

Autism Spectrum Disorders — in Search of Mechanistic Biomarkers

N. Rabbani*,

Warwick Medical School and Zeeman Institute
for Systems Biