., López-Pisón J. Congenital infection by cytomegalovirus. A review of our 18 years' experience of diagnoses // *Rev. Neurol.* – 2009. – Vol. 48(7). – P. 349–353.

91. Plebani A., Duse M., Tiberti S. Intravenous gamma-globulin therapy and serum IgG subclass levels in intractable childhood epilepsy // *Monogr. Allergy.* – 1988. – Vol. 23. – P. 204–215.

92. Plioplys A. Autism: electroencephalogram abnormalities and clinical improvement with valproic acid // *Arch. Pediat. Adol. Med.* – 1994. – Vol. 148. – P. 220–222.

93. Plioplys A.V. Intravenous immunoglobulin treatment of children with autism // *J. Child. Neurol.* – 1998. – Vol. 13(2). – P. 79–82.

94. Postgate A., Despott E., Talbot I. et al. An unusual cause of diarrhea: diffuse intestinal nodular lymphoid hyperplasia in association with selective immunoglobulin A deficiency // *Gastrointest. Endosc.* – 2009. – Vol. 70(1). – P. 168–169.

95. Price C.S., Thompson W.W., Goodson B. Prenatal and infant exposure to thimerosal from vaccines and immunoglobulins and risk of autism // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126(4). – P. 656–664.

96. Puangpetch A., Suwannarat P., Chamnanphol M. et al. Significant Association of HLA-B Alleles and Genotypes in Thai Children with Autism Spectrum Disorders: A Case-Control Study // *Dis. Markers.* 2015. – Vol. 2015. – P. 724935.

97. Reinert P., Moulias R., Goust J.M. Demonstration of cellular immunity deficiency limited to measles virus in 20 cases of subacute sclerosing leukoencephalitis // *Arch. Fr. Pediatr.* – 1972. – Vol. 29(6). – P. 655–665.

98. Rosenspire A., Yoo W., Menard S., Torres A.R. Autism spectrum disorders are associated with an elevated autoantibody response to tissue transglutaminase-2 // *Autism. Res.* – 2011. – Vol. 4(4). – P. 242–249.

99. Rout U.K., Mungan N.K., Dhossche D.M. Presence of GAD65 autoantibodies in the serum of children with autism or ADHD // *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 21(3). – P. 141–147.

100. Russo A.J., Krigsman A., Jepson B., Wakefield A. Low serum myeloperoxidase in autistic children with gastrointestinal disease // *Clinical and Experimental Gastroenterology.* – 2009. – Vol. 2. – P. 85–94.

101. Sakamoto A., Moriuchi H., Matsuzaki J. et al. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in children with autism spectrum

disorder but no other major neurologic deficit // *Brain. Dev.* – 2015. – Vol. 37(2). – P. 200–205.

102. Salehi Sadaghiani M., Aghamohammadi A., Ashrafi M.R. et al. Autism in a child with common variable immunodeficiency // *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* – 2013. – Vol. 12(3). – P. 287–289.

103. Santaella M.L., Varela Y., Linares N., Disdier O.M. Prevalence of autism spectrum disorders in relatives of patients with selective immunoglobulin A deficiency // *P. R. Health. Sci J.* – 2008. – Vol. 27(3). – P. 204–208.

104. Schneider C.K., Melmed R.D., Barstow L.E. et al. Oral human immunoglobulin for children with autism and gastrointestinal dysfunction: a prospective, open-label study // *J. Autism. Dev. Disord.* 2006. – Vol. 36(8). – P. 1053–1064.

105. Schneider C.K., Papaluca M., Kurki P. A European perspective on immunogenicity evaluation // *Nat. Biotechnol.* – 2009. – Vol. 27(6). – P. 507–508.

106. Scott O., Richer L., Forbes K. et al. Anti-N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor encephalitis: an unusual cause of autistic regression in a toddler // *J. Child. Neurol.* – 2014. – Vol. 29(5). – P. 691–694.

107. Shin S., Yu N., Choi J.R. et al. Routine chromosomal microarray analysis is necessary in Korean patients with unexplained developmental delay/mental retardation/autism spectrum disorder // *Ann. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 35(5). – P. 510–518.

108. Singh V.K., Lin S.X., Newell E., Nelson C. Abnormal measles-mumps-rubella antibodies and CNS autoimmunity in children with autism // *J. Biomed. Sci.* – 2002. – Vol. 9(4). P. 359–364.

109. Singh V.K., Warren R.P., Odell J.D. et al. Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior // *Brain. Behav. Immun.* – 1993 – Vol. 7(1). – P. 97–103.

110. Singh V.K., Lin S.X., Yang V.C. Serological association of measles virus and human herpesvirus-6 with brain autoantibodies in autism // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1998. – Vol. 89(1). – P. 105–108.

111. Smith S.E., Li J., Garbett K, et al. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6 // *J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 27. – P. 10695–10702.

112. Sperner-Unterweger B. Immunological aetiology of major psychiatric disorders: evidence and therapeutic implications // *Drugs.* – 2005. – Vol. 65(11). – P. 1493–1520.

113. Stubbs E.G., Ash E., Williams C.P. Autism and congenital cytomegalovirus // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1984. – Vol. 14(2). – P. 183–189.

114. Stubbs E.G., Budden S.S., Burger D.R. et al. Transfer factor immunotherapy of an autistic child with congenital cytomegalovirus // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1980. – Vol. 10(4). – P. 451–458.

115. Stubbs E.G., Crawford M.L., Burger D.L. et al. Depressed lymphocyte responsiveness in autistic children // *J. Autism. Child. Schizophr.* – 1977. – Vol. 7. – P. 49–55.

116. Sweeten T.L., Posey D.J., McDougle C.J. Brief report: autistic disorder in three children with cytomegalovirus infection // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2004. – Vol. 34(5). – P. 583–586.

117. Todd R.D., Ciaranello R.D. Demonstration of inter- and intraspecies differences in serotonin binding sites by antibodies from an autistic child // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1985. – Vol. 82(2). – P. 612–616.

118. Topuriria T.Iu., Barnabashvili N.O., Chubinishvili O.V. et al. The role of parvovirus in the etiology of somatic pathology // *Georgian. Med. News.* – 2013. – Vol.223. – P. 56–60.

119. Torrente F., Anthony A., Heuschkel R.B. et al. Focal-enhanced gastritis in regressive autism with features distinct from Crohn's and *Helicobacter pylori* gastritis // *Am. J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 99(4). – P. 598–605.

120. Torrente F., Ashwood P., Day R. et al. Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism // *Mol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 7(4). – P. 375–382.

121. Trauner D. Developmental aphasia with epileptiform abnormalities on EEG: clinical features and response to Prednisone // *Ann. Neurol.* – 2002. – Vol. 52. – P. 66–67.

122. Verbaten M.N., Kemner C., Buitelaar J.K. et al. Effects of ORG-2766 on brain event-related potentials of autistic children // *Psychiatry Res.* – 1996. – Vol. 63(1). – P. 33–45.

123. Vinck A., Verhagen M.M., Gerven Mv. Cognitive and speech-language performance in children with ataxia telangiectasia // *Dev. Neurorehabil.* – 2011. – Vol. 14(5). – P. 315–322.

124. Vojdani A., Campbell A.W., Anyanwu E. et al. Antibodies to neuron-specific antigens in children with autism: possible cross-reaction with encephalitogenic proteins from milk, *Chlamydia pneumoniae* and *Streptococcus* group A // *J. Neuroimmunol.* – 2002. Vol. 129(1-2). – P. 168–77.

125. Warren R.P., Burger R.A., Odell D. et al. Decreased plasma concentrations of the C4B complement protein in autism // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – 1994. – Vol. 148(2). – P. 180–183.

126. Warren R.P., Margaretten N.C., Foster A. Reduced natural killer cell activity in autism // *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychol.* – 1987. – Vol. 26. – P. 333–335.

127. Warren R.P., Margaretten N.C., Pace N.C. et al. Immune abnormalities in patients with autism // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1986. – Vol. 16. – P. 189–197.

128. Warren R.P., Odell J.D., Warren W.L. et al. Brief report: immunoglobulin A deficiency in a subset of autistic subjects // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1997. – Vol. 27(2). – P. 187–192.

129. Warren R.P., Yonk L.J., Burger R.A. et al. Deficiency of suppressor inducer T cells in autism // *Immunol. Invest.* – 1990. Vol. 19. – P. 245–251.

130. Wasilewska J., Kaczmarski M., Stasiak-Barmuta A. et al. Low serum IgA and increased expression of CD23 on B lymphocytes in peripheral blood in children with regressive autism aged 3-6 years old // *Arch. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 8(2). – P. 324–331.

131. Weizman A., Weizman R., Szekely G.A. et al: Abnormal immune response to brain tissue antigen in the syndrome of autism // *Am. J. Psych.* – 1982. – Vol. 139. – P. 1462–1465.

132. Whiteley P. Developmental, behavioural and somatic factors in pervasive developmental disorders: preliminary analysis // *Child Care Health Dev.* – 2004. – Vol. 30(1). – P. 5–11.

133. Wynn J.L., Seed P.C., Cotten C.M. Does IVIg administration yield improved immune function in very premature neonates? // *J. Perinatol.* – 2010. – Vol. 30(10). – P. 635–642.

134. Yamashita Y., Fujimoto C., Nakajima E. et al. Possible association between congenital cytomegalovirus infection and autistic disorder // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2003. – Vol. 33(4). – P. 455–459.

135. Yonk L.J., Warren R.P., Burger R.A. et al. CD4+ helper T cell depression in autism // *Immunol. Lett.* – 1990. – Vol. 25. – P. 341–345.

136. Zerbo O., Iosif A.M., Walker C. et al. Is maternal influenza or fever during pregnancy associated with autism or developmental delays? Results from the CHARGE (CHildhood Autism Risks from Genetics and Environment) study // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2013. – Vol. 43(1). – P. 25–33.

РЕЗЮМЕ

Імунологічні аспекти патогенезу розладів спектра аутизму у дітей

Даний огляд присвячений аналізу доказів участі імунної системи в патогенезі розладів спектра аутизму у дітей. На сьогоднішній день продемонстрований зв'язок аутизму з локусами гістосумісності, первинними імунodefіцитами, ознаками імунної дизрегуляції, опортуністичними та умовно патогенними інфекціями, автоантитілами до мозкових антигенів, гіперчутливістю до харчових алергенів, канцерогенезом і поганим профілем переносимості вакцин. Встановлено ефективність деяких імунотерапевтичних та імуномодуючих підходів, включаючи елімінаційну дієту, в/в імуноглобулін, препарати глюкокортикостероїдів і адренкортикотропного гормону, леналідомід, піоглітазон, трансферфактор, пентоксифілін, трансплантацію стовбурових гемопоетичних клітин.

Ключові слова: розлади спектра аутизму, імунodefіцит, автоімунітет, імунотерапія.

ABSTRACT

Immunologic aspects of pathogenesis of autism spectrum disorders in children

This review analyzes the evidence of immune system involvement in the pathogenesis of autism spectrum disorders in children. To date, demonstrated

link autism with MHC loci, primary immune deficiencies, signs of immune dysregulation, opportunistic and streptococcal infections, autoantibodies to brain antigens, hypersensitivity to food allergens, carcinogenesis and poor tolerability profile of the vaccines. There was evaluated the effectiveness of some immunomodulatory and immunotherapeutic approaches, including the elimination diet, i/v immunoglobulin, glucocorticosteroids and adrenocorticotrophic hormone, lenalidomide, pioglitazone, transfer factor, pentoxifylline, transplantation of hematopoietic stem cells.

Keywords: autism spectrum disorder, immunodeficiency, autoimmunity, immunotherapy.

Расширенный клинико-лабораторный фенотип при генетически детерминированном нарушении фолатного цикла у детей с расстройствами спектра аутизма

Расстройства психики аутистического спектра встречаются в 1% случаев среди детей современной человеческой популяции. Эта тяжелая инвалидизирующая патология является актуальной проблемой психиатрии, которая до сих пор не нашла своего решения. В последние десятилетия утвердились представления о генетической гетерогенности синдрома расстройств психики аутистического спектра у людей. Frye R.E. в недавнем фундаментальном обзоре, посвященном этой проблеме, рассматривает генетические нарушения ферментов фолатного цикла и митохондриальную патологию как основу расстройств аутистического спектра у детей [16]. Помимо этого, мутации гена синтазы оксида азота позиционируются как причина аутистических расстройств в некоторых семьях [11]. Тем не менее, все чаще описывают раритетные причины расстройств аутистического спектра. Так, Biamino E. с соавт. сообщили недавно о новой 3q29 делеции, ассоциированной с аутизмом, интеллектуальным снижением, другими психическими расстройствами и ожирением [5].

Полиморфизмы ферментов фолатного цикла рассматриваются как весомая причина генетической предрасположенности к развитию аутистического нарушения психики [41]. Помимо этого, полиморфизмы генов ферментов цикла фолиевой кислоты сегодня связывают с такими осложнениями: гипергомоцистеинемией, сердечно-сосудистыми катастрофами [7] и деменцией в третьей части жизни [28, 36], пороками развития плода, прежде всего – нервной системы [31, 48], и патологией беременности, в том числе – множественными эпизодами спонтанных абортов [57], высоким риском развития некоторых опухолей, в том числе – рака толстой и прямой кишки [20, 40], гепатоцеллюлярной карциномы [42], рака молочной железы [58], шейки матки [2] и яичников [58], а также более тяжелым течением другой генетической патологии, включая синдром Дауна [52], в связи с нарушением метилирования ДНК. Связь дефицита ферментов фолатного цикла с аутизмом не достаточно хорошо обоснована, причем наличие самих полиморфизмов генов, равно как и гипергомоцистеинемия, – недостаточное условие для развития психических расстройств у ребенка. Исчерпывающее объяс-

нение психиатрического феномена исключительно метаболическим синдромом, обусловленной генетически детерминированной дисфункцией ряда ферментов цикла фолиевой кислоты, на сегодняшний день не представляется возможным. Накопленные доказательства позволяют усмотреть недостающее звено патогенеза расстройств аутистического спектра, ассоциированных с первичным фолатным дефицитом, в иммунозависимой патологии. Так, продемонстрирована связь таких расстройств с некоторыми локусами гистосовместимости, подобно ряду аутоиммунных и аллергических синдромов. У таких детей описаны различные формы первичных иммунодефицитов, а исследования, посвященные некоторым первичным иммунным дисфункциям, указывают на повышенный риск развития аутизма [44, 45]. Имеются неединичные сообщения о появлении аутизма у взрослых и детей после перенесенных эпизодов нейроинфекций, преимущественно – оппортунистического спектра [14, 18]. Более того, результаты ряда клинических испытаний указывают на пользу от применения иммунотерапии у пациентов с расстройствами аутистического спектра [10]. Все эти весомые аргументы заставляют обратить более пристальное внимание на роль иммунозависимых механизмов в патогенезе указанных психических нарушений.

Как известно, цикл фолиевой кислоты реализуется благодаря деятельности трех ключевых ферментов: метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) и метионинсинтазы (MTR). Этот цикл функционирует в неразрывной связи с циклом метионина, в результате которого синтезируется продукт, получивший название гомоцистеин. Показано, что этот метаболит оказывает токсическое воздействие на эндотелий сосудов, вызывая состояние эндотелиальной дисфункции, и нейроны ЦНС, индуцируя синаптический дисбаланс и гибель клеток.

При полиморфизмах в генах ферментов фолатного цикла создаются условия для аномально повышенной выработки гомоцистеина – феномена, получившего название гипергомоцистеинемии, с которым сегодня связывают прогрессирование кардиоваскулярной патологии в третьей части жизни и нарушение развития нервной системы во время внутриутробного периода онтогенеза. На данный момент описаны два полиморфизма в гене MTHFR, связанные с заменой цитозина на тимин в кодоне 677 (677 C>T) и аденина на цитозин в кодоне 1298 (1298 A>C). В генах MTRR и MTR известны полиморфизмы, обусловленные заменой аденина на гуанозин (A>G). Указанные полиморфизмы бывают в гетеро- и гомозиготном состоянии. Гетерозиготные полиморфизмы обозначаются MTHFR 677 C/T, MTHFR 1298 A/C, MTRR 66 A/G и

MTR 2756 A/G, а гомозиготные - MTHFR 677 T/T, MTHFR 1298 C/C, MTRR 66 G/G и MTR 2756 G/G. У одного человека может обнаружиться от 1 до 4 полиморфизмов в генах фолатного цикла в различном состоянии. Метаболические нарушения усугубляются по мере накопления генетических поломок. В среднем каждый из полиморфизмов в генах ферментов фолатного цикла содержится в геноме, по крайней мере, 30% представителей современной человеческой популяции.

Цель исследования: оценить расширенный клинико-лабораторный фенотип при расстройствах аутистического спектра, ассоциированных с генетически детерминированным дефицитом фолатного цикла.

Материалы и методы. В проспективном контролируемом одноцентровом исследовании принимали участие 78 детей с диагнозом расстройств психики аутистического спектра и/или детского церебрального паралича. Набор детей в исследуемую группу производился в период между 2010 и 2015 годами включительно. Это были пациенты из различных регионов Украины в возрасте от 2 до 10 лет, 47 мальчиков и 31 девочка. Выявление мутаций/полиморфизмов генов фолатного цикла (MTHFR 677 C>T и 1298 A>C; MTRR 66 A>G; MTR 2756 A>G) осуществляли методом полимеразной цепной реакции в трех центрах: Neurological Research Institute (USA), Харьковском специализированном медико-генетическом центре и коммерческой лаборатории. Контрольную группу составили 34 здоровых ребенка с похожим возрастным и гендерным распределением.

Всем пациентам проводилось комплексное иммунологическое обследование в Институте иммунологии и аллергологии НМУ имени А.А. Богомольца, которое помимо общего анализа крови, включало изучение субпопуляционного состава лимфоцитов с использованием лазерной проточной цитофлуориметрии (цитофлуориметр Erics XI, США) и метода непрямой иммунофлуоресценции с моноклональными антителами к CD-маркерам с двумя или тремя метками (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+) (реактивы Beckman Coulter, США). Фагоцитоз оценивали по данным латекс-теста с определением показателя фагоцитоза, фагоцитарного индекса, количества активных фагоцитов и фагоцитарной ёмкости крови, а также по активности ферментов миелопероксидазы (цитофлуориметрия) и НАДФ-оксидазы (НСТ-тест). Сывороточные концентрации иммуноглобулинов основных классов (M, G, A) устанавливали по результатам простой радиальной иммунодиффузии по Манчини. Концентрацию классов IgE, IgD и субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сыворотке крови измеряли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ВекторБЕСТ, РФ). Помимо этого, производи-

лась диагностика реактивированной вирусной инфекции по результатам количественной ПЦР сыворотки крови с видоспецифическими праймерами герпесвирусов (вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, вируса варицелла-зостер, Эпштейна-Барр вируса, цитомегаловируса, вирусов герпеса 6 и 7 типов), вирусов кори и краснухи. Также осуществлялись серологические тесты путем проведения твердофазного иммуноферментного анализа для идентификации вирус-специфических IgM и IgG в сыворотке крови. Оценивали также сывороточные концентрации известных биомаркеров генетического дефицита фолатного цикла – гомоцистеина, фолиевой кислоты, витаминов B12 и B6. Все дети проходили МРТ головного мозга в конвенционных режимах (T1- и T2-взвешенный, FLAIR) на томографах с величиной магнитной индукции не менее 1,5 Тл.

Статистический анализ полученной информации обработан методами структурного и сравнительного анализов при помощи электронной программы Microsoft Excel. С целью установления достоверности отличий результатов применяли T-критерий Стьюдента с расчетом коэффициента доверительной вероятности p (параметрический критерий) и число знаков Z по Урбаху (непараметрический критерий). Для изучения связи между полиморфизмами генов фолатного цикла и показателями иммунного статуса использовали критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона, сравнивая полученное значение с табличным при заданном числе степеней свободы и уровнях достоверности $p=0,05$ и $p=0,01$. При фактических значениях от 5 до 9 применяли дополнительно поправку Йейтса, а при менее 5 – точный тест Фишера. Расчетная формула приведена ниже:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^i \sum_{j=1}^r \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Данное исследование является частью гранта Министерства здравоохранения Украины на проведение научно исследовательской работы «Усовершенствование диагностики иммунодефицитных заболеваний человека на основе регистрации поверхностного плазмонного резонанса и разработка современных методов лечения» (№ госрегистрации 0113U000709).

Результаты исследования и их обсуждение.

Генетические исследования. Результаты анализа генетических тестов указывают, что у преимущественного большинства детей исследуемой группы отмечалось 2-4 полиморфизма в генах ферментов фолатного цикла (88% случаев), а соотношение гомо- и гетерозиготных форм можно представить как 1,2 к 1,0. Лишь в 12% случаев – имела место

один полиморфизм, причем преимущественно – наиболее тяжелый MTHFR 677 C>T в гомозиготном состоянии (рис. 1). У таких детей обычно имела место комбинация с другими генетическими нарушениями, которые влияют на психическое развитие ребенка, а именно – с синдромами Лея (1 случай), Ретта (1 случай) и Дауна (1 случай), а также – наследственным гемохроматозом (1 случай) и мутациями гена синтазы оксида азота (2 случая). Преобладали замены нуклеотидов в гене MTHFR (56% случаев), причем преимущественно – наиболее прогностически неблагоприятный вариант 677 C>T, однако тесной ассоциации с каким либо другим генетическим нарушением не отмечалось. Наиболее часто среди детей исследуемой группы отмечалось сразу 2 или 3 полиморфизма генов цикла фолиевой кислоты – соответственно в 36% и 39% случаев. Сразу четыре замены нуклеотидов имело место менее, чем в 15% случаев. В целом, отмечалась прямая положительная связь между тяжестью генетических, лабораторных и клинических проявлений, однако, по крайней мере, в трети случаев, имели место несоответствия, что указывало на влияние дополнительных вмешивающихся факторов.

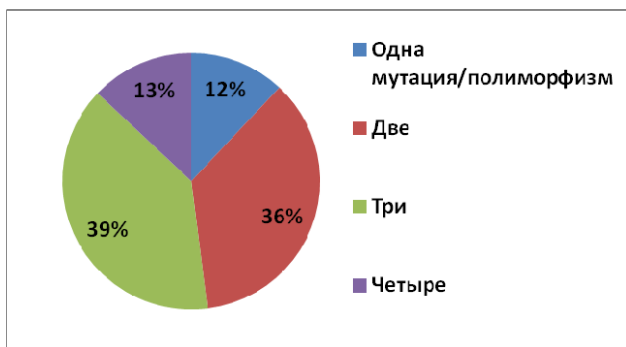


Рис. 1. Структура исследуемой группы (n=78) по количеству полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла

Анализ биомаркеров. Ранее Schoendorfer N.C. с соавт. в контролируемом клиническом испытании продемонстрировали нарушения процессов метилирования у детей с картиной тяжелого детского церебрального паралича, выявив достоверное повышение сывороточной концентрации гомоцистеина и метилмалоновой кислоты и снижение содержания уратов по сравнению со здоровыми детьми [47]. Анализ результатов изучения биомаркеров в исследуемой группе показал феномен гипергомо-

цистеинемии в 88% случаев ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$), однако отмечалась значительная флуктуация уровня сывороточной концентрации указанного метаболита, в том числе – и в зависимости от особенностей диеты ребенка. Необходимы были серийные исследования на протяжении нескольких недель для формирования правильного суждения о наличии гипергомоцистеинемии. Сывороточная концентрация фолиевой кислоты оказалась повышенной в 64%, а пониженной – в 21% случаев. Повышение содержания витамина В12 также имело место в 64%, а витамина В6 – лишь в 43% случаев. Также имели место флуктуации уровня сывороточной концентрации, что требовало проведение серийных исследований для формирования правильного окончательного вывода. Действительно, именно гипергомоцистеинемия была наиболее чувствительным биохимическим маркером генетически детерминированного нарушения фолатного цикла (рис. 3), а остальные показатели имели вспомогательное значение.

Скрининг на гомоцистеин может быть информативным инструментом для первичного отбора кандидатов на соответствующее генетическое обследование среди детей с расстройствами аутистического спектра, однако в некоторых случаях нормальное содержание гомоцистеина не исключало наличие нескольких полиморфизмов в генах фолатного цикла.

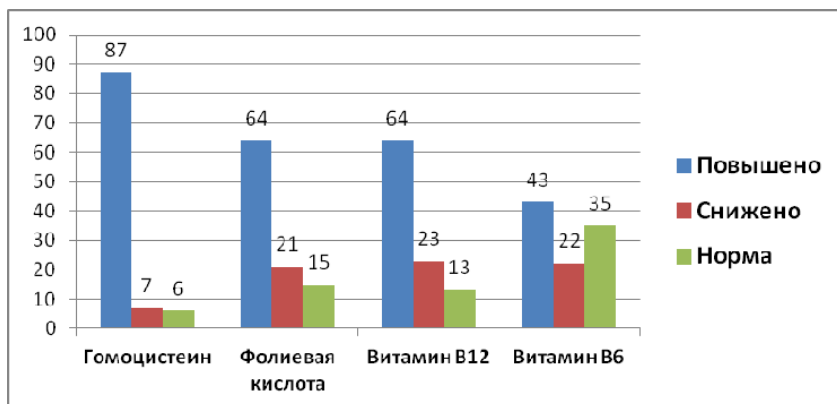


Рис. 2. Уровни сывороточных концентраций исследуемых биомаркеров среди детей с генетически детерминированным нарушением фолатного цикла (n=78)

Оценка микробной нагрузки. У пациентов исследуемой группы встречались, прежде всего, аномально частые, длительные, тяжелые вирусные инфекции. Эти инфекционные эпизоды были вызваны преимущественно оппортунистическими, а не высококовирулентными микроорганизмами и нередко имели осложненное течение. Врожденная цитомегаловирусная инфекция с поражением ЦНС зарегистрирована в 17% случаев (рис. 3). Диагноз подтверждался результатами ПЦР сыворотки крови и ликвора, а в некоторых случаях – по появлению специфических IgM в крови и цереброспинальной жидкости. Такие дети, как правило, имели диагноз детского церебрального паралича из-за наличия двигательных нарушений, хотя при более глубоком анализе дополнительно отмечались признаки расстройств аутистического спектра. Расстройства психического развития отмечались уже с рождения, и аутизм нередко комбинировался с нарушением интеллектуального развития. Ранее связь расстройств аутистического спектра с пренатально перенесенной цитомегаловирусной нейроинфекцией продемонстрировали Engman M.L. с соавт. [14].

Подострый склерозирующий панэнцефалит, вызванный вирусами кори и/или краснухи, зарегистрирован в 21% случаев, как правило, без инициального периода типичных высыпаний. Это прогрессирующее поражение ЦНС было вызвано как естественным заражением указанными вирусами, так и вакцинацией живой аттенуированной вакциной против кори, краснухи и эпидемического паротита. В зависимости от текущей стадии патологического процесса дети с такими неврологическими поражениями наблюдались с диагнозом изолированных аутистических расстройств при небольшой длительности болезни или же детского церебрального паралича в позднюю стадию. У таких детей помимо прогрессирующего течения отмечался начальный период нормального развития и аутистический регресс вскоре после естественного или искусственного заражения вирусами. Как правило, первые признаки регресса регистрировались спустя 2-4 недели после вакцинации, однако эпизод естественного заражения обычно оставался неидентифицированным из-за отсутствия экзантемы или энантемы. Отмечалось более мягкое, стертое течение неврологической болезни по сравнению с классическими описаниями подострого склерозирующего панэнцефалита, что, по-видимому, было обусловлено большим удельным весом случаев инфицирования аттенуированными вирусами. Диагноз подтверждали на основании данных ПЦР сыворотки крови и ликвора, персистенции специфических IgM в крови или аномально повышенной сывороточной концентрации IgG, которая в сотни и тысячи раз превышала верхнюю границу нормы.

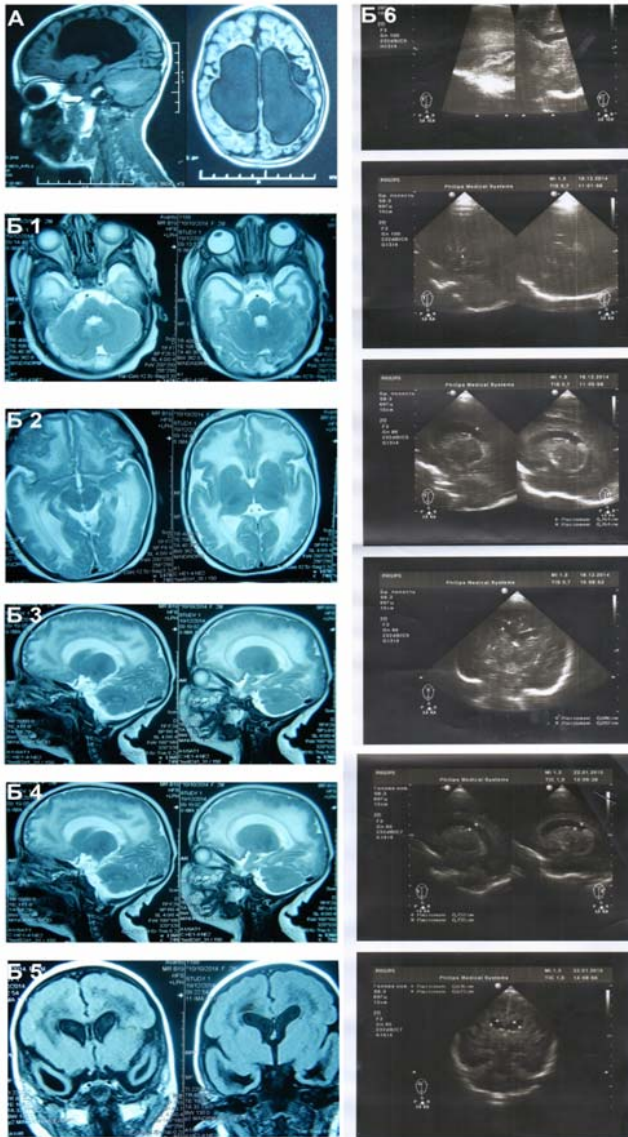


Рис. 3. Признаки врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей с генетическими нарушениями фолатного цикла

(А - тяжелый порок развития ЦНС с венрикуломегалией и гипогенезией полушарий большого мозга, вероятно – вследствие заражения вирусом в ранний период внутриутробного онтогенеза; Б – комплекс классических признаков позднего антенатального инфицирования цитомегаловирусом: кисты в полюсах височных долей (1), лейкоэнцефалопатия (2, 3,4), агенезия мозолистого тела (5), венрикуломегалия (2,3,4) и васкулопатия стриатных артерий при ЭхоЭГ (6); собственные наблюдения)

Реактивированные постнатальные герпесвирусные инфекции, вызванные лимфотропными герпесвирусами (CMV, EBV, HHV-6, HHV-7) были наиболее характерным проявлением инфекционного синдрома (78% случаев). Диагноз подтверждали на основании результатов ПЦР сыворотки крови. ПЦР ликвора проводили только в случае эпизода энцефалита. У многих детей имела место картина хронического мононуклеоза или мононуклеозоподобного синдрома с персистирующим субфебрилитетом, недомоганием, фарингитом, гиперплазией миндалин, лимфаденопатией, гепато- и спленомегалией и атипичными мононуклеарами в крови, и почти в половине таких случаев в анамнезе отмечались эпизоды органичных поражений, включая энцефалит, гепатит, панкреатит, пневмонит, миокардит. Поражения нервной системы и внутренних органов герпесвирусной этиологии имели общую особенность – слабо выраженный общеинфекционный синдром, что усложняло интерпретацию клинических данных в некоторых случаях. Эту особенность в значительной мере можно объяснить характерными изменениями в иммунном статусе (см. ниже). В 56% случаев в сыворотке крови обнаруживалась ДНК сразу 3-4 герпесвирусов разных видов, что создавало высокую вирусную нагрузку на организм ребенка.

Тяжелое течение ротавирусной инфекции, после эпизода которой отмечался аутистический регресс ребенка, зарегистрировано в 12% случаев. Начало аутистического регресса после эпизода гриппа имело место лишь в 4% случаев. У таких детей имела место постгриппозная энцефалопатия.

Упорно рецидивирующая пиогенная кокковая инфекция верхних дыхательных путей, придаточных пазух носа, кожи и мочевыделительной системы имела место в 32% случаев. Диагноз подтверждали микробиологическим методом. Принимали во внимание аномально повышенный титр антистрептолизина-О в крови. Особенностью иммунного статуса таких детей было наличие гипо- или дисиммуноглобулинемии, а также – дефицита специфических антител к стрептококку, который диагностировали по диссоциации результатов микробиологических и серологических методов.

Хронический персистирующий или рецидивирующий кандидоз диагностирован в 17% случаев (рис. 4). Преимущественно поражались слизистая оболочка ротовой полости, придаточные пазухи носа и кишечник, реже – кожа. Почти у всех таких детей имел место дефицит миелопероксидазы фагоцитов.

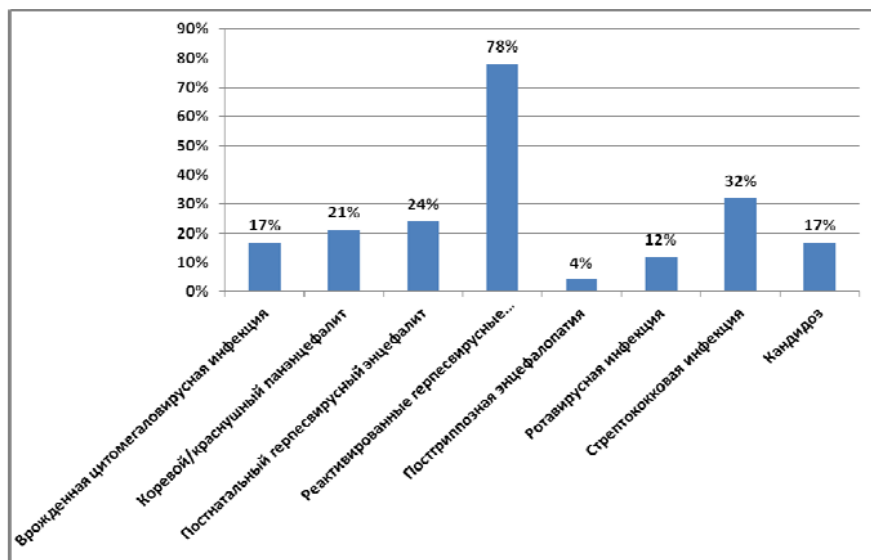


Рис. 4. Структура инфекционного синдрома у пациентов с генетическим дефицитом фолатного цикла (n=78)

Есть основания полагать, что вирусные инфекции, зарегистрированные у детей исследуемой группы, и были повреждающим фактором, индуцирующим аутистические расстройства психики. Благодаря множественным сообщениям хорошо известна возможность развития аутизма после эпизода нейроинфекционного поражения. Так, Ghaziuddin M. с соавт. сообщили о появлении аутизма после перенесенного височного долевого энцефалита, вызванного простым вирусом герпеса 1 типа [18]. Marques F. с соавт. описали развитие аутизма в результате перенесенного энтеровирусного энцефалита [27]. Известен также ряд случаев развития расстройств аутистического спектра после коревого энцефалита не только у детей, но и у взрослых [21].

Ранее неоднократно сообщали об аномальной микробной нагрузке у детей с аутистическим спектром, хотя исчерпывающего объяснения

этот факт так и не получил. Так, Binstock T. выделил subgroupу детей с аутизмом с так называемыми интрамоноситарными патогенами – вирусом кори, цитомегаловирусом, вирусом герпеса 6 типа, *Yersinia enterocolitica*. Для таких детей было характерно угнетение гемопоэза, нарушение периферического иммунитета, повышение проницаемости гематоэнцефалитического барьера и демиелинизация [6]. Engman M.L. с соавт. установили в контролируемом исследовании, что у пациентов с аутизмом чаще отмечалась врожденная цитомегаловирусная инфекция, чем у психически здоровых лиц [14]. Nicolson G.L. с соавт. в другом контролируемом исследовании, используя ПЦР сыворотки крови, показали аномально частое обнаружение микоплазмы пневмонии, хламидии пневмонии и вируса герпеса 6 типа у детей с аутизмом [33]. Продемонстрировано также аномально высокое напряжение иммунной памяти к вирусу варицелла зостер у детей с расстройствами аутистического спектра в исследовании по типу случай-контроль [17]. Mora M. с соавт. показали аномально высокие титры антител в вирусу простого герпеса 2 типа, которые были ассоциированы с антителами к мозговым антигенам (77% – против миндалевидного тела, 70% – против хвостатого ядра, 47,5% – против мозжечка и ствола мозга, 45% – против гиппокампов, 40% – против мозолистого тела и 17,5% – против коры полушарий большого мозга) у детей с аутизмом в контролируемом исследовании [30]. Singh V.K. с соавт. выявили ассоциацию высокой сероположительности к вирусу кори и вирусу герпеса 6 типа и большого титра аутоантител к основному белку миелина и белку филаментов аксонов нейронов у детей с аутизмом [50].

Действительно, у детей исследуемой группы, помимо внутриклеточных инфекций, отмечалась повышенная продукция антимозговых антител, преимущественно – против основного белка миелина и нейронспецифической энлазы (около 70%), а также признаки аутосенсibilизации нейтрофилов (32%) и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов (24 % случаев) к антигенам мозга (рис. 5). Связь хронических вирусных инфекций и аутосенсibilизации к мозговым антигенам, например, из-за механизма молекулярной мимикрии, хорошо известна, в частности – при рассеянном склерозе. По-видимому, генетический дефицит фолатного цикла способствовал как снижению резистентности к внутриклеточным патогенам, так и индукции аутоиммунных реакций, что указывает на нарушение иммунного статуса у таких пациентов. Тем более, что ранее уже неоднократно сообщали о повышенном риске развития рассеянного склероза при генетическом дефиците цикла фолиевой кислоты.

Оценка иммунного статуса. В результате оценки иммунного статуса установлено, что почти все дети с генетическим дефицитом фолат-

ного цикла были иммуносупрессированными лицами, причем отмечались некоторые однотипные нарушения иммунитета. Основой выявленного иммунодефицита было резко сниженное количество клеток субпопуляций лимфоцитов с фенотипом CD3–CD16+CD56+, получившие название естественных киллеров (natural killers, NK), и фенотипом CD3+CD16+CD56+, или естественных киллерных Т-клеток (natural killer T-cell, NKT) в периферической крови.

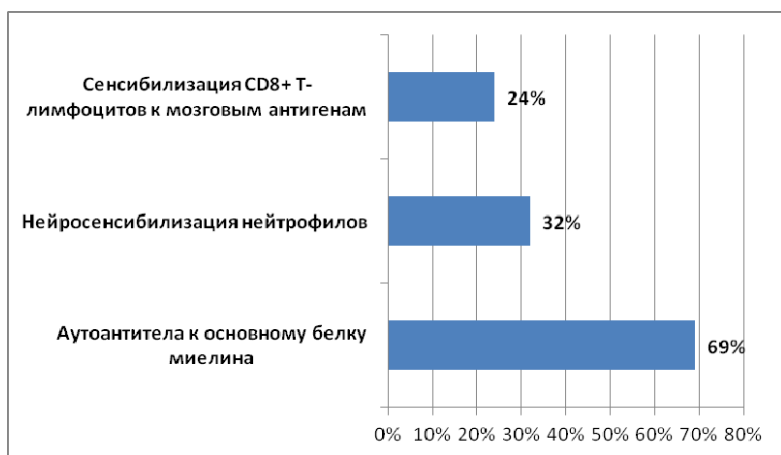


Рис. 5. Структура механизмов аутоенсибилизации к мозговым антигенам у детей исследуемой группы (n=78)

Эти миноритарные субпопуляции крайне важны в осуществлении противовирусного и антиопухолевого иммунитета, что в значительной мере может объяснить избирательное нарушение противовирусной резистентности у детей исследуемой группы, равно как и повышенную склонность к развитию неоплазий у пациентов с первичным дефицитом ферментов фолатного цикла. Помимо этого, дефицит NK- и NKT-клеток ассоциирован с повышенной склонностью к развитию аутоиммунных осложнений [46] и гиперчувствительности замедленного типа [22], что согласуется с неоднократно зафиксированным феноменом аномально повышенной продукции аутоантител к мозговым антигенам и непереносимости многих пищевых аллергенов у детей с аутистическим спектром.

Указанная форма клеточного иммунодефицита отмечалась среди участников исследуемой группы в 91% случаев, т.е. являлась специфическим признаком, в то время как среди здоровых детей контрольной

группы признаки аналогичного иммунологического фенотипа имели место лишь в 27% случаев, причем обычно отмечалось незначительное снижение количества клеток ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Помимо этого, гораздо реже среди детей с аутистическим спектром отмечались другие нарушения иммунного статуса: снижение количества CD8+ Т-лимфоцитов (23%), CD4+ Т-клеток (12%), CD19+ В-лимфоцитов (9% случаев).

Таким образом, только в 23% случаев был тотальный дефицит всех основных противовирусных субпопуляций лимфоцитов: Т-киллеров, естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов, причем именно у таких детей отмечалась наибольшая вирусная нагрузка на момент вступления в исследование.

Нарушения отмечались и в гуморальном звене иммунитета. Дисиммуноглобулинемия, включающая изолированные и комбинированные дефициты отдельных классов и субклассов иммуноглобулинов, выявлена в 43% случаев, однако чаще всего была неглубокой и носила транзиторный характер. Гипоиммуноглобулинемия зарегистрирована лишь в 17% случаев. Дефицит миелопероксидазы фагоцитов отмечался в 35% случаев и комбинировался с нарушениями в других звеньях иммунитета в вариательной манере (рис. 6).

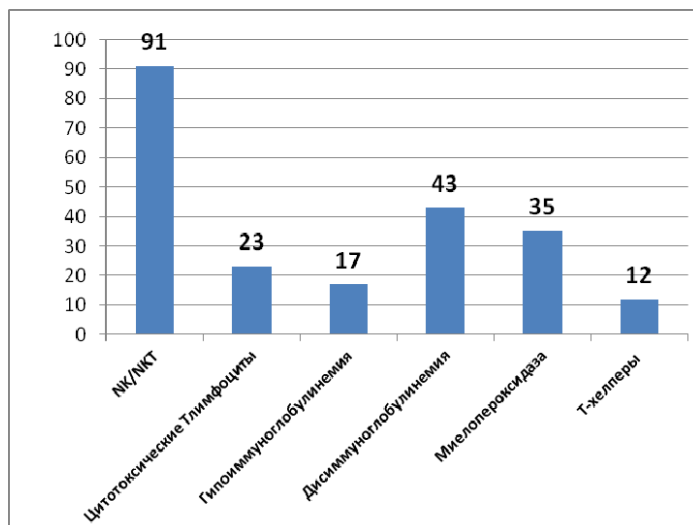


Рис. 6. Структура нарушений в иммунном статусе у детей с генетически детерминированным нарушением фолатного цикла (n=78)

Как видно из данных табл. 2, дефицит NK и NKT-клеток были тесно ассоциированы с наличием полиморфизмов в генах ферментов фолатного цикла ($p=0,01$), а также продемонстрирована менее выраженная, но статистически значимая связь изучаемых генетических нарушений с дефицитом микробицидного фермента фагоцитов миелопероксидазы ($p=0,05$).

Табл. 2

Результаты измерения отношения шансов и 95% доверительного интервала показателей иммунного статуса у пациентов групп наблюдения

Дефицит клетки/фактора	N ИГ	N КГ	OR	95% CI
NK и/или NKT-клетки	71	9	28,17	7,85-56,82*
NK+ NKT	48	4	12,0	3,93-36,29*
NK-клетки	58	7	11,18	4,34-28,50*
NKT-клетки	62	6	18,08	6,42-50,41*
CD8+ Т-лимфоциты	18	4	2,25	0,70-7,17
Миелопероксидаза	27	4	3,97	1,27-12,42*

Примечание. * – $\alpha=0,05$.

Тем не менее, изолированный дефицит клеток-киллеров имел место в 19% случаев, так как более, чем у половины участников исследуемой группы, отмечался расширенный иммунологический фенотип (54%), при котором наряду с выраженным и стойким дефицитом NK- и NKT-клеток отмечались менее глубокие и преимущественно транзиторные нарушения в других звеньях иммунитета, а именно – дефицит CD8+ Т-лимфоцитов, различные виды дисиммуноглобулинемии и дефицит миелопероксидазы фагоцитов. За счет подобных комбинаций могла видоизменяться клиническая картина инфекционного синдрома. Если для дефицита NK- и NKT-клеток снижается резистентность преимущественно к внутриклеточным микроорганизмам, что предопределяет развитие оппортунистических вирусных инфекций, то в случае присоединения дисиммуноглобулинемии дополнительно регистрировались рецидивирующие пиогенные бактериальные инфекции верхних дыхательных путей, чаще всего – вызванные *Str. pyogenes*, пневмококком и золотистым стафилококком. В то же время, при дефиците миелопероксидазы имели место эпизоды рецидивирующего кандидоза. В случае

комбинации дефицита NK- и NKT-клеток с гипои иммуноглобулинемией отмечался фенотип общего вариабельного иммунодефицита (17% случаев), причем у таких детей отмечались в анамнезе эпизоды глубоких бактериальных инфекций, включая пневмонию, пиелонефрит и септицемию. Необходимо подчеркнуть, что в каждом десятом случае регистрировался фенотип, напоминающий тяжелый комбинированный иммунодефицит, за счет наслаения глубокой лимфопении и гипо- или дисиммуноглобулинемии. Как правило, в их геноме находилось сразу 4 полиморфизма генов фолатного цикла. Результаты более глубокого анализа иммунного статуса у детей исследуемой группы приведены в следующей главе.

Ранее неоднократно сообщалось об обнаружении различных форм иммунодефицитов неуточненного происхождения у детей с аутистическим спектром. Так, Santaella M.L. с соавт. показали, что избирательный дефицит IgA встречается среди пациентов с расстройствами аутистического спектра в 10,3 %, тогда как в контрольной группе здоровых детей – лишь в 1,6 % случаев [45]. Russo A.J. с соавт. продемонстрировали тесную связь между расстройствами аутистического спектра и дефицитом миелопероксидазы нейтрофилов [44]. Reinert P. с соавт. описали 20 случаев коревого подострого склерозирующего энцефалита с прогрессирующими психическими нарушениями у пациентов с избирательным клеточным дефицитом к вирусу кори [43]. Juonouchi H. с соавт. показали ассоциацию расстройств аутистического спектра у детей с избирательным дефицитом специфических антиполисахаридных антител и дисфункцией моноцитов [23]. Известна также ассоциация PANDAS и синдрома Туретта с избирательным дефицитом IgA [25], а рефрактерных эпилепсий у детей – с дефицитами субклассов IgG [39]. В свете выявленных нами иммунологических данных, представляется очевидным, что, по крайней мере в части представленных случаев, указанные иммунные нарушения были лишь фрагментами более широкого фенотипа иммунодефицита, ассоциированного с генетическими нарушениями фолатного цикла.

Ранее в экспериментальных и клинических исследованиях сообщали про разнообразные нарушения иммунного статуса у пациентов с верифицированным дефицитом фолиевой кислоты и фолатного цикла. Так, van der Weyden M.B. с соавт. установили угнетение метаболизма лимфоцитов при фолатном дефиците, включающее нарушение деоксинуклеотидного метаболизма и тимидилатного цикла [55]. Partearroyo T. с соавт. показали, что дисбаланс фолиевой кислоты и витамина B12 нарушают цитотоксичность естественных киллеров, активность В-лимфоцитов и лимфопролиферацию [35]. Courtmanche C. с соавт. про-

демонстрировали, что фолатный дефицит приводит к угнетению пролиферации первичных CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов [8]. Abe I. с соавт. показали, что дефицит фолиевой кислоты приводит к уменьшению количества естественных киллеров, Т-лимфоцитов и В-клеток, но не базофилов и гранулоцитов [1]. Troen A.M. с соавт. установили, что неметаболизированная фолиевая кислота в сыворотке крови приводит к угнетению цитотоксичности естественных киллеров у женщин в постменопаузальный период [54]. A Bhatnagar N. с соавт. описали панцитопению при тяжелом фолатном дефиците [4]. Все эти разрозненные и несистематизированные данные являются отражением настойчивых попыток идентификации специфической иммунной дисфункции при фолатном дефиците. Наши результаты согласуются с накопленными ранее доказательствами о существовании первичного иммунодефицита, ассоциированного с генетическим дефицитом фолатного цикла.

Клинический фенотип. Вооружившись взаимосвязанными данными, полученными при изучении иммунного статуса и микробной нагрузки, можно лучше понять причины гетерогенности клинического фенотипа генетического дефицита фолатного цикла. Расстройства аутистического спектра наблюдались почти у всех детей исследуемой группы, что было связано с критериями отбора, хотя в целом аутизм не является облигатным проявлением нарушений в генах цикла фолиевой кислоты. Как известно, особенностью многих случаев аутизма является широкий клинический фенотип, который включает некоторые симптомы, напрямую не связанные с поражением нервной системы. Так, Yuonouchi H. с соавт. в контролируемом испытании, помимо типичных психических расстройств, выявили склонность к пиогенным инфекциям (12/39), пищевую аллергию замедленного типа (5/8), резистентную к лечению эпилепсию (4/8), хронические гастроинтестинальные симптомы (5/8) у детей с расстройствами аутистического спектра [23]. В соответствии с этими данными, мы также констатируем факт широкого клинического фенотипа у детей с аутистическим спектром, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла.

Помимо известных психических расстройств, в 46% случаев отмечались признаки височной медианной эпилепсии, связанной с височным медианным склерозом. Информативными были результаты МРТ головного мозга, согласно которым отмечалась билатеральная асимметричная гиперинтенсивность сигнала в T2-взвешенном режиме и режиме FLAIR в зонах гиппокампов, миндалевидных тел, парагиппокампальных извилин и островков (рис. 7). В трети таких случаев клинически эпилептические приступы не регистрировались, однако отмечалась эпилептиформная активность на ЭЭГ. Ранее Monge-Galindo L. с соавт. в

лонгитудинальном исследовании, охватывавшем 19 лет, продемонстрировали связь височного медианного склероза с расстройствами аутистического спектра у детей [29]. Как известно, на сегодняшний день такие нарушения связывают с инфекцией, вызванной вирусами герпеса человека 6 и 7 типов [13], которые часто выявлялись в реактивированном состоянии у детей исследуемой группы. Помимо этого, имеются сообщения об аномально высоких титрах аутоантител к антигенам гиппокампов и миндалевидных тел у детей с расстройствами аутистического спектра [30].



Рис. 7. МР-картина двустороннего склероза гиппокампов и связанная с этим epileptiformная активность на ЭЭГ (обведено; собственное наблюдение)

Проявления PANDAS имели место в 27% случаев. Этот ассоциированный со стрептококковой инфекцией аутоиммунный синдром включает гиперкинезы по типу тиков, дистонии, хореiformных нарушений, которые сочетаются с разным по тяжести обсессивно-компульсивным синдромом [26]. Как указывалось выше, стрептококковая инфекция отмечалась в 32% случаев и была ассоциирована с комбинацией дефицита NK/NKT-клеток и гуморальными нарушениями иммунитета. Ранее уже сообщали о нередких случаях повышенного титра аутоантител к антигенам подкорковых узлов у детей с аутистическим спектром [30] и, по-видимому, именно стрептококковая инфекция, а не герпесвирусы, была основным триггером развития указанного аутоиммунного неврологического осложнения.

Двигательные расстройства, связанные с поражением пирамидных и/или мозжечковых путей, отмечались лишь в 20% случаев, обычно – у

детей с иммунологическими фенотипами общего вариабельного иммунодефицита или тяжелого комбинированного иммунодефицита (рис. 8). Такие пациенты, как правило, переносили врожденную цитомегаловирусную инфекцию или постнатальный энцефалит, вызванный лимфотропными герпесвирусами, в связи с более выраженным снижением иммунорезистентности. При генетическом исследовании у них нередко отмечалось сразу 3-4 полиморфизма в генах фолатного цикла, что, по нашему мнению, и предопределяло тяжелые иммунологический и клинический фенотипы болезни.

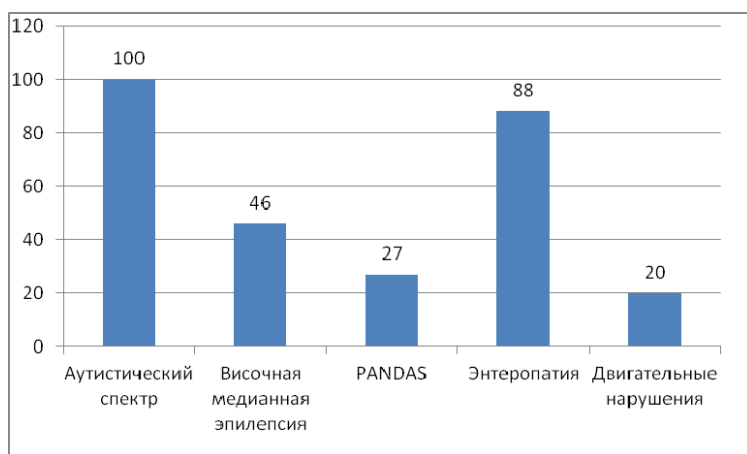


Рис. 8. Гетерогенный клинический фенотип у детей с генетическим нарушением фолатного цикла (n=78)

Кишечный синдром имел место в 88% случаев, однако его тяжесть не коррелировала с выраженностью психических нарушений. В некоторых случаях этот кишечный синдром полностью соответствовал картине энтеропатии с наличием непереваренной пищи в стуле, недостатком микроэлементов и дефицитарными анемиями. У таких детей, как правило, отмечались признаки целиакии (31% случаев) или гиперчувствительности к казеину коровьего молока (27% случаев) – феномены, неоднократно описанные при первичных иммунодефицитах, включая дефицит НКТ-клеток [19]. Помимо этого, у таких детей отмечались гуморальные нарушения в иммунном статусе, включая дефицит IgA, при котором также неоднократно сообщали о повышенной склонности к глютенковой энтеропатии [15]. Однако у большинства детей имела место картина колита с персистирующими запорами. Russo A.J. с соавт.

описали особое лимфопролиферативное поражение кишечника у детей с аутистическим спектром [44], которое по патоморфологическим признакам напоминает нодулярную лимфоидную гиперплазию кишечника, встречающуюся при многих первичных иммунодефицитах [37]. По-видимому, именно эти нарушения и были основой для развития кишечного синдрома. В 12% случаев имели место признаки цитомегаловирусного энтероколита, преимущественно – среди детей с врожденной цитомегаловирусной инфекцией. В случае гуморального компонента в фенотипе иммунодефицита отмечались эпизоды лямблиоза кишечника (36% случаев). В 17% случаев зафиксирован кандидоз кишечника, преимущественно – среди детей с дефицитом миелопероксидазы фагоцитов. Нельзя было сбрасывать со счетов рецидивирующие гельминтные инвазии (48% случаев), которые можно объяснить не только поведенческими нарушениями, но и наличием глубокого дефицита IgE у некоторых детей. Таким образом, кишечный синдром был гетерогенным по происхождению, что требовало дифференцированного подхода к назначению лечебных вмешательств.

Аллергический синдром. У каждого третьего пациента исследуемой группы отмечались признаки аллергии в виде хронического дерматита с рецидивирующей или персистирующей макулопапулезной сыпью и лихенификацией на разгибательной поверхности коленных и локтевых суставов, рече – ринита с разным по тяжести нарушением функции носового дыхания. Чаще всего имела место сенсibilизация к пищевым, а не ингаляционным аллергенам, особенно – к казеину коровьего молока. У некоторых детей в анамнезе отмечались эпизоды анафилактикоидных реакций. Медикаментозная аллергия, включая аллергические реакции на ноотропы и препараты витаминов, также имела место у каждого третьего ребенка и нередко сочеталась с пищевой. В сыворотке крови почти у всех детей с задокументированными эпизодами аллергии имела место повышенная концентрация общего IgE.

Механизм поражения головного мозга. Данные МР-томограмм головного мозга указывали на наличие признаков лейкоэнцефалопатии почти у всех детей исследуемой группы (96% случаев). Эта лейкоэнцефалопатия широко варьировала – от диффузного нарушения миелинизации белого вещества (рис. 8А), минуя обширную перивентрикулярную демиелинизацию (рис. 8Б), до ограниченных билатеральных зон задержки миелинизации/демиелинизации в перивентрикулярных зонах теменных долей полушарий большого мозга (рис. 8В, 8Г). Именно эти почти симметричные очаги нарушенной миелинизации в перивентрикулярных зонах теменных долей были наиболее характерными признаками, отмечавшимися почти у всех детей. Такие зоны по локализации и

нейровизуализационными проявлениями очень напоминали участки задержки миелинизации, описанные ранее как характерный признак врожденной цитомегаловирусной инфекции у людей [38], однако отмечались и при реактивированных инфекциях, вызванных другими герпесвирусами. Ранее о демиелинизации как об одном из основных механизмов поражения мозга при расстройствах аутистического спектра заявил Binstock T. [6].

На сегодняшний день хорошо известна способность герпесвирусов индуцировать демиелинизацию при развитии моно- или мультифокального лейкоэнцефалита [24]. Наличие дефицита NK- и NKT-клеток, отмечающееся у детей с генетическими нарушениями фолатного цикла, по-видимому, является предрасполагающим условием для развития вирус-индуцированной демиелинизации. Кроме того, следует учитывать аутоиммунный компонент лейкоэнцефалопатии, так как у большинства детей отмечался аномально высокий титр антител к основному белку миелина, а, по крайней мере, в трети случаев имела место повышенная сенсibilизация нейтрофилов к указанному мозговому антигену.

Кроме этого, имеются данные о повышенной склонности к демиелинизации при дефиците фолатного цикла. Так, Strunk T. с соавт. описали подострую лейкоэнцефалопатию после применения малых доз метотрексата при гетерозиготном полиморфизме MTHFR 677 C>T, хотя метотрексат обычно вызывает поражение миелина при применении в высоких дозах и лишь у отдельных пациентов [51]. Недавно Tran T. с соавт. изучили полиморфизм MTHFR 677 C>T как генетическое нарушение, предрасполагающее к появлению феномена гиперинтенсивных теней в белом веществе полушарий большого мозга [53]. Обширность лейкоэнцефалопатии была связана с клиническим фенотипом, так как при изолированном вовлечении перивентрикулярных зон теменных долей отмечались только аутистические расстройства, тогда как при распространении нарушений миелинизации в другие отделы мозга имели место дополнительные двигательные проявления и признаки нарушения интеллекта.

Помимо лейкоэнцефалопатии, следует учитывать случаи врожденной цитомегаловирусной нейроинфекции с пороками развития ЦНС, перенесенные эпизоды постанатальных герпесвирусных энцефалитов, наличие височного медианного склероза, подострого корево-го/краснушного склерозирующего панэнцефалита, постгриппозной энцефалопатии. В случае PANDAS обычно отмечались МР-признаки гипертрофии базальных ганглиев. Также следует помнить о неклассифицированных аутоиммунных реакциях, включая продукцию аутоантител к антигенам коры головного мозга, о которых сообщали ранее в контексте расстройств аутистического спектра у детей [30, 50].

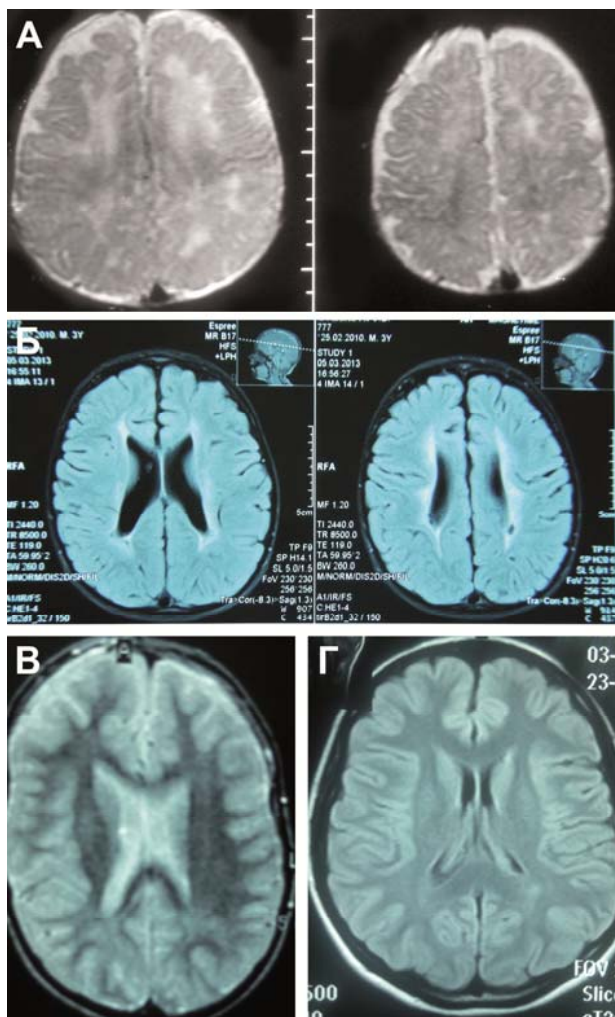


Рис. 10. Гетерогенность проявлений лейкоэнцефалопатии у детей с генетическим нарушением фолатного цикла

(А - незрелость головного мозга и диффузное нарушение миелинизации; Б - обширная перивентрикулярная демиелинизация, напоминающая лейкодистрофию; В - выраженная билатеральная демиелинизация в темных долях перивентрикулярно, дизгенезия мозга, деформация желудочковой системы, Г - ограниченное двустороннее нарушение миелинизации в темных долях перивентрикулярно; собственные наблюдения).

Выводы. Мы констатируем факт широкого клинического фенотипа у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла, у которых имеются нарушения аутистического спектра. Полученные данные подтверждают и в значительной мере дополняют результаты специально спланированного исследования Yuonouchi H. с соавт. [23]. Обширность фенотипа, по нашему мнению, связана с тем, что у пациентов с расстройствами спектра аутизма, ассоциированными с генетическим дефицитом фолатного цикла, отмечается иммунная дисфункция, имеющая переменный иммунологический фенотип, однако дефицит NK- и NKT-клеток является наиболее типичным признаком болезни. По-видимому, именно эти клетки врожденного иммунитета наиболее чувствительны к метаболическому дефекту, опосредованному полиморфизмами генов фолатного цикла. Преимущественное вовлечение NK- и NKT-клеток предопределяет избирательное и резкое снижение резистентности к внутриклеточным микроорганизмам, включая оппортунистические вирусы, склонность к индукции аутоиммунных реакций и гиперчувствительности замедленного типа.

По сути, данный иммунодефицит позволяет объяснить ключевые особенности широкого клинико-лабораторного фенотипа многих детей с аутистическим спектром, для которого характерны аномальная микробная нагрузка, вызванная интрацеллюлярными патогенами, разнообразные отклонения в иммунном статусе, плохая переносимость вакцинаций, аномально высокая продукция антимозговых аутоантител и развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, например, к пищевым антигенам. Иммунодефицит позволяет объединить в общий фенотип на первый взгляд разрозненные синдромы, которые часто последовательно развиваются у детей с аутистическим спектром, включая инфекционные поражения, лейкоэнцефалопатию, PANDAS, височную медианную эпилепсию, аллергию и кишечные нарушения. Хотя, по-видимому, имеются и прямые метаболические воздействия, многие клинические проявления, отмечающиеся у детей с дефицитом фолатного цикла, связаны не с прямым токсическим воздействием гомоцистеина и других продуктов на нервные клетки, а с развитием иммунозависимых осложнений, опосредованных иммунодефицитом, включая нейроинфекционные поражения и индукцию аутоиммунных реакций к антигенам нервной ткани.

Ранее установлена связь полиморфизмов генов фолатного цикла с некоторыми аутоиммунными болезнями, в патогенезе которых преобладают клеточные иммунопатологические реакции, включая рассеянный склероз [32] и ревматоидный артрит [12]. Важен факт, что эти же аутоиммунные поражения преобладают у пациентов с первичными де-

фицитами НК- и НКТ-клеток [34, 56]. Кроме того, выявлена связь полиморфизмов генов фолатного цикла со злокачественными новообразованиями, которые являются, как известно, характерными проявлениями первичных дефицитов НК- и НКТ-клеток. Таким образом, полученные данные позволяют найти недостающее звено в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и неопластических поражений у пациентов с генетическим дефицитом фолатного цикла, которым, по-видимому, является первичный иммунодефицит, связанный с преимущественным поражением киллерных клеток.

На данный момент известен другой генетический иммунодефицит, при котором метаболический дефект присутствует во всех клетках организма, однако клинически значимое нарушение формируется лишь в некоторых субпопуляциях лимфоцитов, что предопределяет развитие именно иммунной дисфункции, а не классической метаболической генетической болезни. Речь идет о первичном дефиците аденозиндезаминазы [3]. Кроме этого, уже известен и хорошо охарактеризован первичный иммунодефицит, вызванный не классическими менделевскими мутациями, а полиморфизмами гена, кодирующего компонент иммунной системы, – наследственный дефицит маннозосвязывающего лектина [9], речь о котором шла в первой главе. Эти примеры позволяют лучше понять происхождение широкого клинического фенотипа при первичном дефиците энзимов фолатного цикла.

Таким образом, у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с генетическим дефицитом цикла фолиевой кислоты, на самом деле имеет место не изолированный психиатрический фенотип, а расширенная клиническая картина болезни, которая включает инфекционные и иммунозависимые поражения различных органов и систем, в том числе – кожи, головного мозга, дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, органов мочевого выделения, иммунной системы. Это полиорганное и полисистемное вовлечение, по-видимому, связано с наличием генетически детерминированного иммунодефицита у таких детей. Указанные данные подчеркивают важность мультидисциплинарного подхода к клиническому ведению детей с расстройствами спектра аутизма, ассоциированными с генетическим дефицитом цикла фолиевой кислоты, причем обязательным представляется участие клинического иммунолога.

Список литературы

1. Abe I., Shirato K., Hashizume Y. Folate-deficiency induced cell-specific changes in the distribution of lymphocytes and granulocytes in rats // *Environ Health Prev. Med.* – 2013. – Vol. 18(1). – P. 78–84.

2. Badiga S., Johanning G.L., Macaluso M. et al. A lower degree of PBMC L1 methylation in women with lower folate status may explain the MTHFR C677T polymorphism associated higher risk of CIN in the US post folic acid fortification era // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9(10) – e110093.
3. Baffelli R., Notarangelo L.D., Imberti L. et al. Diagnosis, Treatment and Long-Term Follow Up of Patients with ADA Deficiency: a Single-Center Experience // *J. Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 35(7). – P. 624–637.
4. Bhatnagar N., Wechalekar A., McNamara C. Pancytopenia due to severe folate deficiency // *Intern. Med. J.* – 2012. – Vol. 42(9). – P. 1063–1064.
5. Biamino E., Di Gregorio E., Belligni E.F. A novel 3q29 deletion associated with autism, intellectual disability, psychiatric disorders, and obesity // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr Genet.* – 2015 [Epub ahead of print].
6. Binstock T. Intra-monocyte pathogens delineate autism subgroups // *Med. Hypotheses*. – 2001. – Vol. 56(4). – P. 523–531.
7. Borges M.C., Hartwig F.P., Oliveira I.O., Horta B.L. Is there a causal role for homocysteine concentration in blood pressure? A Mendelian randomization study // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2016. – Vol. 103(1). – P. 39–49.
8. Courtemanche C., Elson-Schwab I., Mashiyama S.T. Folate deficiency inhibits the proliferation of primary human CD8+ T lymphocytes in vitro // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173(5). – P. 3186–3192.
9. Darton T.C., Jack D.L., Johnson M. et al. MBL2 deficiency is associated with higher genomic bacterial loads during meningococemia in young children // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2014. – Vol. 20(12). – P. 1337–1342.
10. DelGiudice-Asch G., Simon L., Schmeidler J. Brief report: a pilot open clinical trial of intravenous immunoglobulin in childhood autism // *J. Autism Dev. Disord.* – 1999. – Vol. 29(2). – P. 157–160.
11. Delorme R., Betancur C., Scheid I. Mutation screening of NOS1AP gene in a large sample of psychiatric patients and controls // *BMC Med. Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 108.
12. Dimitroulas T., Sandoo A., Hodson J. et al. Associations between asymmetric dimethylarginine, homocysteine, and the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism (rs1801133) in rheumatoid arthritis // *Scand. J. Rheumatol.* – 2015. [Epub ahead of print].
13. Donati D., Akhyani N., Fogdell-Hahn A. et al. Detection of human herpesvirus-6 in mesial temporal lobe epilepsy surgical brain resections // *Neurology*. – 2003. – Vol. 61(10) – P. 1405–1411.
14. Engman M.L., Sundin M., Miniscalco C. Prenatal acquired cytomegalovirus infection should be considered in children with autism // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol. 104(8). – P. 792–795.
15. Fahl K., Silva C.A., Pastorino A.C. et al. Autoimmune diseases and auto antibodies in pediatric patients and their first-degree relatives with immunoglobulin A deficiency // *Rev. Bras. Reumatol.* – 2014. [Epub ahead of print].
16. Frye R.E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder // *Epilepsy Behav.* – 2015. – Vol. 47. – P. 147–157.

17. Gentile I., Zappulo E., Bonavolta R. Exposure to Varicella Zoster Virus is higher in children with autism spectrum disorder than in healthy controls. Results from a case-control study // *In Vivo*. – 2014. – Vol. 28(4). – P. 627–631.
18. Ghaziuddin M., Al-Khouri I., Ghaziuddin N. Autistic symptoms following herpes encephalitis // *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry*. – 2002. – Vol. 11(3). – P. 142–146.
19. Grose R.H., Thompson F.M., Cummins A.G. Deficiency of 6B11+ invariant NK T-cells in celiac disease // *Dig. Dis. Sci*. – 2008. – Vol. 53(7). – P. 1846–1851.
20. Hanks J. The association between MTHFR 677C>T genotype and folate status and genomic and gene-specific DNA methylation in the colon of individuals without colorectal neoplasia // *Am. J. Clin. Nutr*. – 2013. – Vol. 98(6). – P. 1564–74.
21. Hiroshi H., Seiji K., Toshihiro K., Nobuo K. An adult case suspected of recurrent measles encephalitis with psychiatric symptoms // *Seishin Shinkeigaku Zasshi*. – 2003. – Vol. 105(10). – P. 1239–1246.
22. Inaoka M. Innate immunity and hypersensitivity syndrome // *Toxicology*. – 2005. – Vol. 209(2). – P. 161–163.
23. Jyonouchi H., Geng L., Streck D.L., Toruner G.A. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study // *J. Neuroinflammation*. – 2012. – Vol. 9. – P. 4.
24. Kamei A., Ichinohe S., Onuma R. et al. Acute disseminated demyelination due to primary human herpesvirus-6 infection // *Eur. J. Pediatr*. – 1997. – Vol. 156(9). – P. 709–712.
25. Kawikova I., Grady B.P., Tobiasova Z. et al. Children with Tourette's syndrome may suffer immunoglobulin A dysgammaglobulinemia: preliminary report // *Biol. Psychiatry*. – 2010. – Vol. 67(7). – P. 679–683.
26. Macerollo A., Martino D. Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections (PANDAS): An Evolving Concept // *Tremor Other Hyperkinet. Mov. (NY)*. – 2013. – tre-03-167-4158-7.
27. Marques F., Brito M.J., Conde M. Autism spectrum disorder secondary to enterovirus encephalitis // *J. Child Neurol*. – 2014. – Vol. 29(5). – P. 708–714.
28. Miller A.L. The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases // *Altern. Med. Rev*. – 2003. – Vol. 8(1). – P. 7–19.
29. Monge-Galindo L., Pérez-Delgado R., López-Pisón J. Mesial temporal sclerosis in paediatrics: its clinical spectrum. Our experience gained over a 19-year period // *Rev. Neurol*. – 2010. – Vol. 50(6). – P. 341–348.
30. Mora M., Quintero L., Cardenas R. Association between HSV-2 infection and serum anti-rat brain antibodies in patients with autism // *Invest. Clin*. – 2009. – Vol. 50(3). – P. 315–326.
31. Morales de Machín A., Méndez K., Solís E. et al. C677T polymorphism of the methylentetrahydrofolate reductase gene in mothers of children affected with neural tube defects // *Invest. Clin*. – 2015. – Vol. 56(3). – P. 284–295.

32. Naghibalhosseini F., Ehyakonandeh H., Nikseresht A., Kamali E. Association Between MTHFR Genetic Variants and Multiple Sclerosis in a Southern Iranian Population // *Int. J. Mol. Cell. Med.* – 2015. – Vol. 4(2). – P. 87–93.
33. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for *Mycoplasma* spp., *Chlamydia pneumoniae*, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res.* – 2007. – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.
34. O'Keeffe J., Gately C.M., Counihan T. et al. T-cells expressing natural killer (NK) receptors are altered in multiple sclerosis and responses to alpha-galactosylceramide are impaired // *J. Neurol. Sci.* – 2008. – Vol. 275(1-2). – P. 22–28.
35. Partearroyo T., Úbeda N., Montero A. Vitamin B(12) and folic acid imbalance modifies NK cytotoxicity, lymphocytes B and lymphoproliferation in aged rats // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5(12). – P. 4836–4848.
36. Peng Q., Lao X., Huang X. et al. The MTHFR C677T polymorphism contributes to increased risk of Alzheimer's disease: evidence based on 40 case-control studies // *Neurosci Lett.* – 2015. – Vol. 586. – P. 36–42.
37. Piaścik M., Rydzewska G., Pawlik M. et al. Diffuse nodular lymphoid hyperplasia of the gastrointestinal tract in patient with selective immunoglobulin A deficiency and sarcoid-like syndrome – case report // *Adv. Med. Sci.* – 2007. – Vol. 52. – P. 296–300.
38. Pinillos-Pisón R., Llorente-Cereza M.T., López-Pisón J. Congenital infection by cytomegalovirus. A review of our 18 years' experience of diagnoses // *Rev. Neurol.* – 2009. – Vol. 48(7). – P. 349–353.
39. Plebani A., Duse M., Tiberti S. Intravenous gamma-globulin therapy and serum IgG subclass levels in intractable childhood epilepsy // *Monogr. Allergy.* – 1988. – Vol. 23. – P. 204–215.
40. Promthet S., Pientong C., Ekalaksananan T. et al. Risk factors for rectal cancer and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in a population in Northeast Thailand // *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13(8). – P. 4017–4023.
41. Pu D., Shen Y., Wu J. Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis // *Autism Res.* – 2013. – Vol. 6(5). – P. 384–392.
42. Qi X., Sun X., Xu J. et al. Associations between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and hepatocellular carcinoma risk in Chinese population // *Tumour. Biol.* – 2014. – Vol. 35(3). – P. 1757–1762.
43. Reinert P., Moulias R., Goust J.M. Demonstration of cellular immunity deficiency limited to measles virus in 20 cases of subacute sclerosing leukoencephalitis // *Arch. Fr. Pediatr.* – 1972. – Vol. 29(6). – P. 655–665.
44. Russo A.J., Krigsman A., Jepson B., Wakefield A. Low serum myeloperoxidase in autistic children with gastrointestinal disease // *Clinical and Experimental Gastroenterology.* – 2009. – Vol. 2. – P. 85–94.
45. Santaella M.L., Varela Y., Linares N., Disdier O.M. Prevalence of autism spectrum disorders in relatives of patients with selective immunoglobulin A deficiency // *P. R. Health. Sci J.* – 2008. – Vol. 27(3). – P. 204–208.

46. Schleinitz N., Vélv F., Harlé J.N., Vivier E. Natural killer cells in human autoimmune diseases // *Immunology*. – 2010. – Vol. 131(4). – P. 451–458.
47. Schoendorfer N.C., Obeid R., Moxon-Lester L. Methylation capacity in children with severe cerebral palsy // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 42(7). – P. 768–776.
48. Scott J.M. Folic acid metabolism and mechanisms of neural tube defects // *Ciba Found Symp.* – 1994. – Vol. 181. – P. 180–187.
49. Singh A., Pandey S., Pandey L.K., Saxena A.K. In human alleles specific variation of MTHFR C677T and A1298C associated "risk factor" for the development of ovarian cancer // *J. Exp. Ther. Oncol.* – 2015. – Vol. 11(1). – P. 67–70.
50. Singh V.K., Lin S.X., Yang V.C. Serological association of measles virus and human herpesvirus-6 with brain autoantibodies in autism // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1998. – Vol. 89(1). – P. 105–108.
51. Strunk T., Gottschalk S., Goepel W. Subacute leukoencephalopathy after low-dose intrathecal methotrexate in an adolescent heterozygous for the MTHFR C677T polymorphism // *Med. Pediatr. Oncol.* – 2003. – Vol. 40(1). – P. 48–50.
52. Sukla K.K., Jaiswal S.K., Rai A.K. et al. Role of folate-homocysteine pathway gene polymorphisms and nutritional cofactors in Down syndrome: A triad study // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30(8). – P. 1982–1993.
53. Tran T., Cotlarciuc I., Yadav S. et al. Candidate-gene analysis of white matter hyperintensities on neuroimaging // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2015. [Epub ahead of print].
54. Troen A.M., Mitchell B., Sorensen B. Unmetabolized folic acid in plasma is associated with reduced natural killer cell cytotoxicity among postmenopausal women // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136(1). – P. 189–194.
55. Van der Weyden M.B., Hayman R.J. et al. Folate-deficient human lymphoblasts: changes in deoxynucleotide metabolism and thymidylate cycle activities // *Eur. J. Haematol.* – 1991. – Vol. 47(2). – P. 109–114.
56. Villanueva J., Lee S., Giannini E.H. et al. Natural killer cell dysfunction is a distinguishing feature of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophage activation syndrome // *Arthritis Res. Ther.* – 2005. – Vol. 7(1). – P. 30–37.
57. Yang Y., Luo Y., Yuan J. et al. Association between maternal, fetal and paternal MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a comprehensive evaluation // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2015. [Epub ahead of print].
58. Zhang X.F., Liu T., Li Y., Li S. Association between MTHFR 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms and breast cancer risk // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – Vol. 14(4). – P. 16425–16430.

РЕЗЮМЕ

Розширений клініко-лабораторний фенотип при генетично детермінованому порушенні фолатного циклу у дітей с розладами спектра аутизму

Вступ. Генетичний дефіцит ферментів фолатного циклу розглядається сьогодні як одна з поширених причин розладів аутистичного спектру у дітей, однак зв'язок між генетичними поломками і компонентами клінічного фенотипу охарактеризований недостатньо. Є ряд доказів участі імунної системи в патогенезі таких розладів, включаючи асоціацію з імунodefіцитами, випадки розвитку аутизму після нейроінфекцій і аутоімунних енцефалітів, ефективність імунотерапії.

Мета дослідження: оцінити розширений клініко-лабораторний фенотип при розладах аутистичного спектру, асоційованих з генетично детермінованим дефіцитом фолатного циклу.

Матеріали та методи. У проспективному контрольованому одноцентровому дослідженні брали участь 78 дітей з діагнозом розладів психіки аутистичного спектру і/або дитячого церебрального паралічу. Це були пацієнти з різних регіонів України віком від 2 до 10 років, 47 хлопчиків і 31 дівчинка. Контрольну групу склали 34 здорових дитини зі схожим віковим і гендерним розподілом. Проводили ідентифікацію поліморфізмів генів фолатного циклу (ПЛР), комплексне імунологічне обстеження, діагностику інфекцій (ПЛР, серологічні тести, мікробіологічний метод), визначення біомаркерів (біохімічні методи). З метою встановлення достовірності відмінностей результатів застосовували Т-критерій Стьюдента з розрахунком коефіцієнта довірчої ймовірності р (параметричний критерій) і число знаків Z за Урбахом (непараметричний критерій). Для вивчення зв'язку між поліморфізмами генів фолатного циклу і показниками імунного статусу використовували критерій χ^2 Пірсона.

Результати та обговорення. Дефіцит НК- і/або НКТ-клітин відзначався в досліджуваній групі в 91% випадків, тобто був специфічною ознакою, в той час як серед здорових дітей контрольної групи аналогічний імунотип мав місце лише в 27% випадків, причому зазвичай відзначалося незначне зниження кількості клітин ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Дефіцит НК і НКТ-клітин були тісно асоційовані з наявністю поліморфізмів в генах ферментів фолатного циклу ($\chi^2 = 51,1$; $p = 0,01$), а також продемонстровано менш виражений, але статистично значущий зв'язок з дефіцитом мієлопероксидази фагоцитів ($p = 0,05$). Показана аномально знижена резистентність пацієнтів досліджуваної групи до вірусних агентів: лімфотропних герпесвірусів, вірусу кору і краснухи, ротавірусів,

яку можна пояснити виявленим імунодефіцитом. Показаний пов'язаний з цим розширений клінічний фенотип, який включає, окрім аутистичних розладів, інші імунозалежні ураження: хронічні вірусні інфекції, скроневої медіанний склероз і скроневу медіанну епілепсію (46%), PANDAS (27%), рухові розлади (20%), алергію (32%) і кишковий синдром (88% випадків). Лейкоенцефалопатія, особливо – залучення перивентрикулярних зон тім'яних часток, пов'язана з нейроінфекціями і аутоімунними реакціями, була основною формою ураження ЦНС (96% випадків).

Висновки. Є підстави говорити про широкий клініко-лабораторний фенотип у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу, що вимагає мультидисциплінарного підходу до ведення таких пацієнтів із залученням клінічного імунолога.

Ключові слова: фолатний цикл, поліморфізми, НК-клітини, імунодефіцит, аутизм.

ABSTRACT

Advanced clinico-laboratory phenotype in patients with genetically determined folate cycle deficiency associated with autism spectrum disorders

Introduction. The genetic deficiency of folate cycle enzymes is considered today as one of the common causes of autism spectrum disorders in children, but the relationship between the genetic components of failures and clinical phenotype was characterized insufficiently. There is some evidence of immune system involvement in the pathogenesis, including association with immunodeficiencies, cases of autism after neuroinfections and autoimmune encephalitis, the effectiveness of immunotherapy.

Objective: to evaluate the advanced clinico-laboratory phenotype in patients with autism spectrum disorders associated with genetically determined deficiency of folate cycle.

Materials and methods. In a prospective, controlled, single-center study involved 78 children diagnosed with autism spectrum disorders and/or cerebral palsy. These were patients from different regions of Ukraine in age from 2 to 10 years old, 47 boys and 31 girls. Control group consisted of 34 healthy children with the same age and gender distribution. The identification of polymorphisms of folate cycle (PCR), a complex immunological investigation, diagnosis of infection (PCR, serological tests, microbiological method), determination of biomarkers (biochemical methods) were performed. In order to establish the reliability of the results of the differences used Studets T-

test with the calculation of a confidence factor of the probability p (parametric test) and the number of signs Z by Urbach (nonparametric). To study the relationship between polymorphisms of folate cycle genes and the immune status using the chi-square Pearson (χ^2).

Results and discussion. The deficiency of NK- and/or NKT-cells was observed in the study group in 91% of cases, while among the control group of healthy children of similar signs immunophenotype occurred only in 27% of cases, and usually there was a slight decrease in the number of cells ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Deficiency of NK and NKT-cells were closely associated with the presence of polymorphisms in the genes of enzymes of folate cycle ($\chi^2 = 51,1$; $p = 0,01$), as well as demonstrated less pronounced but statistically significant association with myeloperoxidase deficiency ($p = 0,05$). Shown abnormally reduced resistance to viral agents: lymphotropic herpesviruses, measles and rubella, rotavirus, which can be explained by the immune deficiency. Showed associated extensive clinical phenotype, comprising the addition of autistic disorders, other immunodependent lesions: chronic viral infections, mesial temporal sclerosis and temporal mesial epilepsy (46%), PANDAS (27%), movement disorder (20%), allergy (32%) and bowel syndrome (88%). Leukoencephalopathy, especially – involving periventricular areas of the parietal lobes, associated with neuroinfections and autoimmune reactions, have been the main form of CNS involvement (96%).

Conclusions. There is reason to talk about the advanced clinico-laboratory phenotype in children with genetic folate cycle deficiency and associated autistic disorders that requires a multidisciplinary approach to the management of patients with the assistance of a clinical immunologist.

Key words: folate cycle, polymorphisms, NK-cells, immunodeficiency, autism.

Оценка иммунного статуса у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с дефицитом фолатного цикла

Вступление. На сегодняшний день утвердились представления о генетической гетерогенности расстройств аутистического спектра у детей. Генетически детерминированный дефицит ферментов фолатного цикла рассматривается как одна из причин развития этого тяжелого и распространенного психического нарушения у детей [18], однако механизм указанной связи, равно как и ассоциация с рядом дополнительных клинических проявлений широкого фенотипа болезни, до сих пор не нашли исчерпывающего объяснения. Поскольку существуют неединичные сообщения об ассоциации аутизма с иммунодефицитными болезнями [19, 58] и признаками иммунной дисрегуляции [55, 57], есть основания полагать, что нарушения иммунного статуса являются недостающим звеном патогенеза аутизма при дефиците фолатного цикла. Кроме того, имеются не прямые признаки скомпрометированности иммунной системы у детей с аутистическим спектром, включая феномен аномально высокой микробой нагрузки на организм [33], частые эпизоды инфекций и приема антибиотиков [4], плохую переносимость некоторых вакцин [26], гиперпродукцию провоспалительных цитокинов [31], продукцию антимозговых аутоантител [10], связь с некоторыми локусами гистосовместимости [38], хронический иммуновоспалительный энтероколит [46], гиперчувствительность к пищевым антигенам [29], эффективность ряда иммуномодулирующих и иммунотерапевтических вмешательств [2, 8, 9, 11, 48]. Noriega D.B., Savelkoul H.F. в недавнем фундаментальном обзоре, посвященном расстройствам спектра аутизма у детей, указывают на признаки иммунной дисрегуляции у таких пациентов, включая гиперпродукцию про- и угнетение выработки противовоспалительных цитокинов, повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, аномальный синтез антимозговых аутоантител и модификацию функциональной активности естественных киллеров [34]. В связи с этим мы провели настоящее контролируемое испытание, посвященное углубленной оценке состояния иммунитета у пациентов с расстройствами психики аутистического спектра, ассоциированными с генетически детерминированным дефицитом цикла фолиевой кислоты.

Цель исследования: изучить ассоциацию генетического дефицита фолатного цикла с нарушениями различных показателей иммунного статуса у детей с расстройствами спектра аутизма.

Материал и методы. В данном одноцентровом исследовании по типу случай-контроль принимали участие 78 детей с диагнозом расстройств психики аутистического спектра и/или детского церебрального паралича. Набор детей в исследуемую группу производился в период между 2010 и 2015 годами включительно. Это были пациенты из различных регионов Украины в возрасте от 2 до 10 лет, 47 мальчиков и 31 девочка. Выявление полиморфизмов генов фолатного цикла (MTHFR 677 C>T; MTHFR 1298 A>C; MTRR 66 A>G и MTR 2756 A>G) осуществляли методом полимеразной цепной реакции в трех центрах: Neurological Research Institute (USA), Харьковском специализированном медико-генетическом центре и коммерческой лаборатории г. Киева. Контрольную группу составили 34 здоровых ребенка с похожим возрастным и гендерным распределением.

Всем пациентам проводилось комплексное иммунологическое обследование в Институте иммунологии и аллергологии НМУ имени А.А. Богомольца, которое помимо общего анализа крови, включало изучение субпопуляционного состава лимфоцитов с использованием лазерной проточной цитофлуориметрии (цитофлуориметр Epics X1, США) и метода непрямой иммунофлуоресценции с моноклональными антителами к CD-маркерам с двумя или тремя метками (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3–CD19+, CD3–CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+) (реактивы Beckman Coulter, США). Фагоцитоз оценивали по данным латекс-теста с определением показателя фагоцитоза, фагоцитарного индекса, количества активных фагоцитов и фагоцитарной ёмкости крови, а также по активности ферментов миелопероксидазы (цитофлуориметрия) и НАДФ-оксидазы (НСТ-тест). Сывороточные концентрации иммуноглобулинов основных классов (M, G, A) устанавливали по результатам простой радиальной иммунодиффузии по Манчини. Концентрацию классов IgE, IgD и субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сыворотке крови измеряли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ВекторБЕСТ, РФ). Помимо этого, производилась диагностика реактивированной вирусной инфекции по результатам количественной ПЦР сыворотки крови с видоспецифическими праймерами герпесвирусов (вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, вируса варицелла-зостер, Эпштейна-Барр вируса, цитомегаловируса, вирусов герпеса 6 и 7 типов), вирусов кори и краснухи. Также осуществлялись серологические тесты путем проведения твердофазного иммуноферментного анализа для идентификации вирус-специфических IgM и IgG в сыворотке крови. Оценивали также сывороточные концентрации известных биомаркеров генетического дефицита фолатного цикла – гомоцистеина, фолиевой кислоты, витаминов B12 и B6. Все дети проходили МРТ головного

мозга в конвенционных режимах (T1- и T2-взвешенный, FLAIR) на томографах с величиной магнитной индукции не менее 1,5 Тл.

Статистический анализ полученной информации обработан методами структурного и сравнительного анализов при помощи электронной программы Microsoft Excel. Рассчитывали средние величины изучаемых показателей иммунитета (X), стандартные отклонения (σ) и погрешности средней величины (m). С целью установления достоверности отличий результатов применяли T-критерий Стьюдента с расчетом коэффициента доверительной вероятности p (параметрический критерий) и число знаков Z по Урбаху (непараметрический критерий). Для изучения связи между полиморфизмами генов фолатного цикла и показателями иммунного статуса использовали критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона, сравнивая полученное значение с табличным при заданном числе степеней свободы и уровнях достоверности $p=0,05$ и $p=0,01$. При фактических значениях от 5 до 9 применяли дополнительно поправку Йейтса, а при менее 5 – точный тест Фишера. Расчетная формула приведена ниже:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^r \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Также осуществляли расчет отношения шансов (odds ratio) и связанного с ним доверительного интервала 95% CI для уточнения ассоциации дефицита фолатного цикла и нарушениями показателей иммунного статуса.

Данное исследование является частью гранта Министерства здравоохранения Украины на проведение научно исследовательской работы «Усовершенствование диагностики иммунодефицитных заболеваний человека на основе регистрации поверхностного плазмонного резонанса и разработка современных методов лечения» (№ госрегистрации 0113U000709).

Результаты и обсуждение. В результате оценки иммунного статуса установлено, что почти все дети с генетическим дефицитом фолатного цикла были иммуноскомпрометированными лицами. Хотя тяжесть иммунологических нарушений широко варьировала, отмечались некоторые однотипные нарушения иммунитета.

Основой выявленного иммунодефицита было резко сниженное количество клеток субпопуляций лимфоцитов с фенотипом CD3–CD16+CD56+, получившие название естественных киллеров (natural killers, NK), и фенотипом CD3+CD16+CD56+, или естественных киллерных T-клеток (natural killer T-cell, NKT) в периферической крови. Среднее количество NK- и NKT-клеток в периферической крови детей

ИГ было ниже референтных значений и достоверно меньше, чем у детей КГ ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$), в то время как количество CD4+ Т-хелперов и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов достоверно не отличалось от такого у здоровых детей (табл. 1). Также зафиксировано достоверное снижение содержания миелопероксидазы в фагоцитах периферической крови у детей ИГ ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Хотя сывороточная концентрация IgM, IgA и IgG1 была ниже среди детей с расстройствами аутистического спектра, достоверных отличий со здоровыми сверстниками выявлено не было ($p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$).

Табл. 1

Сравнительный анализ средних величин изучаемых показателей иммунного статуса у пациентов групп наблюдения

Клетка/фактор	Х ИГ	Х КГ	Статистическая значимость
NK, $\times 10^9/\text{л}$	0,09 \pm 0,002	0,22 \pm 0,2	$p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$
NKT, $\times 10^9/\text{л}$	0,02 \pm 0,003	0,17 \pm 0,4	$p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$
CD8+ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,71 \pm 0,2	0,94 \pm 0,2	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
CD4+ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,99 \pm 1,1	3,24 \pm 1,7	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
CD19+ В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,48 \pm 0,1	0,37 \pm 0,5	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
Миелопероксидаза, %	61,2 \pm 7,2	92,8 \pm 3,3	$p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$
IgM, г/л	0,91 \pm 0,3	1,12 \pm 0,5	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgA, г/л	0,67 \pm 0,2	0,86 \pm 0,4	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgG, г/л	8,81 \pm 1,2	7,94 \pm 1,1	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgE, МЕ/мл	26,11 \pm 5,4	19,83 \pm 4,6	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgG1, г/л	5,1 \pm 2,2	5,7 \pm 3,5	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgG2, г/л	1,8 \pm 0,9	1,6 \pm 0,7	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgG3, г/л	0,8 \pm 0,4	0,6 \pm 0,4	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$
IgG4, г/л	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,09	$p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$

NK- и NKT-клетки – это миноритарные субпопуляции лимфоцитов, которые крайне важны в осуществлении противовирусного и антиопухолевого иммунитета, что в значительной мере может объяснить избирательное нарушение противовирусной резистентности у детей исследуемой группы, равно как и повышенную склонность к развитию неоплазий, причем преимущественно – вирус-индуцированных форм онкологической патологии, у пациентов с первичным дефицитом ферментов фолатного цикла [60] и аутизмом [13]. Помимо этого, дефицит NK- и NKT-клеток ассоциирован с повышенной склонностью к развитию аутоиммунных осложнений [51] и гиперчувствительности замед-

ленного типа [35], что согласуется с неоднократно зафиксированным феноменом аномально повышенной продукции аутоантител к мозговым антигенам [10] и непереносимости многих пищевых аллергенов [29] у детей с аутистическим спектром. Дефицит НК- и НКТ-клеток также объясняет частое развитие побочных эффектов после вакцинаций, особенно – при введении живой аттенуированной вакцины против кори, краснухи и эпидемического паротита [26].

Как известно, НК-клетки осуществляют противовирусный и противоопухолевый ответ за счет реакций спонтанной и антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности, а НКТ-клетки отбирают мишени, используя инвариантный рецептор, взаимодействующий с некоторыми неклассическими молекулами гистосовместимости, включая антиген CD1. Хотя у НК- и НКТ-лимфоцитов есть некоторые дублирующие функции, значение НК-клеток в противовирусном иммунитете представляется гораздо более важным, чем НКТ-лимфоцитов. В то же время, последние оказывают более выраженные иммунорегуляторные влияния, например за счет продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10, что необходимо для профилактики аутоиммунитета и аллергии.

Дефицит НК- и/или НКТ-клеток отмечался среди участников исследуемой группы в 91% случаев, т.е. являлась специфическим признаком, в то время как среди здоровых детей контрольной группы признаки аналогичного иммунологического фенотипа имели место лишь в 27% случаев, причем обычно регистрировалось незначительное снижение количества клеток ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$).

Помимо этого, гораздо реже среди детей с аутистическим спектром отмечались другие нарушения иммунного статуса: снижение количества CD8+ Т-лимфоцитов (23%), CD4+ Т-клеток (12%), CD19+ В-лимфоцитов (9% случаев), хотя достоверных отличий от КГ получено не было. Таким образом, только в 23% случаев был тотальный дефицит всех основных противовирусных субпопуляций лимфоцитов: Т-киллеров, естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов, причем именно у таких детей отмечалась наибольшая вирусная нагрузка на момент вступления в исследование. Преимущественно имел место избирательный дефицит противовирусных клеток врожденного иммунитета, а количество CD8+ Т-лимфоцитов нередко оказывалось компенсаторно повышенным, что способствовало некоторому уменьшению вирусной нагрузки на организм ребенка. Поэтому среднее количество CD8+ Т-лимфоцитов в периферической крови детей ИГ хотя и оказалось несколько сниженным, однако достоверно не отличалось от такового в КГ ($p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$). Такую форму иммунодефицита можно было легко идентифицировать в общем анализе крови, зафиксировав ано-

мально малое количество клеток с фенотипом больших гранулярных лимфоцитов.

Только у каждого десятого участника исследуемой группы было тотальное снижение всех исследуемых субпопуляций лимфоцитов, что отражалось в виде лимфопении в общем анализе крови.

Нарушения отмечались и в гуморальном звене иммунитета. Дисиммуноглобулинемия, включающая изолированные и комбинированные дефициты отдельных классов и субклассов иммуноглобулинов, выявлена в 43% случаев, однако чаще всего была неглубокой и носила транзиторный характер. Гипоиммуноглобулинемия зарегистрирована лишь в 17% случаев. Достоверных отличий с данными КГ не обнаружено.

Дефицит миелопероксидазы фагоцитов периферической крови среди детей ИГ отмечался в 35% случаев и комбинировался с нарушениями в других звеньях иммунитета в варибельной манере (рис. 6), причем отмечались достоверные отличия с КГ ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Это нарушение обычно было стойким, как и дефицит киллерных клеток врожденного иммунитета.

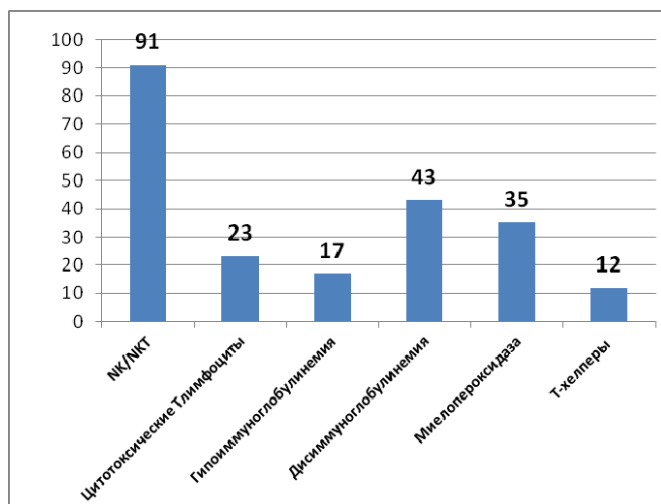


Рис. 6. Структура нарушений в иммунном статусе у детей с генетически детерминированным нарушением фолатного цикла (n=78)

На основании данных анализа иммунного статуса можно выделить основные иммунологические фенотипы у детей с генетически детерминированным дефицитом фолатного цикла. Основным иммунологиче-

ским фенотипом был дефицит противовирусного звена врожденного иммунитета: дефицит NK- и/или NKT-клеток. Этот фенотип отмечался почти у всех детей исследуемой группы. В 62% таких случаев отмечалось резкое снижение количества лимфоцитов обеих субпопуляций. Изолированные дефициты NK- и NKT-клеток отмечались редко – в 13% и 16% случаев соответственно, а тотальный дефицит противовирусных клеток врожденного и адаптивного иммунитета, как указывалось выше, выявлялся лишь в 23% случаев, т.е. реже, чем у каждого третьего ребенка (рис. 7). Однако именно у таких детей обычно отмечалась наиболее высокая вирусная нагрузка на организм и чаще отмечались эпизоды перенесенных органических поражений. Уровень снижения количества CD8+ Т-лимфоцитов в периферической крови обычно был меньшим, чем таковой у NK- и NKT-клеток, а содержание Т-киллеров нормализовывалось под влиянием терапевтических вмешательств раньше, чем киллерных клеток врожденного иммунитета.

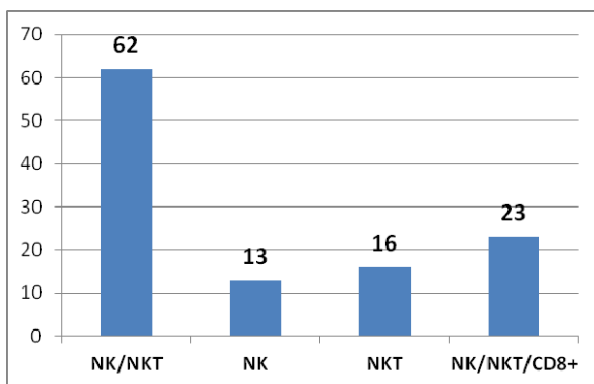


Рис. 7. Структура нарушений противовирусного иммунитета у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла (n=78)

Результаты расчета критерия хи-квадрат для оценки связи между наличием полиморфизмов генов фолатного цикла и нарушением показателей иммунного статуса у пациентов ИГ и КГ приведены в табл. 2. Как видно из данных табл. 2, дефицит NK и NKT-клеток были тесно ассоциированы с наличием полиморфизмов в генах ферментов фолатного цикла ($p=0,01$; $\alpha=0,05$; табл. 2, 3). Ранее о сниженной активности естественных киллеров у детей с аутистическим спектром сообщили Wapen R.P. с соавт. в результатах исследования 1987 года. Дефицит естественных киллеров отмечался у 12 из 31 участников испытания [55]. Недавно

Vojdani A. с соавт. обнаружили сниженную активность НК-клеток в 45% случаев среди 1027 детей с аутизмом и расстройствами аутистического спектра, причем функциональное расстройство нередко комбинировалось с количественным [53]. Позже Enstrom A.M. с соавт. подробнее охарактеризовали нарушение функциональной активности естественных киллеров у детей с аутистическим спектром. Отмечалась аномально повышенная спонтанная продукция перфорина, гранзима В и провоспалительных цитокинов, включая интерферон-гамма ($p < 0,01$), однако имела место резко сниженная цитотоксичность по отношению к клеткам K562 при сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$) [17]. Torres A.R. с соавт. в контролируемом исследовании показали аномально повышенную экспрессию киллинг-активирующего рецептора естественных киллеров 2DS1 и связанного лиганда HLA-C2 у детей с аутистическими расстройствами, что углубило понимание механизма усиления провоспалительного потенциала НК-клеток в таких случаях [47]. Тем не менее, по результатам работы Ashwood P. с соавт. у детей с фенотипом классического аутизма с тяжелыми нейропсихиатрическими проявлениями, в отличие от расстройств аутистического спектра, количество НК-клеток оказалось на 40% выше, чем у здоровых пациентов [3].

Табл. 2

**Результаты расчета критерия хи-квадрат показателей
иммунного статуса при сравнении пациентов исследуемой (n=78)
и контрольной (n=34) групп**

Дефицит клетки/фактора	N ИГ	N КГ	χ^2	χ^2 при $p=0,05$	χ^2 при $p=0,01$	Статистическая значимость
НК и/или НКТ-клетки	71	9	51,1	3,841	6,635	$p=0,01$
НК+ НКТ	48	4	29,69	3,841	6,635	$p=0,01$
НК-клетки	58	7	37,69	3,841	6,635	$p=0,01$
НКТ-клетки	62	6	38,01	3,841	6,635	$p=0,01$
CD8+ Т-лимфоциты	18	4	2,14	3,841	6,635	Статистически не значимо
CD4+ Т-лимфоциты	9	5	0,22	3,841	6,635	Статистически не значимо
CD19+ В-лимфоциты	7	5	0,18	3,841	6,635	Статистически не значимо
Миелопероксидаза	27	4	6,43	3,841	6,635	$p=0,05$
Гипоиммуноглобулинемия	13	6	0,02	3,841	6,635	Статистически не значимо
Дисиммуноглобулинемия	33	21	3,58	3,841	6,635	Статистически не значимо

Также продемонстрирована менее выраженная, но статистически значимая связь изучаемых генетических нарушений с дефицитом микробийного фермента фагоцитов миелопероксидазы ($p=0,05$). Russo A.J. с соавт. в контролируемом клиническом испытании показали, что дефицит миелопероксидазы является специфическим признаком детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с персистирующими гастроинтестинальными симптомами [41]. Близкой к статистически значимой была связь дефицитом CD8+ Т-лимфоцитов, однако нам не удалось статистически подтвердить такую ассоциацию, хотя о ней сообщали ранее в научных публикациях [57].

Табл. 3

Результаты измерения отношения шансов и 95% доверительного интервала показателей иммунного статуса у пациентов групп наблюдения

Дефицит клетки/фактора	Н ИГ	Н КГ	OR	95% CI
NK и/или NKT-клетки	71	9	28,17	7,85-56,82*
NK+ NKT	48	4	12,0	3,93-36,29*
NK-клетки	58	7	11,18	4,34-28,50*
NKT-клетки	62	6	18,08	6,42-50,41*
CD8+ Т-лимфоциты	18	4	2,25	0,70-7,17
Миелопероксидаза	27	4	3,97	1,27-12,42*

Примечание. * – $\alpha=0,05$.

Тем не менее, изолированный дефицит клеток-киллеров имел место в 19% случаев, так как более, чем у половины участников исследуемой группы, отмечался расширенный иммунологический фенотип (54%), при котором наряду с выраженным и стойким дефицитом NK- и NKT-клеток отмечались менее глубокие и преимущественно транзиторные нарушения в других звеньях иммунитета, а именно – дефицит CD8+ Т-лимфоцитов, различные виды дисиммуноглобулинемии и дефицит миелопероксидазы фагоцитов. За счет подобных комбинаций могла видоизменяться клиническая картина инфекционного синдрома. При дефиците NK- и NKT-клеток снижается резистентность преимущественно к внутриклеточным микроорганизмам, что предопределяет развитие оппортунистических вирусных инфекций и поражений, вызванных некоторыми другими внутриклеточными микроорганизмами. Дефицит NK- и NKT-лимфоцитов у пациентов с дефицитом фолатного цикла объясняет микробиологический паттерн в подгруппе детей с аутистическим спектром, выделенной Binstock T. в 2001 году. Автор отметил, что у

многих детей с аутизмом отмечается избирательное развитие инфекций, вызванных интрамонокитарными патогенами, включая вирус кори, цитомегаловирус, герпесвирус 6 типа, *Yersinia enterocolitica* [7]. В случае присоединения дисиммуноглобулинемии у детей ИГ дополнительно регистрировались рецидивирующие пиогенные бактериальные инфекции верхних дыхательных путей, чаще всего – вызванные *Str. pyogenes*, пневмококком и золотистым стафилококком. Ранее *Yonouchi H.* с соавт. сообщили о повышенной частоте стрептококковых инфекций в подгруппе пациентов с аутистическим спектром и связали этот феномен с выявленным дефицитом специфических иммуноглобулинов к возбудителям [27]. В то же время, при дефиците миелопероксидазы у детей ИГ имели место эпизоды рецидивирующего кандидоза, что согласуется с современными представлениями о типичной клинической картине этого фагоцитарного нарушения [41].

В случае комбинации дефицита NK- и NKT-клеток с гипои́ммуноглобулинемией отмечался фенотип общего вариабельного иммунодефицита (17% случаев), причем у таких детей отмечались в анамнезе эпизоды глубоких бактериальных инфекций, включая пневмонию, пиелонефрит и септицемию. По-видимому, эти пациенты требовали применения в/в иммуноглобулина с заместительной целью по иммунологическим показаниям. Катамнестическое наблюдение показывает, что феномен гипои́ммуноглобулинемии устранялся на протяжении последующих 3-5 лет, сокращаясь до дефицита отдельных классов/субклассов иммуноглобулинов или исчезая вовсе, обнажая тем самым изолированный дефицит NK/NKT-клеток.

Необходимо подчеркнуть, что в каждом десятом случае регистрировался фенотип, напоминающий тяжелый комбинированный иммунодефицит, за счет наложения глубокой лимфопении и гипо- или дисиммуноглобулинемии (рис. 8), однако этот фенотип, в отличие от истинного тяжелого комбинированного иммунодефицита, обычно регрессировал на протяжении 1-2 лет катамнестического наблюдения, сокращаясь до глубины общего вариабельного иммунодефицита или даже изолированного дефицита NK/NKT-клеток. У таких детей отмечались эпизоды врожденной цитомегаловирусной инфекции с грубыми пороками развития нервной системы или постнатальные эпизоды вирусных энцефалитов с тяжелыми или умеренными резидуальными симптомами. Это были дети, которым выставляли диагноз детского церебрального паралича, хотя при более глубоком анализе у них также обнаруживались признаки расстройств аутистического спектра. Как правило, в их геноме находилось сразу 4 полиморфизма генов фолатного цикла. Ранее была выделена и охарактеризована подгруппа пациентов с аутистиче-

ским спектром и признаками врожденной цитомегаловирусной инфекции и/или эпизодами постнатальных вирусных энцефалитов [16, 20, 25], однако не было предложено исчерпывающего объяснения происхождения указанной ассоциации. Также в более ранних исследованиях показана связь фенотипа тяжелого комбинированного иммунодефицита с некоторыми синдромами нарушения психики, отмечающимися у детей с аутизмом, включая дефицит внимания и гиперактивность [45].

Анализ динамики фенотипов общего вариабельного иммунодефицита и тяжелого комбинированного иммунодефицита, а также результаты статистического анализа изученных иммунологических показателей у детей с расстройствами спектра аутизма, ассоциированными с генетическим дефицитом фолатного цикла, позволяют заключить, что генетическое нарушение ферментов цикла фолевой кислоты не оказывает специфического стойкого отрицательного влияния на антителообразование, В- и Т-лимфоциты, хотя может приводить к задержанному развитию гуморального и клеточного звена адаптивного иммунитета у некоторых детей, что обычно сопряжено с более тяжелым, маргинальным клиническим течением болезни. В то же время, нарушения со стороны врожденного иммунитета, включая NK-, NKT-клетки и миелопероксидазу фагоцитов, более типичны, стойки и глубоки. Именно эти нарушения и определяют характерный широкий, но умеренный по тяжести клинический фенотип иммунозависимый осложнений у таких детей.

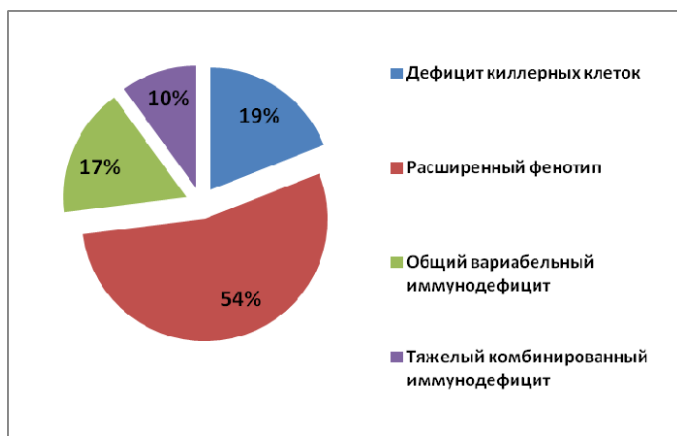


Рис. 8. Структура иммунологических фенотипов у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла (n=78)

Все эти данные позволяют нам прийти к выводу, что генетический дефицит фолатного цикла приводит к развитию особой формы первичного иммунодефицита с переменным иммунологическим фенотипом, но преимущественным вовлечением NK- и NKT-клеток, что предопределяет резкое снижение резистентности к внутриклеточным микроорганизмам и опухолям, признаки системного воспаления и иммуновоспалительного энтероколита, склонность к развитию противомозгового аутоиммунитета и реакций гиперчувствительности замедленного типа к пищевым антигенам. Мы предлагаем этот новый первичный иммунодефицит называть как *иммунодефицит, ассоциированный с генетическим нарушением фолатного цикла*.

Попытки поиска генетически детерминированной патологии иммунной системы при аутизма предпринимались и ранее. Так, Ramos P.S. с соавт. продемонстрировали связь расстройств спектра аутизма у детей с нарушениями некоторых иммунных генов, в частности – CD99L2, JARID2 и TPO [39]. Кроме того, неоднократно сообщалось об обнаружении различных форм иммунодефицитов неуточненного происхождения у детей с аутистическим спектром. Так, Santaella M.L. с соавт. показали, что избирательный дефицит IgA встречается среди пациентов с расстройствами аутистического спектра в 10,3 %, тогда как в контрольной группе здоровых детей – лишь в 1,6 % случаев [43]. В соответствии с этим, Warren R.P. с соавт. показали тесную связь изолированного дефицита IgA и аутистического спектра у детей, выделив отдельную подгруппу пациентов с аутизмом, страдающую этим гуморальным иммунодефицитом [56]. Wasilewska J. с соавт. выявили аномально низкую сывороточную концентрацию IgA и резко повышенную экспрессию молекулы CD23 на поверхности В-лимфоцитов периферической крови у детей с признаками регрессивного аутизма в возрасте 3-6 лет [58].

Russo A.J. с соавт. продемонстрировали тесную связь между расстройствами аутистического спектра и дефицитом миелопероксидазы нейтрофилов [41]. Reinert P. с соавт. описали 20 случаев коревого подострого склерозирующего энцефалита с прогрессирующими психическими нарушениями у пациентов, страдающих избирательным клеточным дефицитом к вирусу кори [40]. Неоднократно сообщали об ассоциации аутизма с изолированным дефицитом субклассов IgG и неклассифицированной гипои иммуноглобулинемией [23]. Warren R.P. с соавт. (1994) описали связь аутистических расстройств с дефицитом компонента комплемента C4b [54]. Аутистические черты описаны при таких первичных иммунодефицитах как общий переменный иммунодефицит [42], дефицит молекул адгезии II типа [19], атаксия-телеангиэктазия

[52], синдром Ди Джорджи [44], канналопатия CaV1.2 [30], гипер-IgE-синдром [22].

Yuonouchi H. с соавт. показали ассоциацию расстройств аутистического спектра у детей с избирательным дефицитом специфических антиполисахаридных антител и дисфункцией моноцитов [27]. В соответствии с этим, Whiteley P. продемонстрировал повышенную частоту стрептококковых инфекций, включая импетиго, в раннем возрасте у детей с расстройствами аутистического спектра [59]. Известна также ассоциация PANDAS и синдрома Туретта с избирательным дефицитом IgA [28], а рефрактерных эпилепсий у детей – с дефицитами субклассов IgG [37]. В свете выявленных нами иммунологических данных, представляется очевидным, что, по крайней мере в части представленных случаев, указанные иммунные нарушения были лишь фрагментами более широкого фенотипа первичного иммунодефицита, ассоциированного с генетическими нарушениями фолатного цикла.

Накоплены доказательства, что имеющиеся нарушения иммунитета – не просто свидетель патологического процесса при аутизме, но и активный участник патогенеза, так как именно нарушениями иммунного статуса можно объяснить ряд хорошо известных особенностей детей с расстройствами спектра аутизма, включая аномально низкую резистентность к ряду оппортунистических внутриклеточных микроорганизмов, склонность к генерации аллергических и аутоиммунных осложнений и плохую переносимость живых вакцин. Имеются доказательства, что иммунодефицит напрямую влияет на развитие аутизма, тяжесть и динамику психических нарушений. Так, Heuer L. с соавт. в специально спланированном исследовании установили, что степень редукции уровней основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови тесно коррелирует с тяжестью аутистических расстройств психики у детей [24]. Согласно результатам исследования Grether J.K. с соавт., аномально низкая концентрация IgG в сыворотке крови новорожденного является независимым фактором риска развития расстройств аутистического спектра в будущем [21].

Ранее в экспериментальных и клинических исследованиях сообщали про разнообразные нарушения иммунного статуса у пациентов с верифицированным дефицитом фолиевой кислоты и фолатного цикла. Так, van der Weyden M.B. с соавт. установили угнетение метаболизма лимфоцитов при фолатном дефиците, включающее нарушение деоксинуклеотидного метаболизма и тимидилатного цикла [50]. Partearroyo T. с соавт. показали, что дисбаланс фолиевой кислоты и витамина B12 нарушают цитотоксичность естественных киллеров, и активность В-лимфоцитов и лимфопрлиферацию [36]. Courtemanche C. с соавт. про-

демонстрировали, что фолатный дефицит приводит к угнетению пролиферации первичных CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов [12]. Abe I. с соавт. показали, что дефицит фолиевой кислоты приводит к уменьшению количества естественных киллеров, Т-лимфоцитов и В-клеток, но не базофилов и гранулоцитов [1]. Troen A.M. с соавт. установили, что неметаболизированная фолиевая кислота в сыворотке крови приводит к угнетению цитотоксичности естественных киллеров у женщин в постменопаузальный период [49]. A Bhatnagar N. с соавт. описали панцитопению при тяжелом фолатном дефиците [6]. Все эти разрозненные и несистематизированные данные являются отражением настойчивых попыток идентификации специфической иммунной дисфункции при фолатном дефиците. Наши результаты согласуются с накопленными ранее доказательствами о существовании первичного иммунодефицита с преимущественным поражением врожденного иммунитета с вовлечением киллерных клеток и миелопероксидазы вследствие генетического дефицита фолатного цикла.

Выводы. Таким образом, есть основания выделить новую форму первичного иммунодефицита – иммунодефицит, ассоциированный с генетическим нарушением фолатного цикла. Эта иммунная дисфункция имеет вариабельный иммунологический фенотип, однако дефицит НК- и НКТ-клеток является наиболее типичным признаком болезни. Повидимому, именно эти клетки наиболее чувствительны к метаболическому дефекту, опосредованному полиморфизмами генов фолатного цикла. Также в генезе иммунодефицита может иметь значение нарушение метилирования ДНК как механизма регуляции экспрессии генов, который оказывается нарушенным при поломках в фолатном цикле. Преимущественное вовлечение НК- и НКТ-клеток предопределяет избирательное и резкое снижение резистентности к внутриклеточным микроорганизмам, включая оппортунистические и аттенуированные вирусы, склонность к индукции аутоиммунных реакций и гиперчувствительности замедленного типа. По сути, данный иммунодефицит позволяет объяснить ключевые особенности клинико-лабораторного фенотипа многих детей с аутистическим спектром, для которого характерны аномальная микробная нагрузка, вызванная преимущественно интрацеллюлярными патогенами, разнообразные отклонения в иммунном статусе, плохая переносимость вакцин, аномально высокая продукция антимозговых аутоантител и развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, например, к пищевым антигенам. Иммунодефицит позволяет объединить в общий фенотип на первый взгляд разрозненные синдромы, которые часто последовательно или одновременно развиваются у детей с аутистическим спектром, включая инфекционные поражения,

лейкоэнцефалопатию, PANDAS, височную медианную эпилепсию, аллергию и кишечные нарушения. Хотя, по-видимому, имеются и прямые метаболические воздействия, многие клинические проявления, отмечающиеся у детей с дефицитом фолатного цикла, связаны не с прямым токсическим воздействием гомоцистеина и других продуктов на нервные клетки, а с развитием иммунозависимых осложнений, опосредованных иммунодефицитом, включая нейроинфекционные поражения и индукцию аутоиммунных реакций к антигенам нервной ткани.

Ранее установлена связь полиморфизмов генов фолатного цикла с некоторыми аутоиммунными болезнями, в патогенезе которых преобладают клеточные иммунопатологические реакции, включая рассеянный склероз [32] и ревматоидный артрит [15]. Важен факт, что эти же аутоиммунные поражения преобладают у пациентов с первичными дефицитами НК- и НКТ-клеток [35, 51]. Кроме того, выявлена связь полиморфизмов генов фолатного цикла [60], равно как и самого аутизма [13], со злокачественными новообразованиями, которые являются, как известно, характерными проявлениями первичных дефицитов НК- и НКТ-клеток из-за снижения противоопухолевого иммунного надзора. Таким образом, полученные данные позволяют найти недостающее звено в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и неопластических поражений у пациентов с генетическим дефицитом фолатного цикла, которым является первичный иммунодефицит, связанный с преимущественным поражением киллерных клеток врожденного иммунитета.

На данный момент известен другой иммунодефицит, при котором метаболический дефект присутствует во всех клетках организма, однако клинически значимое нарушение формируется лишь в некоторых субпопуляциях лимфоцитов, что предопределяет развитие именно иммунной дисфункции, а не классической метаболической генетической болезни. Речь идет о первичном дефиците аденозиндезаминазы, при котором развивается избирательный дефицит Т-лимфоцитов, хотя мутантный ген экспрессируется во многих клетках организма человека [5].

Кроме этого, уже известен и хорошо охарактеризован первичный иммунодефицит, вызванный не классическими менделевскими мутациями, а полиморфизмами гена, кодирующего компонент иммунной системы. Так, при наследственном дефиците маннозосвязывающего лектина имеют место комбинации полиморфизмов структурных генов и промоторного участка, которые приводят к аномально слабой выработке указанного фактора иммунитета. В клинической картине этого иммунодефицита также преобладают инфекционные, аллергические, аутоиммунные, онкологические и нейропсихиатрические поражения, которые очень напоминают таковые при дефиците фолатного цикла [14].

Таким образом, в клинической иммунологии уже описаны и изучены похожие формы первичных иммунодефицитов, которые позволяют легче понять природу новой иммунодефицитной болезни, связанной с генетически детерминированным нарушением деятельности ферментов фолатного цикла.

Следует указать, что с генетическим дефицитом фолатного цикла сегодня связывают и некоторые другие нарушения психики, включая большую депрессию, биполярное расстройство и шизофрению. Полученные нами данные позволяют предположить иммунозависимый компонент патогенеза в таких случаях.

Список литературы

1. Abe I., Shirato K., Hashizume Y. Folate-deficiency induced cell-specific changes in the distribution of lymphocytes and granulocytes in rats // *Environ Health Prev. Med.* – 2013. – Vol. 18(1). – P. 78–84.
2. Al-Ayadhi L.Y., Elamin N.E. Camel Milk as a Potential Therapy as an Antioxidant in Autism Spectrum Disorder (ASD) // *Evid. Basd. Complement. Alternat. Med.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 602834.
3. Ashwood P., Corbett B.A., Kantor A. et al. In search of cellular immunophenotypes in the blood of children with autism // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6(5). – e19299.
4. Atladóttir H.O., Thorsen P., Østergaard L. et al. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2010. – Vol. 40(12). – P. 1423–1430.
5. Baffelli R., Notarangelo L.D., Imberti L. et al. Diagnosis, Treatment and Long-Term Follow Up of Patients with ADA Deficiency: a Single-Center Experience // *J. Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 35(7). – P. 624–637.
6. Bhatnagar N., Wechalekar A., McNamara C. Pancytopenia due to severe folate deficiency // *Intern. Med. J.* – 2012. – Vol. 42(9). – P. 1063–1064.
7. Binstock T. Intra-monocyte pathogens delineate autism subgroups // *Med. Hypotheses.* – 2001. – Vol. 56(4). – P. 523–531.
8. Bradstreet J., Singh V.K., El-Dahr J. High dose intravenous immunoglobulin improves symptoms in children with autism // *The international symposium on autism.* – Dec. 28., 1999. – Athnem, Netherlands.
9. Bradstreet J.J., Sych N., Antonucci N. et al. Efficacy of fetal stem cell transplantation in autism spectrum disorders: an open-labeled pilot study // *Cell. Transplant.* – 2014. – Vol. 23(1). – S105–112.
10. Brimberg L., Sadiq A., Gregersen P.K., Diamond B. Brain-reactive IgG correlates with autoimmunity in mothers of a child with an autism spectrum disorder // *Mol. Psychiatry.* – 2013. – Vol. 18(11). – P. 1171–1177.
11. Buitelaar J.K., Dekker M.E., van Ree J.M., van Engeland H. A controlled trial with ORG 2766, an ACTH-(4-9) analog, in 50 relatively able children with autism // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 1996. – Vol. 6(1). – P. 13–19.

12. Courtemanche C., Elson-Schwab I., Mashiyama S.T. Folate deficiency inhibits the proliferation of primary human CD8+ T lymphocytes in vitro // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173(5). – P. 3186–3192.
13. Crawley J.N., Heyer W.D., LaSalle J.M. Autism and Cancer Share Risk Genes, Pathways, and Drug Targets // *Trends Genet.* – 2016. Jan 29. [Epub ahead of print].
14. Darton T.C., Jack D.L., Johnson M. et al. MBL2 deficiency is associated with higher genomic bacterial loads during meningococemia in young children // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2014. – Vol. 20(12). – P. 1337–1342.
15. Dimitroulas T., Sandoo A., Hodson J. et al. Associations between asymmetric dimethylarginine, homocysteine, and the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism (rs1801133) in rheumatoid arthritis // *Scand. J. Rheumatol.* – 2015. [Epub ahead of print].
16. Engman M.L., Sundin M., Miniscalco C. Prenatal acquired cytomegalovirus infection should be considered in children with autism // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol. 104(8). – P. 792–795.
17. Enstrom A.M., Lit L., Onore C.E. et al. Altered gene expression and function of peripheral blood natural killer cells in children with autism // *Brain. Behav. Immun.* – 2009. – Vol. 23(1). – P. 124–133.
18. Frye R.E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder // *Epilepsy Behav.* – 2015. – Vol. 47. – P. 147–157.
19. Gazit Y., Mory A., Etzioni A. et al. Leukocyte adhesion deficiency type II: long-term follow-up and review of the literature // *J. Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 30(2). – P. 308–313.
20. Ghaziuddin M., Tsai L.Y., Eilers L., Ghaziuddin N. Brief report: autism and herpes simplex encephalitis // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1992. – Vol. 22(1). – P. 107–113.
21. Grether J.K., Croen L.A., Anderson M.C. et al. Neonatally measured immunoglobulins and risk of autism // *Autism. Res.* – 2010. – Vol. 3(6). – P. 323–332.
22. Grimbacher B., Dutra A.S., Holland S.M. et al. Analphoid marker chromosome in a patient with hyper-IgE syndrome, autism, and mild mental retardation // *Genet. Med.* – 1999. – Vol. 1(5). – P. 213–218.
23. Gupta S., Samra D., Agrawal S. Adaptive and Innate Immune Responses in Autism: Rationale for Therapeutic Use of Intravenous Immunoglobulin // *J. Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 30(1). – S. 90–96.
24. Heuer L., Ashwood P., Schauer J. et al. Reduced Levels of Immunoglobulin in Children With Autism Correlates With Behavioral Symptoms // *Autism. Res.* – 2008. – Vol. 1(5). – P. 275–283.
25. Hiroshi H., Seiji K., Toshihiro K., Nobuo K. An adult case suspected of recurrent measles encephalitis with psychiatric symptoms // *Seishin Shinkeigaku Zasshi.* – 2003. – Vol. 105(10). – P. 1239–1246.
26. Jefferson T., Price D., Demicheli V. et al. Unintended events following immunization with MMR: a systematic review // *Vaccine.* – 2003. – Vol. 21(25-26). – P. 3954–3960.

27. Jyonouchi H., Geng L., Streck D.L., Toruner G.A. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study // *J. Neuroinflammation*. – 2012. – Vol. 9. – P. 4.
28. Kawikova I., Grady B.P., Tobiasova Z. et al. Children with Tourette's syndrome may suffer immunoglobulin A dysgammaglobulinemia: preliminary report // *Biol. Psychiatry*. – 2010. – Vol. 67(7). – P. 679–683.
29. Lau N.M., Green P.H., Taylor A.K. et al. Markers of Celiac Disease and Gluten Sensitivity in Children with Autism // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8(6). – e66155.
30. Liao P., Soong T.W. CaV1.2 channelopathies: from arrhythmias to autism, bipolar disorder, and immunodeficiency // *Pflugers Arch*. – 2010. – Vol. 460(2). – P. 353–359.
31. Masi A., Quintana D.S., Glozier N. et al. Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis // *Mol. Psychiatry*. – 2015. – Vol.20(4). – P. 440–446.
32. Naghibalhossaini F., Ehyakonandeh H., Nikseresht A., Kamali E. Association Between MTHFR Genetic Variants and Multiple Sclerosis in a Southern Iranian Population // *Int. J. Mol. Cell. Med*. – 2015. – Vol. 4(2). – P. 87–93.
33. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for *Mycoplasma* ssp., *Chlamydia pneumoniae*, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res*. – 2007. – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.
34. Noriega D.B., Savelkoul H.F. Immune dysregulation in autism spectrum disorder // *Eur. J. Pediatr*. – 2014. – Vol. 173(1). – P. 33–43.
35. O'Keefe J., Gately C.M., Counihan T. et al. T-cells expressing natural killer (NK) receptors are altered in multiple sclerosis and responses to alpha-galactosylceramide are impaired // *J. Neurol. Sci*. – 2008. – Vol. 275(1-2). – P. 22–28.
36. Partearroyo T., Úbeda N., Montero A. Vitamin B(12) and folic acid imbalance modifies NK cytotoxicity, lymphocytes B and lymphoproliferation in aged rats // *Nutrients*. – 2013. – Vol. 5(12). – P. 4836–4848.
37. Plebani A., Duse M., Tiberti S. Intravenous gamma-globulin therapy and serum IgG subclass levels in intractable childhood epilepsy // *Monogr. Allergy*. – 1988. – Vol. 23. – P. 204–215.
38. Puangpetch A., Suwannarat P., Chamnanphol M. et al. Significant Association of HLA-B Alleles and Genotypes in Thai Children with Autism Spectrum Disorders: A Case-Control Study // *Dis. Markers*. 2015. – Vol. 2015. – P. 724935.
39. Ramos P.S., Sajuthi S., Langefeld C.D., Walker S.J. Immune function genes CD99L2, JARID2 and TPO show association with autism spectrum disorder // *Mol. Autism*. – 2012. – Vol. 3(1). – P. 4.
40. Reinert P., Moulias R., Goust J.M. Demonstration of cellular immunity deficiency limited to measles virus in 20 cases of subacute sclerosing leukoencephalitis // *Arch. Fr. Pediatr*. – 1972. – Vol. 29(6). – P. 655–665.

41. Russo A.J., Krigsman A., Jepson B., Wakefield A. Low serum myeloperoxidase in autistic children with gastrointestinal disease // *Clinical and Experimental Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 2. – P. 85–94.
42. Salehi Sadaghiani M., Aghamohammadi A., Ashrafi M.R. et al. Autism in a child with common variable immunodeficiency // *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* – 2013. – Vol. 12(3). – P. 287–289.
43. Santaella M.L., Varela Y., Linares N., Disdier O.M. Prevalence of autism spectrum disorders in relatives of patients with selective immunoglobulin A deficiency // *P. R. Health. Sci J.* – 2008. – Vol. 27(3). – P. 204–208.
44. Shin S., Yu N., Choi J.R. et al. Routine chromosomal microarray analysis is necessary in Korean patients with unexplained developmental delay/mental retardation/autism spectrum disorder // *Ann. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 35(5). – P. 510–518.
45. Shiow L.R., Paris K., Akana M.C. et al. Severe combined immunodeficiency (SCID) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) associated with a Coronin-1A mutation and a chromosome 16p11.2 deletion // *Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 131(1). – P. 24–30.
46. Sperner-Unterweger B. Immunological aetiology of major psychiatric disorders: evidence and therapeutic implications // *Drugs*. – 2005. – Vol. 65(11). – P. 1493–1520.
47. Torres A.R., Westover J.B., Gibbons C. et al. Activating killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIR) and their cognate HLA ligands are significantly increased in autism // *Brain. Behav. Immun.* – 2012. – Vol. 26(7). – P. 1122–1227.
48. Trauner D. Developmental aphasia with epileptiform abnormalities on EEG: clinical features and response to Prednisone // *Ann. Neurol.* – 2002. – Vol. 52. – P. 66–67.
49. Troen A.M., Mitchell B., Sorensen B. Unmetabolized folic acid in plasma is associated with reduced natural killer cell cytotoxicity among postmenopausal women // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136(1). – P. 189–194.
50. Van der Weyden M.B., Hayman R.J. et al. Folate-deficient human lymphoblasts: changes in deoxynucleotide metabolism and thymidylate cycle activities // *Eur. J. Haematol.* – 1991. – Vol. 47(2). – P. 109–114.
51. Villanueva J., Lee S., Giannini E.H. et al. Natural killer cell dysfunction is a distinguishing feature of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophage activation syndrome // *Arthritis Res. Ther.* – 2005. – Vol. 7(1). – P. R30–37.
52. Vinck A., Verhagen M.M., Gerven Mv. Cognitive and speech-language performance in children with ataxia telangiectasia // *Dev. Neurorehabil.* – 2011. – Vol. 14(5). – P. 315–322.
53. Vojdani A., Mumper E., Granpeesheh D. et al. Low natural killer cell cytotoxic activity in autism: the role of glutathione, IL-2 and IL-15 // *J Neuroimmunol.* – 2008. – Vol. 205(1-2). – P. 148–154.
54. Warren R.P., Burger R.A., Odell D. et al. Decreased plasma concentrations of the C4B complement protein in autism // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – 1994. – Vol. 148(2). – P. 180–183.

55. Warren R.P., Margaretten N.C., Foster A. Reduced natural killer cell activity in autism // J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychol. – 1987. – Vol. 26. – P. 333–335.

56. Warren R.P., Odell J.D., Warren W.L. et al. Brief report: immunoglobulin A deficiency in a subset of autistic subjects // J. Autism. Dev. Disord. – 1997. – Vol. 27(2). – P. 187–192.

57. Warren R.P., Yonk L.J., Burger R.A. et al. Deficiency of suppressor inducer T cells in autism // Immunol. Invest. – 1990. Vol. 19. – P. 245–251.

58. Wasilewska J., Kaczmarek M., Stasiak-Barmuta A. et al. Low serum IgA and increased expression of CD23 on B lymphocytes in peripheral blood in children with regressive autism aged 3-6 years old // Arch. Med. Sci. – 2012. – Vol. 8(2). – P. 324–331.

59. Whiteley P. Developmental, behavioural and somatic factors in pervasive developmental disorders: preliminary analysis // Child Care Health Dev. – 2004. – Vol. 30(1). – P. 5–11.

60. Zhang X.F., Liu T., Li Y., Li S. Association between MTHFR 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms and breast cancer risk // Genet. Mol. Res. – 2015. – Vol. 14(4). – P. 16425–16430.

РЕЗЮМЕ

Оцінка імунного статусу у дітей з розладами аутистичного спектру, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу

Обґрунтування. Результати деяких досліджень вказують на асоціацію аутизму з генетичним дефіцитом ферментів фолатного циклу. У дітей з розладами аутистичного спектру неодноразово повідомляли про наявність ознак імунodefіциту та імунної дизрегуляції.

Мета дослідження: вивчити асоціацію генетичного дефіциту фолатного циклу з порушеннями різних показників імунного статусу у дітей з розладами спектру аутизму.

Матеріали та методи. Досліджувану групу (ДГ) склали 78 дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу і розладами аутистичного спектру. Контрольна група (КГ) була сформована 34 здоровими пацієнтами відповідної статі і віку. Всім учасникам проводилося комплексне імунологічне обстеження протягом періоду спостереження (2-5 років). Статистичний аналіз здійснювався за допомогою методу варіаційної статистики з розрахунком Т-критерію Стьюдента та непараметричного критерію числа знаків Z за Урбахом. Крім того, розраховували критерій хі-квадрат Пірсона, співвідношення шансів OR і 95% довірчий інтервал.

Результати та обговорення. Виявлено вірогідно меншу середню кількість NK- і NKT-клітин і мієлопероксидази в периферичній крові

дітей ДГ порівняно з КГ ($p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$). Продемонстровано зв'язок генетичного дефіциту фолатного циклу з вибіркоким дефіцитом НК- ($\chi^2 = 37,69$, $p = 0,01$; OR = 11,18, 95% CI = 4,34-28,50; $\alpha = 0,05$) і NKT-клітин ($\chi^2 = 38,01$, $p = 0,01$; OR = 18,08, 95% CI = 6,42-50,41; $\alpha = 0,05$) і мієлопероксидази ($\chi^2 = 6,43$, $p = 0,05$; OR = 3,97, 95% CI = 1,27-12,42; $\alpha = 0,05$). Виявлені порушення імунного статусу можуть пояснити походження добре відомого широкого клінічного фенотипу у дітей з аутистичним спектром, що включає аномально високе мікробне навантаження і низьку резистентність до внутрішньоклітинних збудників і стрептокока, продукцію аутоантитіл до мозкових антигенів, гіперчутливість до харчових алергенів, наявність ознак системного запалення, імунзапального коліту/ентероколіту і епілептичного синдрому, а також – підвищений ризик канцерогенезу.

Висновки. Ми констатуємо факт описання нової форми первинного імунodefіциту, асоційованого з генетичним порушенням ферментів фолатного циклу, з переважним залученням НК- і NKT-клітин.

Ключові слова: генетичний дефіцит фолатного циклу, аутистичний спектр, природні кілери, природні кілерні Т-клітини, мієлопероксидаза, первинний імунodefіцит.

ABSTRACT

Evaluation of the immune status in children with autism spectrum disorders associated with genetic folate cycle deficiency

Background. Some studies point to the association of autism with genetic deficiency of folate cycle enzymes. Children with autism spectrum disorders have repeatedly reported the presence of signs of immunodeficiency and immune dysregulation.

Objective: to study the association of genetic folate cycle deficiency with violations of various parameters of the immune status in children with autism spectrum disorders.

Materials and methods. Study group (SG) were 78 children with a genetic folate cycle deficiency and autism spectrum disorders. The control group (CG) was formed by 34 healthy patients the appropriate age and gender. All participants underwent a comprehensive immunological examination during the observation period (2-5 years). Statistical analysis was performed using the method of variation statistics with Student's T-test and non-parametric test of signs Z by Urbach. In addition, the calculated χ -squared Pearson criteria, odds ratio and 95% confidence interval.

Results and discussion. It was significantly lower average number of NK- and NKT-cells and myeloperoxidase in the peripheral blood of SG children compared to the CG ($p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$). A relationship of genetic folate cycle deficiency with selective deficiency of the NK- ($\chi^2 = 37,69$, $p = 0,01$; OR = 11,18, 95% CI = 4,34-28,50; $\alpha = 0,05$) and NKT-cells ($\chi^2 = 38,01$, $p = 0,01$; OR = 18,08, 95% CI = 6,42-50,41; $\alpha = 0,05$) and myeloperoxidase ($\chi^2 = 6,43$, $p = 0,05$; OR = 3,97, 95% CI = 1,27-12,42; $\alpha = 0,05$) was observed. Discovered violations of immune status may explain the origin of the well-known broad clinical phenotype in children with autistic spectrum disorders, including abnormally high microbial load and low resistance to intracellular infections and streptococcus, production of autoantibodies to brain antigens, hypersensitivity to food allergens, signs of systemic inflammation, immunoinflammatory colitis/enterocolitis and epileptic syndrome, as well as – an increased risk of carcinogenesis.

Conclusions. We described a new form of primary immunodeficiency associated with a genetic folate cycle disorder, with predominant involvement of NK- and NKT-cells.

Keywords: genetic folate cycle deficiency, autism spectrum disorder, natural killer cells, natural killer T cells, myeloperoxidase, primary immunodeficiency.

Эффективность высокодозовой в/в иммуноглобулинотерапии у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с генетическим дефицитом ферментов фолатного цикла

Вступление. На данный момент накоплены доказательства участия иммунных механизмов в патогенезе расстройств аутистического спектра у детей, что может открыть дорогу для апробации иммунотерапевтических вмешательств при этом тяжелом и распространенном недуге. Так, продемонстрирована связь расстройств аутистического спектра с некоторыми локусами гистосовместимости, подобно ряду аутоиммунных и аллергических синдромов [36]. У таких детей описаны различные формы первичных иммунодефицитов [23, 39, 37], а исследования, посвященные некоторым первичным иммунным дисфункциям, указывают на повышенный риск развития аутизма [40, 47, 48]. Имеются неединичные сообщения о появлении аутизма у взрослых и детей после перенесенных эпизодов нейроинфекций, преимущественно – оппортунистической природы [18, 22, 26]. У детей с расстройствами аутистического спектра выявляют разнообразные аутоантитела к мозговым антигенам, которые не отмечаются у здоровых лиц [8, 28, 43]. Более того, результаты ряда клинических испытаний указывают на пользу от применения иммунотерапии у некоторых пациентов с расстройствами аутистического спектра [13, 19, 30]. Все эти весомые аргументы заставляют обратить более пристальное внимание на роль иммунозависимых механизмов в патогенезе аутистических нарушений.

Тем не менее, до сих пор не уточнен механизм влияния иммуноглобулинотерапии при аутистическом спектре, так же как и не установлены подгруппы пациентов, которые являются потенциальными ответчиками на иммунотерапию. Нами недавно продемонстрирована тесная связь генетических расстройств фолатного цикла с аутистическим спектром у детей, о которой сообщали и другие исследователи [17]. Показано, что у таких детей имеется особая форма первичного иммунодефицита с варибельным фенотипом, ядро которого составляет дефицит естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов (рис. 1), что предопределяет избирательное снижение резистентности к вирусным агентам и склонность к генерации аутоиммунных и аллергических осложнений. Также продемонстрировано, что

основной формой поражения ЦНС при этом является лейкоэнцефалопатия, связанная, по-видимому, с задержкой миелинизации/демиелинизацией в белом веществе полушарий большого мозга и ассоциированной с реактивированными герпесвирусными инфекциями и аутоиммунизацией к мозговым антигенам. Есть основания полагать, что случаи аутизма при генетическом дефиците фолатного цикла - и есть та специфическая подгруппа, которая отвечает на в/в иммуноглобулинотерапию, что следует проверить в специально спланированном контролируемом клиническом испытании.

Цель исследования: оценить эффективность и безопасность высокодозовой иммуноглобулинотерапии при расстройствах аутистического спектра у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла.

Материалы и методы. В данном проспективном контролируемом одноцентровом нерандомизированном клиническом исследовании принимали участие 78 детей с диагнозом расстройств психики аутистического спектра и/или детского церебрального паралича. Диагноз выставляли психиатры областных больниц или профильных кафедр по критериям DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders) и ICD-10 (The International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems). Набор детей в исследуемую группу (ИГ) производился в период между 2010 и 2015 годами включительно. Это были пациенты из различных регионов Украины в возрасте от 2 до 10 лет, 47 мальчиков и 31 девочка. Этим детям назначали в/в иммуноглобулин в дозе 2 г/кг/мес на протяжении 6 месяцев подряд. Контрольную группу (КГ) составили 32 аналогичных ребенка с похожим возрастным и гендерным распределением. Эти пациенты не получали в/в иммуноглобулинотерапию, а проходили только конвенционные реабилитационные мероприятия, включающие работу с дефектологом, специально обученными педагогами и психиатрами. Динамику психических симптомов на протяжении исследования оценивали при помощи шкалы Aberrant Behavior Checklist (ABC) [1].

Выявление полиморфизмов генов фолатного цикла осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с рестрикционным анализом в трех центрах: Neurological Research Institute (USA), Харьковском специализированном медико-генетическом центре и коммерческой лаборатории г. Киева. Выявляли замены нуклеотидов MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G и MTR 2756 A>G в различных комбинациях в гомо- и гетерозиготном состоянии.

Всем участникам исследования проводилось серийное комплексное иммунологическое обследование в Институте иммунологии и аллергологии НМУ имени А.А. Богомольца, которое помимо общего анализа

крови, включало изучение субпопуляционного состава лимфоцитов с использованием лазерной проточной цитофлуориметрии (цитофлуориметр Epics XI, США) и метода непрямой иммунофлуоресценции с моноклональными антителами к CD-маркерам с двумя или тремя метками (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+) (реактивы Beckman Coulter, США). Фагоцитоз оценивали по данным латекс-теста с определением показателя фагоцитоза, фагоцитарного индекса, количества активных фагоцитов и фагоцитарной ёмкости крови, а также по активности ферментов миелопероксидазы (цитофлуориметрия) и НАДФ-оксидазы (НСТ-тест). Сывороточные концентрации иммуноглобулинов основных классов (M, G, A) устанавливали по результатам простой радиальной иммунодиффузии по Манчини. Концентрацию классов IgE, IgD и субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сыворотке крови измеряли при помощи твердофазного иммуоферментного анализа (реактивы ВекторБЕСТ, РФ).

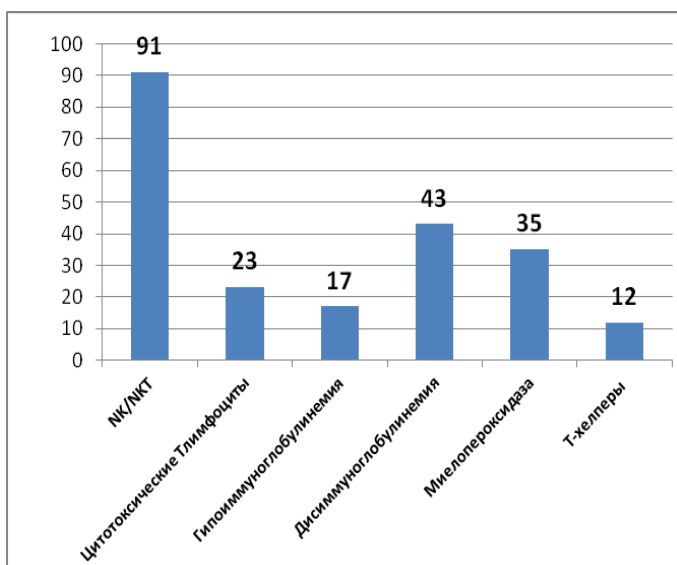


Рис. 1. Структура нарушений в иммунном статусе у детей ИГ с генетически детерминированным нарушением фолатного цикла (n=78)

Помимо этого, производилась диагностика реактивированной вирусной инфекции по результатам количественной ПЦР сыворотки крови с видоспецифическими праймерами герпесвирусов (вирусов просто-

го герпеса 1 и 2 типов (HSV-1 и HSV-2), вируса варицелла-зостер (VZV), Эпштейна-Барр вируса (EBV), цитомегаловируса (CMV), вирусов герпеса человека 6, 7 и 8 типов (HHV-6, HHV-7, HHV-8)), вирусов кори и краснухи (реактивы ДНК-Технология, РФ). Также осуществлялись серологические тесты путем проведения твердофазного иммуноферментного анализа для идентификации вирус-специфических IgM и IgG в сыворотке крови (реактивы Вектор-БЕСТ, РФ).

Структура инфекционного синдрома у пациентов ИГ подробно показана в главе 3. Преобладали внутриклеточные нейротропные патогены: вирусы с оппортунистическими свойствами, особенно – лимфотропные герпесвирусы человека (EBV, CMV, HHV-6, HHV-7), что согласуется с типично обнаруживаемым дефицитом NK- и NKT-клеток у таких пациентов. В 21% случае серологические тесты демонстрировали аномально напряженный гуморальный иммунный ответ к вирусу кори и реже – краснухи. Об этом феномене у детей с расстройствами спектра аутизма неоднократно сообщали ранее [42, 44].

Оценивали также сывороточные концентрации известных биомаркеров генетического дефицита фолатного цикла – гомоцистеина, фолиевой кислоты, витаминов B12 и B6 доступными биохимическими методами.

Все дети проходили контрольные МРТ головного мозга в конвенционных режимах (T1- и T2-взвешенный, FLAIR) на томографах с величиной магнитной индукции не менее 1,5 Тл, по крайней мере, дважды: до начала и по окончании участия в исследовании. Типичными были признаки лейкоэнцефалопатии различной тяжести (рис. 3). Также в 46% случаев имела место дополнительная картина височного медианного склероза. Обычно такие дети страдали эпилептическим синдромом. В 17% случаев отмечались типичные признаки врожденной цитомегаловирусной нейроинфекции в виде вентрикуломегалии, перивентрикулярных очагов, кист в полюсах височных долей, гипогенезии мозолистого тела и зон задержки миелинизации в теменных долях. Эти данные соответствуют результатам 18-летнего ретроспективного исследования Pinillos-Pisón R. с соавт. [32]. Такие дети обычно имели симптомы поражения пирамидных путей, в связи с чем им нередко выставляли диагноз детского церебрального паралича, хотя при этом также отмечались аутистические расстройства психики.

Статистический анализ полученной информации обработан методами структурного и сравнительного анализов при помощи электронной программы Microsoft Excel. С целью установления достоверности отличий результатов применяли Т-критерий Стьюдента с расчетом коэффициента доверительной вероятности p (параметрический критерий) и число знаков Z по Урбаху (непараметрический критерий).

Данное исследование является частью гранта Министерства здравоохранения Украины на проведение научно исследовательской работы «Усовершенствование диагностики иммунодефицитных заболеваний человека на основе регистрации поверхностного плазмонного резонанса и разработка современных методов лечения» (№ госрегистрации 0113U000709).

Критериями включения пациента в исследование были наличие 2-4 полиморфизмов генов фолатного цикла, дефицита НК- и/или НКТ-клеток, реактивированной инфекции, вызванной лимфотропными герпесвирусами и/или вирусом кори, признаков лейкоэнцефалопатии на МРТ головного мозга, клинических симптомов расстройств аутистического спектра. Критериями исключения пациента из исследования были: отказ родителей ребенка от участия в испытании, наличие дополнительной генетической патологии, причастной к развитию картины имеющихся психических нарушений, отсутствие фенотипа дефицита НК- и/или НКТ-клеток и признаков лейкоэнцефалопатии, а также развитие побочных эффектов иммунотерапии, которые делают невозможным продолжение апробируемого лечения. Конечными точками исследования были основные клинические проявления расстройств аутистического спектра, данные МРТ головного мозга, количество НК- и НКТ-клеток в периферической крови, текущая вирусная нагрузка, сформированная лимфотропными герпесвирусами, а также динамика основных дополнительных клинических проявлений, ассоциированных с генетическим дефицитом фолатного цикла, включая PANDAS, энтеропатию./колит, височную медианную эпилепсию и симптомы поражения пирамидных путей (рис. 2).

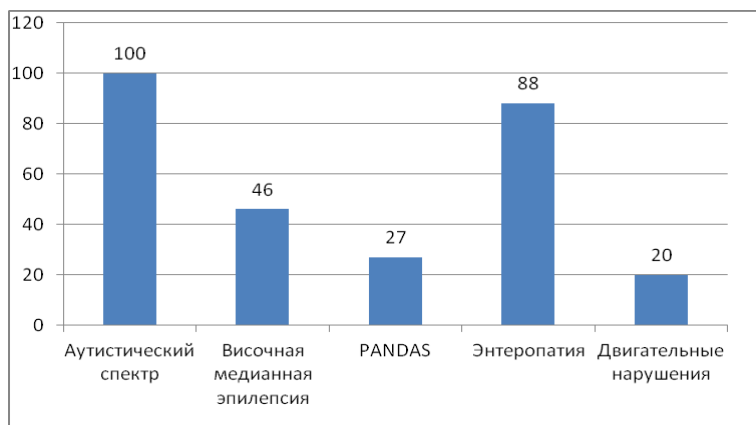


Рис. 2. Гетерогенный клинический фенотип у детей ИГ с генетическим нарушением фолатного цикла (n=78)

Результаты и обсуждение. В/в иммуноглобулин оказался эффективным для уменьшения клинических симптомов расстройств аутистического спектра у 77 из 78 детей, однако выраженность клинического эффекта сильно варьировала у разных пациентов (табл. 1; рис. 4).

Полное устранение аутистических симптомов с обнажением выраженного дефицита знаний и умений у ребенка отмечалось в 21 случае. Регресс достижений после отмены иммунотерапии имел место лишь у одного пациента из подгруппы полных ответчиков. Остальные дети развивались нормально и достигли уровня сверстников спустя 3-5 лет после курса иммунотерапии под влиянием немедикаментозного лечения, включая занятия с логопедом, педагогами общего профиля, психиатрами и психотерапевтами. Выраженный регресс аутистических проявлений наблюдался в 33 случаях, позволяя пациентам существенно расширить диапазон социальной адаптации. 12 детей из этих частичных ответчиков продолжили демонстрировать положительную динамику психических расстройств после завершения иммуноглобулинотерапии под влиянием реабилитационных мероприятий. Остальные дети сохраняли некоторые аутистические черты спустя 2-3 года после иммунотерапии. По-видимому, 6-месячный курс иммунотерапии оказался для них слишком коротким, а дальнейшую положительную динамику психических расстройств можно было достигнуть при продолжении в/в иммуноглобулинотерапии. Тем не менее, 24 ребенка ответили лишь умеренной или слабой положительной динамикой со стороны психических нарушений после курса иммунотерапии (рис. 3). У половины из них отмечалась потеря достижений спустя 2-4 месяца после завершения иммуноглобулинотерапии и, по-видимому, они требовали неоднократного повторения курса иммунотерапии в будущем.

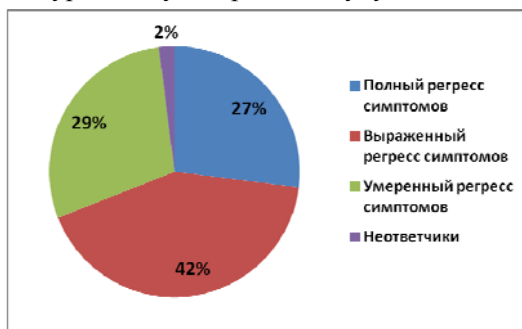


Рис. 3. Структура исследуемой группы по эффективности в/в иммуноглобулина по купированию симптомов расстройств аутистического спектра (n=78)

В КГ умеренная или слабая положительная динамика имела место у 12 из 32 детей, и была отражением естественного течения заболевания или проводимых реабилитационных мероприятий ($p < 0,05$: $Z < Z_{0,05}$). Ни у одного ребенка из КГ не зарегистрировано полного устранения фенотипа аутистических расстройств, равно как и случаев выраженной положительной динамики симптомов нарушения психики ($p < 0,05$: $Z < Z_{0,05}$).

Полученные данные позволяют утверждать о модифицирующем влиянии высокодозовой в/в иммуноглобулинотерапии на фенотип расстройств психики аутистического спектра у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла (рис. 4).

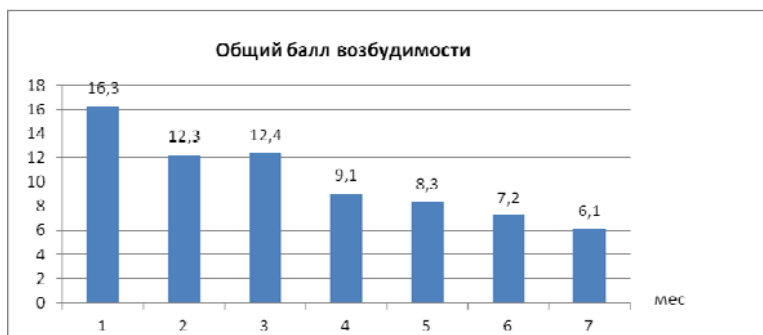
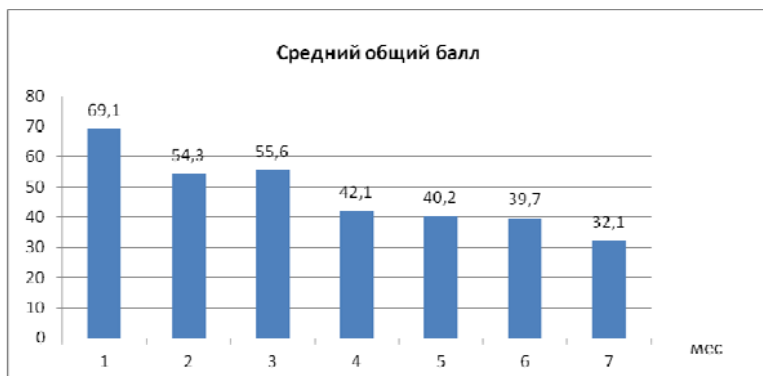
Табл. 1

Показатели шкалы ABC у пациентов ИГ и КГ

№	Субшкалы	ИГ (n=78)	КГ (n=32)
	ABC		
1	Возбудимость (irritability)	6,1±0,9*	14,3±1,2
2	Гиперактивность (hyperactivity)	11,0±1,2*	24,7±2,4
3	Неадекватный глазной контакт (inadequate eye contact)	4,3±0,8*	9,6±1,2
4	Несоответствующая речь (inappropriate speech)	1,9±0,6*	8,4±1,1
	Symptom Checklist		
1	Сонливость (drowsiness)	5,4±0,7*	14,5±1,4
2	Сниженная активность (decreased activity)	1,8±0,6*	4,9±0,4

Примечание. * – $p < 0,05$: $Z < Z_{0,05}$

Эффективность в/в иммуноглобулина связывают с нейтрализацией антимозговых аутоантител и подавлением опосредованной Т-клетками активации аутореактивных В-лимфоцитов [9], хотя в данном исследовании мы обнаружили дополнительные механизмы положительного воздействия иммунотерапии, речь о которых пойдет ниже.



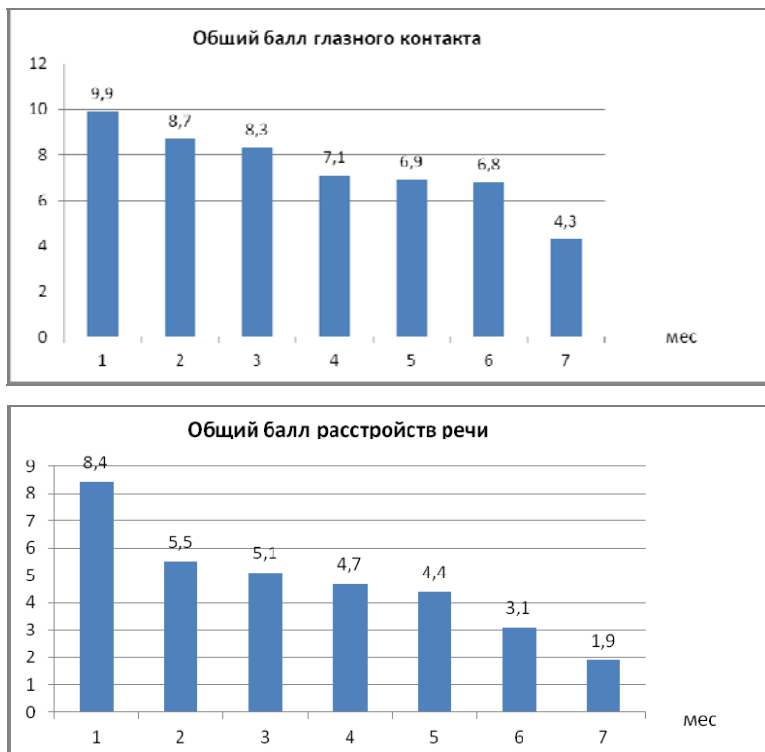


Рис. 4. Динамика основных показателей шкалы АВС у детей ИГ до (1) и на протяжении 6-месячного курса иммунотерапии (2-7) (n=78)

Ранее уже сообщали о пользе от применения в/в иммуноглобулина при расстройствах аутистического спектра у детей. Pliorplys A.V. провел небольшое неконтролируемое исследование с участием 10 детей (2 девочек и 8 мальчиков) в возрасте от 4 до 17 лет, страдающих расстройствами аутистического спектра. Пациенты получали низкодозовую терапию в/в иммуноглобулином в дозе 200-400 мг/кг каждые 6 недель четыре раза. Только у одного ребенка отмечался выраженный регресс аутистических проявлений после курса иммунотерапии. Еще у 4 пациентов имело место небольшое улучшение со стороны психических расстройств, однако 5 детей оказались резистентными к лечению [34]. DelGiudice-Asch G. с соавт изучили эффективность иммунотерапии в

открытом пилотном исследовании с участием 5 детей с картиной аутистических расстройств. Препарат в/в иммуноглобулина назначали в дозе 400 мг/кг в месяц на протяжении полугода. Из 10 используемых шкал только шкала Ritvo-Freeman демонстрировала положительную клиническую динамику [13]. Gupta S. изучил эффективность низкодозовой иммуноглобулинотерапии у 10 детей в возрасте 3-12 лет с расстройствами аутистического спектра в открытом пилотном исследовании. Препарат назначали в дозе 400 мг/кг каждые 4 недели на протяжении 6 месяцев подряд. Улучшение отмечалось почти во всех случаях, причем регистрировалось как исследователем, так и специалистами по поведенческим и речевым расстройствам, родителями и медсестрами, осуществляющими инфузии препарата. Дети раннего возраста лучше реагировали на иммунотерапию [19]. Niederhofer H. с соавт. провели небольшое двойное слепое плацебо контролируемое перекрестное исследование с участием 12 мальчиков в возрасте от 4,2 до 14,9 лет с расстройствами спектра аутизма. Пациенты получали низкодозовую терапию в/в иммуноглобулином однократно (400 мг/кг). Продemonстрировано улучшение по основным критериям шкалы ABC: раздражительности, гиперактивности, неадекватному главному контакту, несоответствующей речи [30]. Vogis M. с соавт. провели ретроспективное исследование эффективности иммунотерапии у 27 детей с расстройствами аутистического спектра (21 мальчик и 6 девочек). Пациенты получали в/в иммуноглобулин в дозе 400 мг/кг каждые 4 недели на протяжении 6 месяцев подряд. Для контроля использовали шкалу ABC. Почти у всех участников отмечалось существенное улучшение по изучаемым показателям: гиперактивности, несоответствующей речи, возбужденности, вялости и стереотипии. Однако у 22 из 26 детей, ответивших на иммунотерапию, отмечался возврат симптомов аутизма через 2-4 месяца после завершения курса в/в иммуноглобулина [5].

Таким образом, низкодозовая иммуноглобулинотерапия дает непостоянный, умеренный и, по-видимому, недолговечный положительный клинический эффект при расстройствах спектра аутизма у детей.

Единственное исследование, в котором изучалась эффективность высокодозовой иммуноглобулинотерапии, показало более обнадеживающие результаты. 13 детей с расстройствами аутистического спектра в возрасте от 2,7 до 10,9 лет (10 мальчиков и 3 девочек) получали в/в иммуноглобулин в дозе 1,5-2,0 г/кг/мес. Отмечалось выраженное улучшение поведения, речи, функции социальной интерференции у всех участников, причем у двоих детей имело место полное устранение фенотипа аутизма. В отличие от низкодозового режима, не отмечалось утраты достижений после завершения курса иммунотерапии [6].

Мы также проводили высокодозовую иммуноглобулинотерапию и констатируем возможность полного устранения клинических проявлений аутистического спектра в ближайшей перспективе, по крайней мере, в трети случаев, а также – выраженное и стойкое улучшение симптомов у большинства пациентов. Как показывают результаты данного испытания, правильный отбор пациентов по наличию генетического дефицита фолатного цикла и ассоциированных с этим клинических и параклинических проявлений, включая лейкоэнцефалопатию, позволяют существенно повысить эффективность проводимой иммунотерапии.

Что касается других клинических проявлений, то устранение или выраженное подавление симптомов PANDAS имело место у 19 из 21 пациента ИГ, в то время как в контрольной не отмечалось положительной динамики экстрапирамидных и психических расстройств среди всех 7 детей с проявлениями PANDAS ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Ранее в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании продемонстрировали клиническую эффективность высокодозовой иммуноглобулинотерапии при PANDAS у детей, причем достигнутый результат соответствовал таковому у плазмафереза [31].

Улучшение со стороны эпилептического синдрома, состоящее в уменьшении частоты/тяжести приступов и положительной динамике данных ЭЭГ, достигнуто у 29 из 36 пациентов ИГ, имеющих такие расстройства, и только у 2 из 14 детей КГ ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Monge-Galindo L с соавт. в клиническом лонгитудинальном исследовании показали тесную связь между расстройствами аутистического спектра и височным медианным склерозом у детей [27]. В то же время, ННВ-6 обнаруживается в биоптатах из зоны склероза при височной медианной эпилепсии [14]. Ранее Plevani A. с соавт. продемонстрировали эффективность в/в иммуноглобулинотерапии при рефрактерной детской эпилепсии у пациентов с избирательным дефицитом субклассов IgG. Клинический эффект объяснили сочетанным иммунозаместительным и иммуномодулирующим воздействием препарата [33]. Позже Billiau An.D. с соавт. показали эффективность в/в иммуноглобулина при рефрактерной эпилепсии у детей без учета данных иммунного статуса, что указывает, по-видимому, на прямое противосеизмическое воздействие иммунотерапии в таких случаях [3].

Положительная динамика клинических проявлений перисистирующей энтеропатии/колита зарегистрирована у 49 из 68 пациентов ИГ, что усиливало эффект назначенной ранее безглютеновой/безказеиновой диеты. В то же время, дальнейшее улучшение работы кишечника отмечено только у 5 из 27 детей КГ ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Ранее Russo A.J. с соавт. описали илеоцекальную лимфоидную нодулярную гиперплазию у детей с расстройствами аутистического спектра, напоминающую лимфоцитарную нодулярную ги-

перплазию кишечника у пациентов с первичными иммунодефицитами [39]. Вместе с тем, Torrente F. с соавт. охарактеризовали тонкокишечную энтеропатию с эпителиальными депозитами комплемента и IgG у детей с регрессивным аутизмом [46]. Эффективность в/в иммуноглобулина по отношению к кишечному синдрому у детей с аутистическим спектром можно объяснить иммуномодулирующим воздействием препарата, учитывая иммунозависимый механизм поражения кишечника в таких случаях. Ранее препарат орального иммуноглобулина показал эффективность при кишечном синдроме у детей с аутизмом в проспективном пилотном исследовании [41], хотя дальнейшее плацебо контролируемое испытание не подтвердило полученного клинического эффекта [20]. Мы демонстрируем эффективность системной высокодозовой иммуноглобулинотерапии при энтеропатии/колите.

Двигательные проявления уменьшились только у 3 из 16 детей ИГ и у 2 из 6 пациентов КГ ($p > 0,05$: $Z > Z_{0,05}$), что указывает на отсутствие влияния в/в иммуноглобулина на симптомы поражения пирамидных путей у детей с расстройствами аутистического спектра. Отчасти это можно объяснить тем, что нередко эти пирамидные симптомы были резидуальными явлениями перенесенного ранее патологического процесса, например, врожденной цитомегаловирусной инфекции [15], т.е. не являлись следствием протекающих в реальном времени иммуноопосредованных реакций. Тем не менее, у одной девочки из ИГ отмечался драматический положительный эффект со стороны двигательных расстройств после назначения в/в иммуноглобулина, и пациентка смогла самостоятельно ходить после длительного периода обездвиживания.

Таким образом, в/в иммуноглобулин оказывает комплексное положительное влияние у детей с аутистическим спектром, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла, которые состоит не только в устранении или подавлении расстройств психики, но и в улучшении со стороны экстрапирамидных нарушений, кишечного синдрома и эпилептиформной активности мозга. Такой эффект может быть объяснен подобными иммунозависимыми механизмами развития на первый взгляд разрозненных клинических проявлений болезни. Ранее про широкий клинический фенотип, охватывающий эпилепсию, кишечные нарушения, аутоиммунные расстройства, гиперчувствительность замедленного типа и дефицит специфических антиполисахаридных антител, при расстройствах аутистического спектра у детей сообщали Juopouchi H. с соавт. в результатах специально спланированного исследования [23]

Наличие множественных реактивированных вирусных инфекций у детей ИГ можно полностью объяснить имеющимся дефицитом НК- и/или

НКТ-клеток. Ранее Binstock T. выделили особую подгруппу детей с аутистическим спектром, в которой отмечалась патологически сниженная резистентность к интрамоноситарным патогенам [4], а Nicolson G.L. с соавт. выявили у таких детей аномально повышенную частоту обнаружения в крови ДНК *Mycoplasma ssp.*, *Chlamydia pneumoniae* и HHV-6 [29]. Как нам кажется очевидным, речь шла именно о случаях расстройств аутистического спектра, ассоциированных с генетическим дефицитом фолатного цикла, при которых имеется первичный дефицит НК- и/или НКТ-клеток. Вирусные агенты могут индуировать задержку миелинизации/демиелинизацию, как продемонстрировали Kamei A. с соавт. в случае первичной HHV-6-инфекции [24], а Pinillos-Pisón R. с соавт. – при реактивации CMV [32]. В соответствии с этим, имеется ряд описаний развития аутизма после перенесенных вирусных энцефалитов [18,22,26].

Кроме того, путем механизма молекулярной мимикрии вирусы могут быть причастны к феномену продукции антимозговых аутоантител у детей с аутистическим спектром. Так, Singh V.K. с соавт. продемонстрировали тесную ассоциацию наличия вируса кори или HHV-6 в реактивированном состоянии и продукции аутоантител к мозговым антигенам у детей с расстройствами спектра аутизма [44]. В другом исследовании показана перекрестная реактивность между антикоревыми антителами и аутоантителами против основного белка миелина у детей с аутистическим синдромом [42]. В контексте этих данных, мы считаем крайне полезным, что в/в иммуноглобулин приводил к постепенному, но неуклонному снижению суммарной вирусной нагрузки, обусловленной лимфотропными герпесвирусами, в сыворотке крови у пациентов ИГ (рис. 5).

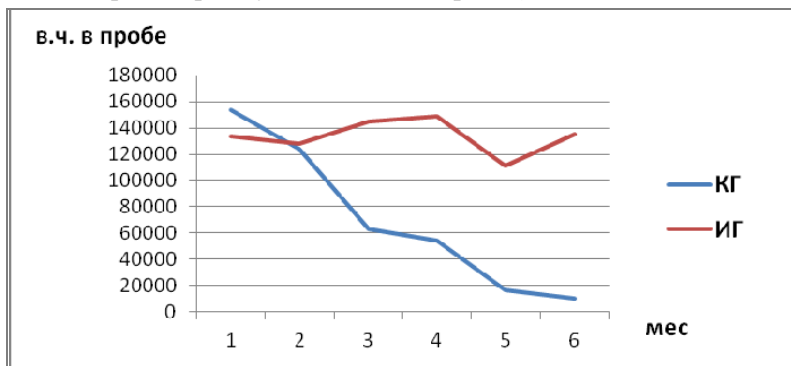


Рис. 5. Динамика суммарной вирусной нагрузки в крови, обусловленной лимфотропными герпесвирусами (EBV, CMV, HHV-6, HHV-7), по данным ПЦР у пациентов ИГ (n=78) и КГ (n=32)

На данный момент в/в иммуноглобулин используется для профилактики реактивированных оппортунистических вирусных инфекций у иммунокомпрометированных лиц. Так, Cowan J. с соавт. недавно провели систематический обзор контролируемых испытаний, посвященных эффективности иммунотерапии для профилактики вирусных инфекций у реципиентов аллогенных гемопоэтических клеток крови, продемонстрировав очевидную пользу от иммунотерапии [11].

Также мы выявили постепенное возрастание количества НК-клеток в периферической крови у пациентов ИГ, которое оказалось отсроченным и наиболее сильно проявлялось к 5-6 месяцу иммунотерапии (рис. 6). Ранее Finberg R.W. с соавт. показали, что высокодозовая иммуноглобулинотерапия способствует нарастанию функциональной активности НК-клеток [16]. В то же время, использование низкодозового режима иммунотерапии (400 мг/кг/мес) приводит, наоборот, к снижению количества и активности естественных киллеров, как продемонстрировали Ruiz J.E. с соавт. в клиническом испытании с участием женщин с множественными эпизодами спонтанных абортс [38]. Помимо этого, в/в иммуноглобулин способствовал компенсации гипо- или дисиммуноглобулинемии, которая отмечалась у некоторых детей ИГ. Как известно, в/в иммуноглобулин используется при лечении первичных гипои иммуноглобулинемий у людей [2]. Ранее Neuer L. с соавт. установили, что редуцированные уровни иммуноглобулинов в крови коррелируют с тяжестью аутистических расстройств психики у детей [21]. Таким образом, применяемая высокодозовая иммуноглобулинотерапия способствовала компенсации или, по крайней мере, субкомпенсации основополагающего первичного иммунодефицита у детей ИГ.

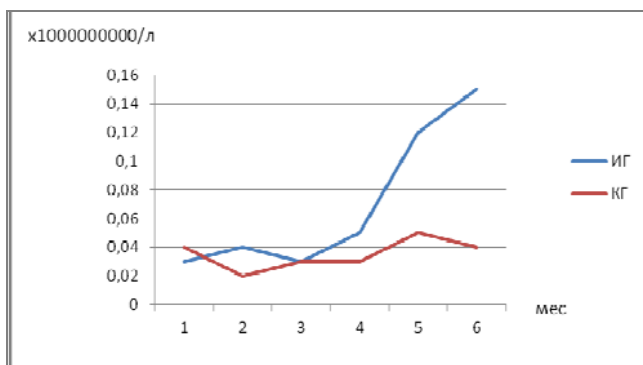


Рис. 6. Динамика количества НК-клеток в периферической крови пациентов ИГ (n=78) и КГ (n=32)

И, наконец, получена положительная динамика со стороны лейкоэнцефалопатии, отмечающейся почти у всех детей ИГ. Ранее Strunk T. с соавт. описали феномен облегченной демиелинизации при генетическом дефиците фолатного цикла [45]. Полное или почти полное устранение МР-признаков лейкоэнцефалопатии отмечалось у 29 из 78 пациентов, а выраженный регресс очагов задержки миелинизации/демиелинизации выявлен еще у 24 детей (рис. 7). Тем не менее, незначительным изменения зарегистрированы у 25 лиц, и обычно это были дети с небольшим клиническим улучшением со стороны психических расстройств и высоким риском возврата симптомов после прекращения курса иммунотерапии. В КГ умеренная положительная динамика со стороны лейкоэнцефалопатии отмечена только у 5 из 32 детей ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$) (табл. 2). Известно, что в/в иммуноглобулин способен стимулировать ремиелинизацию периферических нервных волокон при синдроме Гийена-Барре, что связывают с подавлением под воздействием препарата лежащей в основе болезни аутоиммунной реакции [7]. Тем не менее, Cirić B. с соавт. показали прямое стимулирующее воздействие в/в иммуноглобулина на процесс ремиелинизации периферических нервных волокон, который был независим от иммуномодуляции [10]. Мы констатируем выраженное потенцирующее влияние высокодозовой в/в иммуноглобулинотерапии на процесс миелинизации/ремиелинизации в белом веществе полушарий большого мозга у детей с аутистическим спектром, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла. По нашему мнению, именно этим феноменом в значительной степени можно объяснить модифицирующее влияние иммунотерапии на расстройства аутистического спектра.

Изменения конечных точек исследования суммированы в табл. 2.

Имуноглобулин зарекомендовал себя в ходе исследования как безопасный препарат. Гриппоподобный синдром отмечался только у 24 из 78 пациентов ИГ. У 10 детей имели место однократные эпизоды рвоты вскоре после введения иммуноглобулина. Эти умеренные побочные эффекты не были препятствиями для продолжения курса иммунотерапии. Других нежелательных явлений на фоне применения в/в иммуноглобулина зарегистрировано не было.

Ранее Price C.S. с соавт. в специально спланированном исследовании продемонстрировали, что препараты нормального в/в иммуноглобулина безопасны и не способствуют развитию аутизма у детей [35]. В соответствии с этим, Sjoen L.A. с соавт. показали, что применение антирезусного иммуноглобулина для профилактики гемолитической болезни плода также не повышает риск развития аутистических расстройств [12]. Как указывают Wynn J.L. с соавт., использование

высокодозовой иммуноглобулинотерапии не только не подавляет развитие иммунной системы ребенка, но и способствует созреванию незрелой иммунной системы у недоношенных детей [49].

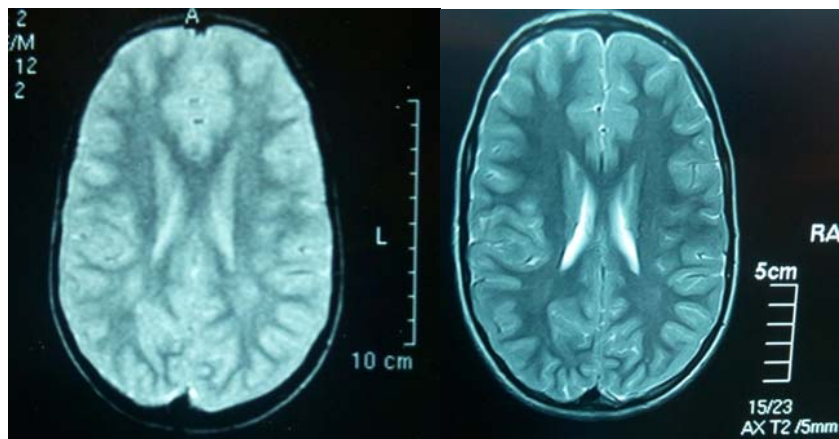


Рис. 7. Редукция перивентрикулярных зон нарушенной миелинизации в теменных долях полушарий большого мозга после 6-месячного курса в/в иммуноглобулинотерапии у пациента с аутистическим спектром, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла (слева – до иммунотерапии, справа – после курса в/в иммуноглобулина; собственное наблюдение)

Табл. 2

Отличия по конечным точкам исследования у пациентов ИГ И КГ

Конечная точка	ИГ,%		КГ,%		Т-критерий (параметрический)	Число знаков Z (непараметрический)
	+	-	+	-		
Аутистический спектр	69	31	37	64	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
PANDAS	90	10	0	100	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
Эпилептический синдром	81	19	14	86	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
Кишечный синдром	72	28	56	44	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
Пирамидные нарушения	19	81	33	77	$p > 0,05$	$Z > Z_{0,05}$
Вирусная нагрузка	81	19	29	71	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
Количество НК-клеток	77	33	28	71	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$
Лейкоэнцефалопатия	68	32	16	84	$p < 0,05^*$	$Z < Z_{0,05}^*$

Примечание. * – достоверные отличия

Выводы. Таким образом, мы констатируем факт высокой эффективности и надлежащей безопасности в/в иммуноглобулинотерапии в дозе 2 г/кг/мес. у детей с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с генетическим дефицитом фолатного цикла. Такое лечение приводит не только к устранению или подавлению психических нарушений, но и к улучшению со стороны экстрапирамидных, эпилептических, кишечных расстройств. Полимодалный клинический эффект иммуноглобулина, по-видимому, связан с резким снижением вирусной нагрузки в крови, повышением ранее критически сниженного количества естественных киллеров и устранением проявлений лейкоэнцефалопатии у таких детей. В предыдущих публикациях мы отмечали, что у пациентов с генетически детерминированным дефицитом фолатного цикла имеет место первичный иммунодефицит, который, по-видимому, и является непосредственной причиной широкого клинического фенотипа, охватывающего иммунозависимые психические, экстрапирамидные, эпилептические, двигательные, кишечные, инфекционные, аутоиммунные, аллергические проявления, а также лейкоэнцефалопатию. В/в иммуноглобулин оказывает комплексное положительное воздействие на большинство компонентов широкого клинического фенотипа у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла. Этот лечебный подход способствует компенсации или, по крайней мере, субкомпенсации проявлений основополагающего первичного иммунодефицита, ассоциированного с генетическим нарушением цикла фолиевой кислоты.

Действующие ныне рекомендации не поддерживают применение иммуноглобулинотерапии при расстройствах спектра аутизма у детей [25], хотя мы твердо убеждены, что такая терапевтическая стратегия может быть испробована у некоторых пациентов с резистентностью к другим лечебным подходам. Учитывая обнадеживающие результаты данного клинического контролируемого испытания, целесообразно продолжить исследования в указанном направлении с большим количеством участников и более совершенным дизайном.

Список литературы

1. Amman M.G., Singh N.N., Stewart A.W., Field C.J. Psychometric characteristics of the aberrant behavior checklist // Am. J. Ment. Def. 1985. – Vol. 99. – P. 492–502.
2. Baris S., Ercan H., Cagan H.H. Efficacy of intravenous immunoglobulin treatment in children with common variable immunodeficiency // Immunol. – 2011. – Vol. 21(7). – P. 514–521.
3. Billiau An.D., Witters P., Ceulemans B. et al. Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure

frequency, EEG activity and cerebrospinal fluid cytokine profile // *Epilepsia.* – 2007. – Vol. 48. – P. 1739–1749.

4. Binstock T. Intra-monocyte pathogens delineate autism subgroups // *Med. Hypotheses.* – 2001. – Vol. 56(4). – P. 523–531.

5. Boris M., Goldblatt A., Edelson S.M., Edelson PA-C. Improvement in children with autism treated with intravenous gamma globulin // *J. Nutr. Environ. Medicine.* – 2006. – Vol. 15 (4). – P. 1–8.

6. Bradstreet J., Singh V.K., El-Dahr J. High dose intravenous immunoglobulin improves symptoms in children with autism // *The international symposium on autism.* – Dec. 28., 1999. – Atnhem, Netherlands.

7. Buchwald B., Ahangari R., Weishaupt A., Toyka K.V. Intravenous immunoglobulins neutralize blocking antibodies in Guillain-Barré syndrome // *Annals of Neurology.* – 2002. – Vol. 51. – P. 673–680.

8. Cabanlit M., Wills S., Goines P. et al. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 107. – P. 92–103.

9. Chez G.M., Guido-Estrada N. Immune therapy in autism: historical experience and future directions with immunomodulatory therapy // *Neurotherapeutists.* – 2010. – Vol. 7. – P. 293–301.

10. Ciric B., Van Keulen V., Paz Soldan M. et al. Antibody-mediated remyelination operates through mechanism independent of immunomodulation // *J. Neuroimmunology.* – 2004. – Vol. 146. – P. 153–161.

11. Cowan J., Cameron D.W., Knoll G., Tay J. Protocol for updating a systematic review of randomised controlled trials on the prophylactic use of intravenous immunoglobulin for patients undergoing haematopoietic stem cell transplantation // *BMJ Open.* – 2015. – Vol. 5(8). – e008316.

12. Croen L.A., Matevia M., Yoshida C.K., Grether J.K. Maternal Rh D status, anti-D immune globulin exposure during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 99(3). – P. 234.

13. DelGiudice-Asch G., Simon L., Schmeidler J. Brief report: a pilot open clinical trial of intravenous immunoglobulin in childhood autism // *J. Autism Dev. Disord.* – 1999. – Vol. 29(2). – P. 157–160.

14. Donati D., Akhyani N., Fogdell-Hahn A. et al. Detection of human herpesvirus-6 in mesial temporal lobe epilepsy surgical brain resections // *Neurology.* – 2003. – Vol. 61(10) – P. 1405–1411.

15. Engman M.L., Sundin M., Miniscalco C. Prenatal acquired cytomegalovirus infection should be considered in children with autism // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol. 104(8). – P. 792–795.

16. Finberg R.W., Newburger J.W., Mikati M.A. et al. Effect of high doses of intravenously administered immune globulin on natural killer cell activity in peripheral blood // *J. Pediatr.* – 1992. – Vol. 120(3). – P. 376–380.

17. Frye R.E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder // *Epilepsy Behav.* – 2015. – Vol. 47. – P. 147–157.

18. Ghaziuddin M., Al-Khouri I., Ghoaziuddin N. Autistic symptoms following herpes encephalitis // *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 11(3). – P. 142–146.
19. Gupta S. Treatment of children with autism with intravenous immunoglobulin // *J. Child. Neurol.* – 1999. – Vol. 14(3). – P. 203–205.
20. Handen B.L., Melmed R.D., Hansen R.L. et al. A double-blind, placebo-controlled trial of oral human immunoglobulin for gastrointestinal dysfunction in children with autistic disorder // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2009. – Vol. 39(5). – P. 796–805.
21. Heuer L., Ashwood P., Schauer J. et al. Reduced Levels of Immunoglobulin in Children With Autism Correlates With Behavioral Symptoms // *Autism. Res.* – 2008. – Vol. 1(5). – P. 275–283.
22. Hiroshi H., Seiji K., Toshihiro K., Nobuo K. An adult case suspected of recurrent measles encephalitis with psychiatric symptoms // *Seishin Shinkeigaku Zasshi.* – 2003. – Vol. 105(10). – P. 1239–1246.
23. Jyonouchi H., Geng L., Streck D.L., Toruner G.A. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study // *J. Neuroinflammation.* – 2012. – Vol. 9. – P. 4.
24. Kamei A., Ichinohe S., Onuma R. et al. Acute disseminated demyelination due to primary human herpesvirus-6 infection // *Eur. J. Pediatr.* – 1997. – Vol. 156(9). – P. 709–712.
25. Kooij S.J., Bejerot S., Blackwell A. et al. European consensus statement on diagnosis and treatment of adult ADHD: The European Network Adult ADHD // *BMC Psychiatry.* – 2010. – Vol. 10. – P. 67.
26. Marques F., Brito M.J., Conde M. Autism spectrum disorder secondary to enterovirus encephalitis // *J. Child Neurol.* – 2014. – Vol. 29(5). – P. 708–714.
27. Monge-Galindo L., Pérez-Delgado R., López-Pisón J. Mesial temporal sclerosis in paediatrics: its clinical spectrum. Our experience gained over a 19-year period // *Rev. Neurol.* – 2010. – Vol. 50(6). – P. 341–348.
28. Mostafa G.A., Al-Ayadhi L.Y. Increased serum levels of anti-ganglioside M1 auto-antibodies in autistic children: relation to the disease severity // *J. Neuroinflammation.* – 2011. – Vol. 25 – P. 8–39.
29. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for *Mycoplasma* ssp., *Chlamydia pneumoniae*, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res.* – 2007 – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.
30. Niederhofer H., Staffen W., Mair A. Immunoglobulins as an alternative strategy of psychopharmacological treatment of children with autistic disorder // *Neuropsychopharmacology.* – 2003. – Vol. 28(5). – P. 1014–1015.
31. Perlmutter S.J., Leitman S.F., Garvey M.A. et al. Therapeutic plasma exchange and intravenous immunoglobulin for obsessive-compulsive disorder and tic disorders in childhood // *Lancet.* – 1999. – Vol. 354(9185). – P. 1153–1158.

32. Pinillos-Pisón R., Llorente-Cereza M.T., López-Pisón J. Congenital infection by cytomegalovirus. A review of our 18 years' experience of diagnoses // *Rev. Neurol.* – 2009. – Vol. 48(7). – P. 349–353.
33. Plebani A., Duse M., Tiberti S. Intravenous gamma-globulin therapy and serum IgG subclass levels in intractable childhood epilepsy // *Monogr. Allergy.* – 1988. – Vol. 23. – P. 204–215.
34. Plioplys A.V. Intravenous immunoglobulin treatment of children with autism // *J. Child. Neurol.* – 1998. – Vol. 13(2). – P. 79–82.
35. Price C.S., Thompson W.W., Goodson B. Prenatal and infant exposure to thimerosal from vaccines and immunoglobulins and risk of autism // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126(4). – P. 656–664
36. Puangpetch A., Suwannarat P., Chamnanphol M. et al. Significant Association of HLA-B Alleles and Genotypes in Thai Children with Autism Spectrum Disorders: A Case-Control Study // *Dis. Markers.* 2015. – Vol. 2015. – P. 724935.
37. Reinert P., Moulias R., Goust J.M. Demonstration of cellular immunity deficiency limited to measles virus in 20 cases of subacute sclerosing leukoencephalitis // *Arch. Fr. Pediatr.* – 1972. – Vol. 29(6). – P. 655–665.
38. Ruiz J.E., Kwak J.Y., Baum L. et al. Intravenous immunoglobulin inhibits natural killer cell activity in vivo in women with recurrent spontaneous abortion // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 1996. – Vol. 35(4). – P. 370–37
39. Russo A.J., Kringsman A., Jepson B., Wakefield A. Low serum myeloperoxidase in autistic children with gastrointestinal disease // *Clinical and Experimental Gastroenterology.* – 2009. – Vol. 2. – P. 85–94.
40. Santaella M.L., Varela Y., Linares N., Disdier O.M. Prevalence of autism spectrum disorders in relatives of patients with selective immunoglobulin A deficiency // *P. R. Health. Sci J.* – 2008. – Vol. 27(3). – P. 204–208.
41. Schneider C.K., Melmed R.D., Barstow L.E. et al. Oral human immunoglobulin for children with autism and gastrointestinal dysfunction: a prospective, open-label study // *J. Autism. Dev. Disord.* 2006. – Vol. 36(8). – P. 1053–1064.
42. Singh V.K., Lin S.X., Newell E., Nelson C. Abnormal measles-mumps-rubella antibodies and CNS autoimmunity in children with autism // *J. Biomed. Sci.* 2002. – Vol. 9(4). P. 359–364.
43. Singh V.K., Warren R.P., Odell J.D. et al. Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior // *Brain. Behav. Immun.* – 1993 – Vol. 7(1). – P. 97–103.
44. Singh V.K., Lin S.X., Yang V.C. Serological association of measles virus and human herpesvirus-6 with brain autoantibodies in autism // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1998. – Vol. 89(1). – P. 105–108.
45. Strunk T., Gottschalk S., Goepel W. Subacute leukoencephalopathy after low-dose intrathecal methotrexate in an adolescent heterozygous for the MTHFR C677T polymorphism // *Med. Pediatr. Oncol.* – 2003. – Vol. 40(1). – P. 48–50.
46. Torrente F., Ashwood P., Day R. et al. Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism // *Mol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 7(4). – P. 375–382.

47. Warren R.P., Odell J.D., Warren W.L. et al. Brief report: immunoglobulin A deficiency in a subset of autistic subjects // J. Autism. Dev. Disord. – 1997. – Vol. 27(2). – P. 187–192.

48. Wasilewska J., Kaczmarski M., Stasiak-Barmuta A. et al. Low serum IgA and increased expression of CD23 on B lymphocytes in peripheral blood in children with regressive autism aged 3-6 years old // Arch. Med. Sci. – 2012. – Vol. 8(2). – P. 324–331.

49. Wynn J.L., Seed P.C., Cotten C.M. Does IVIg administration yield improved immune function in very premature neonates? // J. Perinatol. – 2010. – Vol. 30(10). – P. 635–642.

РЕЗЮМЕ

Ефективність високодозової в/в імуноглобулінотерапії у дітей з розладами аутистичного спектру, асоційованими з генетичним дефіцитом ферментів фолатного циклу

Обґрунтування. Раніше неодноразово повідомляли про ефективність в/в імуноглобулінотерапії у деяких дітей з розладами спектру аутизму без уточнення критеріїв відбору потенційних відповідачів на імунотерапію.

Мета дослідження: оцінити ефективність і безпечність високодозової імуноглобулінотерапії при розладах аутистичного спектру у дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу.

Матеріали та методи. Досліджувану групу склали 78 дітей у віці від 2 до 10 років, які отримували в/в імуноглобулін в дозі 2 г/кг/міс протягом 6 місяців поспіль. До контрольної групи увійшли діти аналогічного вікового та гендерного розподілу, які отримували лише немедикаментозну реабілітаційну підтримку. Виявляли заміни нуклеотидів MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR A/G і MTR A/G в різних комбінаціях методом ПЛР. Динаміку психічних симптомів оцінювали за допомогою шкали Aberrant Behavior Checklist.

Результати та обговорення. Досягди повного усунення фенотипу розладів аутистичного спектру у 21 пацієнта і вираженої позитивної динаміки - ще у 33 дітей досліджуваної групи ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Паралельно відзначалася позитивна динаміка з боку інших клінічних проявів фенотипу дефіциту фолатного циклу: PANDAS (у 19 з 21), епілептичного (у 29 з 36) і кишкового (у 49 з 68 дітей) синдромів ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Не відмічено позитивної динаміки з боку симптомів ураження пірамідних шляхів ($p > 0,05$; $Z > Z_{0,05}$). Відзначено зниження сумарного вірусного навантаження і підвищення кількості природних кілерів в крові ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Майже повне усунення симптомів лейкоенцефа-

лопатії у досліджуваній групі відзначалося у 29 пацієнтів, а виражена позитивна динаміка - ще в 24 випадках ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$).

Висновки. В/в імуноглобулін забезпечує комплексний позитивний вплив на прояви генетичного дефіциту фолатного циклу, включаючи розлади спектру аутизму, екстрапірамідні порушення, кишковий синдром, епілептиформну активність мозку, імунодефіцит і лейкоенцефалопатію.

Ключові слова: фолатний цикл, в/в імуноглобулін, розлади спектру аутизму.

ABSTRACT

High-dose i/v immunoglobulin therapy efficiency in children with autism spectrum disorders associated with genetic deficiency of folate cycle enzymes

Background. Previously, have repeatedly reported on the effectiveness of i/v immunoglobulin therapy in some children with autism spectrum disorders without specifying selection criteria of potential responders to immunotherapy.

Objective: to evaluate high-dose immunoglobulin therapy efficacy and safety in children with autism spectrum disorders and genetic deficiency of folate cycle.

Materials and methods. The studied group consisted of 78 children aged 2 to 10 years who have been on i/v immunoglobulin at a dose of 2 g/kg/month for 6 months. The control group included children of similar age and gender distribution, which received only non-drug rehabilitation support. There were detected by PCR such polymorphisms as MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR A/G and MTR A/G in various combinations. The dynamics of psychiatric symptoms were assessed using the Aberrant Behavior Checklist scale.

Results and discussion. It has reached the complete elimination of the phenotype of autism spectrum disorders in 21 patients and a marked improvement in 33 children of study group ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). In parallel, we evaluated positive dynamic of other clinical manifestations of folate cycle deficiency phenotype: PANDAS (19 of 21), epilepsy (29 of 36) and gastrointestinal (in 49 out of 68 children) syndromes ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). There was no positive dynamics of the pyramidal tract lesion symptoms ($p > 0,0$; $Z > Z_{0,05}$). Decrease of the total viral load and increasing the number of natural killer cells in the blood were achieved ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$). Almost complete elimination leukoencephalopathy MR-symptoms was observed in

29 patients, and positive dynamics - in 24 cases in the study group ($p < 0,05$; $Z < Z_{0,05}$).

Conclusions. I/v immunoglobulin has a complex positive impact on the manifestation of a genetic deficiency of folate cycle, including autism spectrum disorders, extrapyramidal disturbances, bowel syndrome, epileptiform brain activity, immune deficiency, and leukoencephalopathy.

Keywords: folate cycle, i/v immunoglobulin, autism spectrum disorder.

Этапное лечение расстройств аутистического спектра, ассоциированных с генетическим дефицитом фолатного цикла

Вступление. Последние десятилетия ознаменовались открытием ряда генетических причин синдрома расстройств аутистического спектра у детей. Был доказан очевидный факт гетерогенности происхождения этих психических нарушений. Одной из наиболее распространенных причин указанного тяжелого психического недуга является генетически детерминированный дефицит ферментов цикла фолиевой кислоты [13]. Как предполагалось ранее и было показано нами в контролируемом испытании, дефицит фолатного цикла приводит к развитию первичного иммунодефицита, с которым и связаны почти все основные клинические проявления генетического расстройства. Основой такого иммунодефицита является аномально малое количество естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов, что создает условия для снижения резистентности к внутриклеточным микроорганизмам, повышает риск развития опухолей и предрасполагает к развитию аутоиммунных и аллергических осложнений [3,4]. Повреждения мозга при дефиците фолатного цикла происходит разными путями – в результате прямого инфекционного поражения, индукции аутоиммунной реакции к мозговым антигенам с формированием лейкоэнцефалопатии разной тяжести, нарушения внутриутробного развития нервной системы, индукции нейроденегерации, включая височный медианный склероз. Сложность патогенеза болезни предполагает необходимость использования комплекса лечебных вмешательств, которые могут быть разделены на определенные этапы, исходя из сегодняшнего понимания последовательности патологических процессов при дефиците фолатного цикла.

I этап.

Противоинфекционное лечение. Этот этап направлен на устранение или подавление инфекций, вызванных преимущественно внутриклеточными возбудителями, развивающимися в условиях дефицита НК/НКТ-клеток. Это позволит остановить прогрессирование болезни за счет купирования микроб-индуцированного поражения головного мозга и улучшения работы других органов и систем. Реактивированные герпесвирусные инфекции, вызванные лимфотропными возбудителями,

встречаются чаще всего у детей с аутистическим спектром, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла. Современная схема противогерпетического лечения, исходя из позиций доказательной медицины и доступности препаратов на украинском фармацевтическом рынке, должна включать ациклический аналог гуанозина (например, валацикловир или фамцикловир) и естественный (лейкоцитарный) или рекомбинантный альфа2ь-интерферон [4]. Срок лечения составляет 1-2 месяца под контролем ПЦР сыворотки крови. Устранение вирусемии – основная задача на этом этапе. Так как у каждого пятого пациента имеется хроническая нейроинфекция, вызванная вирусами кори или краснухи, имеются показания для проведения двойной терапии при помощи рибавирина и альфа-интерферонов в таких случаях. Пациенты со стрептококковой инфекцией ротоглотки должны дополнительно получить терапию пролонгированным бензилпенициллином или азитромицином, особенно – при дополнительном наличии проявлений PANDAS [18]. При лямблиозе кишечника следует назначить метронидазол двумя пятидневыми курсами с интервалом в 14 дней, что позволит улучшить работу кишечника у некоторых детей. Помимо этого, устранить кишечный синдром помогает безглютеновая диета, причем даже при отсутствии лабораторных признаков целиакии.

Кроме этого, следует компенсировать или, по крайней мере, субкомпенсировать имеющийся иммунодефицит для улучшения контроля над эндогенными вирусами и другими внутриклеточными микроорганизмами. Препараты альфа-интерферонов, назначаемые как противовирусные агенты, рассматриваются сегодня как первая линия базисной терапии дефицитов NK- и NKT-клеток [3,4], поэтому во многих случаях дополнительной терапии не требуется. Тем не менее, в трети случаев отмечается резистентность к альфа-интерферонам. У нас есть небольшой положительный опыт применения пропеса (альфа/бета-дефензина) как дополнения к интерферонотерапии в случае устойчивости к начальному курсу иммунотерапии. Так, восстановление количества NK- и NKT-клеток в крови было достигнуто в 13 из 15 резистентных случаев при добавлении пропеса к схеме терапии рекомбинантным альфа2ь-интерфероном, поэтому целесообразно проведение специально спланированного исследования в этом направлении.

Противоинфекционный курс – подготовительный по своей сути, а улучшение со стороны психических расстройств – не обязательный признак данного этапа. Тем не менее, у половины детей отмечается заметное улучшение психического статуса, особенно – в результате противогерпетической терапии. Как показывает наш опыт, это – обнадежи-

вающий знак, указывающий на потенциально высокую эффективность иммунотерапии.

II этап.

Иммунотерапия. Впервые Tucker A.N. с соавт. в экспериментальном исследовании показали положительный эффект терапии тимическими пептидами при нарушениях костномозгового кроветворения, связанных с фолатным дефицитом [22]. Такие данные привлекли внимание к возможностям иммунотерапии, и в частности – иммуноглобулинотерапии, при расстройствах аутистического спектра, ассоциированных с генетическим дефицитом фолатного цикла.

Это основной этап терапии, направленный на восстановление структуры мозга и устранения проявлений синдрома расстройств аутистического спектра. Как указывалось выше, в основе поражения ЦНС при дефиците фолатного цикла лежит лейкоэнцефалопатия, вызванная сочетанным воздействием нейротропных вирусов и патогенетически связанных с ними ауиммунных реакций к мозговым антигенам, включая продукцию аутоантител в основном белку миелина. Эта лейкоэнцефалопатия очень похожа на задержку миелинизации белого вещества мозга, описанную при врожденной цитомегаловирусной инфекции у людей [19], а также – демиелинизацию при мультифокальных лейкоэнцефалитах, вызванных лимфотропными герпесвирусами человека [16]. Ранее было продемонстрировано, что в/в иммуноглобулин способен стимулировать ремиелинизацию нервных волокон путем воздействия на шванновские клетки [9]. Этот эффект, наряду с угнетением аутоиммунной реакции, хорошо продемонстрирован у пациентов с демиелинизирующими поражениями периферической нервной системы, включая синдром Гийена-Барре и хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, а также – при рассеянном склерозе [8]. Помимо этого, в/в иммуноглобулин показал эффективность при реактивированных герпесвирусных инфекциях, вызванных лимфотропными герпесвирусами, предотвращая гематогенную диссеминацию вирусных агентов [10]. Также установлено, что в/в иммуноглобулин способен угнетать аутоиммунные реакции, опосредованных продукцией антимозговых аутоантител, включая анти-NMDA-энцефалит [14]. Так, двойное слепое плацебо контролируемое исследование установило эффективность в/в иммуноглобулина при PANDAS [18], который часто встречается у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла. Имеются сообщения и об эффективности в/в иммуноглобулина при рефрактерных эпилепсиях у детей [7], а проявления височной меди-

анной эпилепсии, нередко – с признаками устойчивости к противоэпилептическим препаратам, отмечаются в 40% случаев при дефиците фолатного цикла.

Таким образом, эффективность иммунотерапии можно связать с прямой стимуляцией ремиелинизации нервных волокон и устранением лейкоэнцефалопатии, подавлением инфекционного процесса для счет блокирования гематогенной диссеминации вирусных агентов, угнетением аутоиммунного процесса путем хорошо известных блокирующих, нейтрализующих и иммуномодулирующих эффектов иммуноглобулина и оказанием некоторых дополнительных воздействий, в том числе – противозепилептического эффекта.

Препараты используются в дозе 2 г/кг/мес. на протяжении 3-5 дней подряд с 27-35-дневными перерывами курсом 6-9 месяцев. Применение более низких доз нецелесообразно ввиду слабого доступа в ЦНС и отсутствия надлежащего нейротропного эффекта в таких случаях. Также следует учитывать результаты проведенного контролируемого исследования, демонстрирующие, что именно высокодозовая иммуноглобулинотерапия позволяет повысить количество НК-клеток в крови [12], что важно в плане компенсации имеющегося иммунодефицита. Известно также, что применение средних доз иммуноглобулина, наоборот, приводит к снижению количества естественных киллеров и ослаблению их функциональной активности [17], что используется при т.н. синдроме повышенного количества НК-клеток в акушерстве, поэтому вопрос дозировки является принципиально важным в случаях дефицита фолатного цикла. Следует также отметить, что в/в иммуноглобулин компенсирует гипо- и дисиммуноглобулинемию [6], которая иногда является частью фенотипа иммунодефицита, ассоциированного с генетическим нарушением фолатного цикла. Именно благодаря указанному полимодальному терапевтическому воздействию иммуноглобулинотерапия является ключевой в лечении расстройств аутистического спектра, связанных с первичным фолатным дефицитом.

Ранее эффективность иммуноглобулинотерапии при расстройствах аутистического спектра у детей была продемонстрирована в нескольких небольших контролируемых испытаниях [11, 15, 20], однако участники этих исследований не отбирались по критериям наличия дефицита фолатного цикла и связанной с ним лейкоэнцефалопатии. Диагностики генетического дефицита фолатного цикла и специальный отбор кандидатов на прохождение иммуноглобулинотерапии позволяет существенно повысить эффективность иммунотерапии по психиатрическим показаниям. Как показали Price C.S. с соавт. в недавнем исследовании, препараты в/в иммуноглобулина не

повышают риск развития аутизма и подобных расстройств даже при применении во время внутриутробного развития плода и неонатального периода онтогенеза [21].

Таким образом, цель этапа – восстановить зоны нарушенной миелинизации, подавить аутоиммунный процесс, если такой имеется у пациента, и добиться угнетения эпилептиформной активности у пациентов с проявлениями височной медианной эпилепсии. В результате полного устранения зон нарушенной миелинизации происходит купирование проявлений расстройств аутистического спектра и обнажается серьезный недостаток знаний и умений у ребенка, которые необходимо наверстать при помощи долгострочного немедикаментозного лечения. Для того, чтобы дальнейшее обучение было более эффективными, а воссоздание утраченных межнейронных связей – наиболее полным, целесообразно проводить специальный курс нейрореабилитации.

III этап терапии.

Нейрореабилитация. Суть этапа состоит в назначении ноотропных препаратов, которые позволяют усилить достигнутые нейротропные эффекты иммунотерапии и оптимизировать метаболические процессы в нервной ткани. Переносимость ноотропного лечения у детей с аутистическим спектром после курса иммунотерапии и устранения лейкоэнцефалопатии обычно довольно хорошая, причем даже в тех случаях, когда назначение аналогичного лечения до иммунотерапевтических вмешательств было сопряжено с развитием побочных эффектов и/или парадоксальным усилением аутистических проявлений. По нашему мнению, улучшения профиля переносимости ноотропного лечения связано с компенсацией иммунодефицита и восстановлением структуры головного мозга. Среди широко спектра ноотропных препаратов хотелось бы выделить ряд инновационных терапевтических агентов.

Так, нейропротектор цереброкурин, как известно, оказывает выраженное энерготропное воздействие, повышает синтез белков теплового шока и антиапоптотического протеина bcl-2, а также оказывает положительное воздействие на экспрессию гена c-fos, вовлеченного в регуляцию клеточной пролиферации [2,5]. Исследования, проведенные на модели гипоксии, показывают способность цереброкурина повышать выживаемость нейронов за счет потенцирующего воздействия на митохондрии этих клеток (рис. 1).

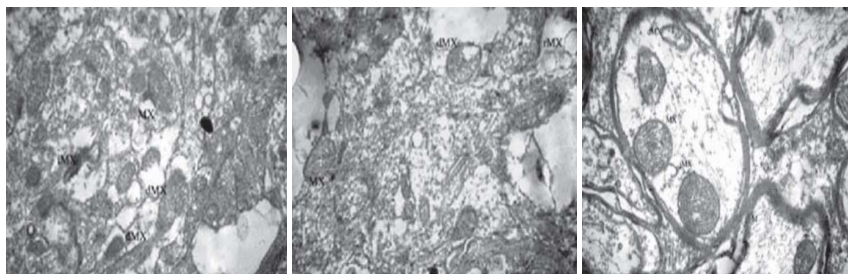


Рис. 1. Морфологические изменения нейронов при гипоксии и энерготропный эффект цереброкурина

(по Знаменской Т.К. с соавт., 2007 [2])

А. Стадии деструкции митохондрий при тяжелой гипоксии (**MX** – митохондрии, **dMX** – деструкция митохондрий, **iMX** – инкапсулирование митохондрий, увеличение 8000). Б. Структурный дистресс митохондрий нейроцитов при тяжелой гипоксии (**rMX** – растворение митохондрий, увеличение 6400). С. Увеличение юных форм митохондрий при использовании цереброкурина (**M** – миелин; **jMX** – юные митохондрии, увеличение 12000)

Положительное воздействие цереброкурина на процессы ремиелинизации в нервной ткани (рис. 2), реализуемое путем прямого стимулирующего влияния на олигодендроциты и при помощи некоторых непрямых механизмов, включая энерготропный эффект и шаперонную активность, оказывается весьма полезным в условиях лейкоэнцефалопатии как основной формы поражения головного мозга при генетическом дефиците фолатного цикла. Можно сказать, цереброкурин потенцирует эффекты ремиелинизации, достигнутые на этапе иммунотерапии.

Нейропротектор дельталицин (дельта-пептид сна), как известно, оказывает стрессопротекторное, антиоксидантное, противоэпилептическое, антидепрессивное, вегетостабилизирующее, гипногенное, кардиотропное и иммуномодулирующие воздействия, которые продемонстрированы в ряде небольших контролируемых испытаний. Препарат повышает уровень гамма-аминомасляной кислоты, нормализует уровень серотонина, препятствует снижению активности моноаминоксидаз, усиливая тем самым адаптационные возможности ЦНС [1], что крайне важно на этапе нейрореабилитации, когда дети начинают активно включаться в интенсивный график обучения после разного по длительности периода тяжелой болезни.

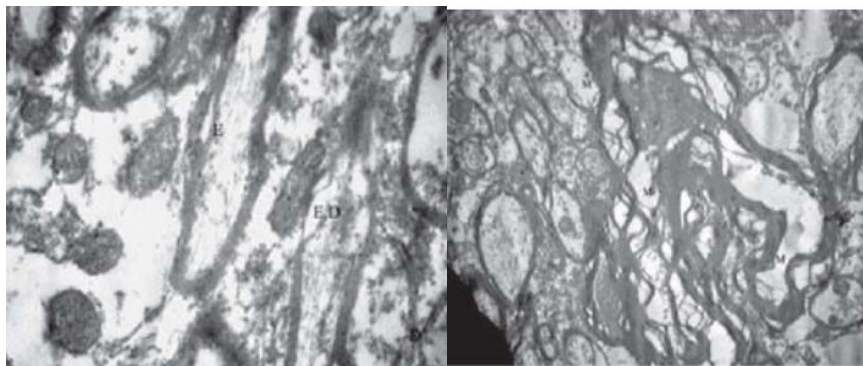


Рис. 2. Восстановление миелиновых оболочек под воздействием цереброкурина в модели гипоксии
(по Знаменской Т.К. с соавт., 2007 [2])

А. - Мозаичное разрушение миелина при тяжелой гипоксии (Е – отек, D- деструкция, увеличение 9600). Б. - Восстановление миелиновых оболочек при тяжелой гипоксии при использовании цереброкурина (увеличение 9600)

Иммуномодулятор инфламафертин содержит адrenomедуллин и алармины как основные действующие вещества препарата. Так, адrenomедуллин индуцирует синтез противовоспалительного цитокина интерлейкина 10, что важно у пациентов с эпилептическим синдромом, так как именно этот эффект позволяет добиться дальнейшего угнетения эпилептиформной активности мозга у пациентов с височным медианым склерозом. Алармины повышают функциональную активность фагоцитов, а около 40% пациентов с дефицитом фолатного цикла имеют в составе фенотипа иммунодефицита снижение функциональной активности миелопероксидазы нейтрофилов и моноцитов. Кроме этого, алармины повышают количество и функциональную активность регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом CD4+CD25+ [5], что способствует угнетению аутоиммунного процесса, в том числе – продукцию аутоантител к мозговым антигенам и нейросенсибилизацию нейтрофилов.

Немедикаментозная терапия должна включать долгосрочную работу с логопедом/дефектологом, педагогами общего профиля, специально подготовленными для работы с детьми с особыми потребностями, а также – с детскими психиатрами для коррекции поведенческих навыков. Катамнестическое 5-летнее наблюдение за детьми, прошедшими все этапы терапии, позволяет утверждать об устранении проявлений расстройств аутистического спектра у преимущественного большин-

ства пациентов. Таким образом, особая форма аутистических расстройств, связанных с генетическим дефицитом фолатного цикла, в отличие от других генетических форм аутизма, является потенциально курабельной болезнью, и этапная стратификация терапевтических подходов позволяет добиться больших успехов в преодолении инвалидирующих психических нарушений, которые ранее представлялись неизлечимыми

Список литературы

1. Евтушенко О.С., Яновская Н.В., Евтушенко С.К. с соавт. Применение интраназального нейротропика дельталицина при органических поражениях нервной системы у детей // *Международный неврологический журнал*. – 2012. – №5(51). – С. 83–85.
2. Знаменская Т.К., Похилько В.И., Ковалева Е.М. Применение цереброкурина в комплексном лечении асфиксии у новорожденных // *Медицина неотложных состояний*. – 2007. – №5(12). – С. 85–90.
3. Мальцев Д.В. Дефіцит природних кілерних Т-клітин // *Український медичний часопис*. – 2015. – №1(105). – С. 65–70.
4. Мальцев Д.В., Недопако Я.Я. Дефіцит природних кілерів: гетерогенність, клініка, діагностика, лікування, клінічні приклади // *Український медичний часопис*. – 2013. – №2(94). – С. 129–142.
5. Чуприков А.П., Бутко Г.В. Перспективы применения цереброкурина и инфламафертина в детской психиатрии // *Новости медицины и фармации*. – 2008. – № 17(257). – С. 1–4.
6. Baris S., Ergen H., Cagan H.H. Efficacy of intravenous immunoglobulin treatment in children with common variable immunodeficiency // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 21(7): – P. 514–521.
7. Billiau An.D., Witters P., Ceulemans B. et al. Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure frequency, EEG activity and cerebrospinal fluid cytokine profile // *Epilepsia*. – 2007. – Vol. 48. – P. 1739–1749.
8. Buchwald B., Ahangari R., Weishaupt A., Toyka K.V. Intravenous immunoglobulins neutralize blocking antibodies in Guillain-Barré syndrome // *Annals of Neurology*. – 2002. – Vol. 51. – P. 673–680.
9. Ciric B., Van Keulen V., Paz Soldan M. et al. Antibody-mediated remyelination operates through mechanism independent of immunomodulation // *J. Neuroimmunology*. – 2004. – Vol. 146. – P. 153–161.
10. Cowan J., Cameron D.W., Knoll G., Tay J. Protocol for updating a systematic review of randomised controlled trials on the prophylactic use of intravenous immunoglobulin for patients undergoing haematopoietic stem cell transplantation // *BMJ Open*. – 2015. – Vol. 5(8). – e008316.
11. DelGiudice-Asch G., Simon L, Schmeidler J, Brief report: a pilot open clinical trial of intravenous immunoglobulin in childhood autism // *J. Autism. Dev. Disord.* – 1999. – Vol. 29(2). – P. 157–160.

12. Finberg R.W., Newburger J.W., Mikati M.A. et al. Effect of high doses of intravenously administered immune globulin on natural killer cell activity in peripheral blood // *J. Pediatr.* – 1992. – Vol. 120(3). – P. 376–380.

13. Frye R.E. Metabolic and mitochondrial disorders associated with epilepsy in children with autism spectrum disorder // *Epilepsy Behav.* – 2015. – Vol. 47. – P. 147–157.

14. González-Toro M.C., Jadraque-Rodríguez R., Sempere-Pérez Á. Anti-NMDA receptor encephalitis: two paediatric cases // *Rev. Neurol.* – 2013. – Vol. 57(11). – P. 504–508.

15. Gupta S., Samra D., Agrawal S. Adaptive and Innate Immune Responses in Autism: Rationale for Therapeutic Use of Intravenous Immunoglobulin // *J. Clin. Immunol.* – 2010. – Suppl. 1. – S. 90–96.

16. Kamei A., Ichinohe S., Onuma R. et al. Acute disseminated demyelination due to primary human herpesvirus-6 infection // *Eur. J. Pediatr.* – 1997. – Vol. 156(9). – P. 709–712.

17. Lee S.K., Kim J.Y., Han A.R. et al. Intravenous Immunoglobulin G Improves Pregnancy Outcome in Women with Recurrent Pregnancy Losses with Cellular Immune Abnormalities // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 75(1). – P. 59–68.

18. Perlmutter S.J., Leitman S.F., Garvey M.A. et al. Therapeutic plasma exchange and intravenous immunoglobulin for obsessive-compulsive disorder and tic disorders in childhood // *Lancet.* – 1999. – Vol. 354(9185). – P. 1153–1158.

19. Pinillos-Pisón R., Llorente-Cereza M.T., López-Pisón J. Congenital infection by cytomegalovirus. A review of our 18 years' experience of diagnoses // *Rev. Neurol.* – 2009. – Vol. 48(7). – P. 349–353.

20. Plioplys A.V. Intravenous immunoglobulin treatment in autism // *J. Autism. Dev. Disord.* – 2000. – Vol. 30(1). – P. 73–74.

21. Price C.S., Thompson W.W., Goodson B. Prenatal and infant exposure to thimerosal from vaccines and immunoglobulins and risk of autism // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126(4). – P. 656–664

22. Tucker A.N., Hong L., Boorman G.A., Luster M.I. Alterations in bone marrow cell cycle kinetics by diphenylhydantoin and folate deficiency are restored by thymic peptides // *Thymus.* – 1986. – Vol. 8(3). – P. 121–127.

РЕЗЮМЕ

Етапне лікування розладів аутистичного спектру, асоційованих з генетичним дефіцитом фолатного циклу

У статті розглянуто етапне лікування дітей з розладами аутистичного спектру, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу, в світлі нових відкриттів у патогенезі захворювання. Запропоновано розділити рекомендовані терапевтичні втручання на 3 послідовні етапи:

протимікробне/противірусне лікування, імунотерапія за допомогою в/в імуноглобуліну, нейрореабілітація з використанням інноваційних медикаментозних засобів і міждисциплінарної немедикаментозної допомоги. Особлива форма аутистичних розладів, пов'язаних з генетичним дефіцитом фолатного циклу, на відміну від інших генетичних форм аутизму, є потенційно курабельною хворобою, і етапна стратифікація терапевтичних підходів дозволяє досягти великих успіхів у подоланні інвалідизуючих психічних порушень, які раніше видавалися невиліковними.

Ключові слова: розлади аутистичного спектру, етапне лікування, імуноглобулінотерапія, цереброкурін, дельталіцин, інфламафертин.

ABSTRACT

Staged treatment of autism spectrum disorders, associated with a genetic deficiency of folate cycle

The article considers the staged treatment of children with autism spectrum disorders, associated with a genetic deficiency of folate cycle, in the light of new discoveries in the pathogenesis of the disease. It is proposed to divide the recommended therapeutic interventions for 3 consecutive stages: antimicrobial/antiviral therapy, immunotherapy using i/v immunoglobulin, neurorehabilitation with innovative medication and interdisciplinary non-pharmacological aid. A special form of autism spectrum disorders associated with genetic deficiency of folate cycle, unlike other genetic forms of autism, is a potentially curable disease, and stages of stratification of therapeutic approaches help to achieve great success in overcoming disabling mental disorders, that previously represented incurable.

Key words: autism spectrum disorder, staged treatment, immunoglobulin therapy, tserebrokurin, deltalitsin, inflamaferitin.

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

Дмитрий Валериевич МАЛЬЦЕВ
кандидат медицинских наук, зав. лаборатории иммунологии
и молекулярной биологии НМУ имени А. А. Богомольца,
доцент кафедры неврологии №1 НМАПО имени П. Л. Шупика

РАССТРОЙСТВА
СПЕКТРА АУТИЗМА
У ДЕТЕЙ С ДЕФИЦИТОМ
ФОЛАТНОГО ЦИКЛА

МОНОГРАФИЯ

(Російською мовою)

Підписано до друку 12.05.2016 р. Формат 60x84 1/16.
Друк лазерний. Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman.
Ум. друк. арк. 7,65. Тираж 300 прим.

ТОВ «Видавництво «Центр учбової літератури»
вул. Електриків, 23 м. Київ 04176
тел./факс 044-425-01-34
тел.: 044-425-20-63; 425-04-47; 451-65-95
800-501-68-00 (безкоштовно в межах України)

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців,
виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 4162 від 21.09.2011 р.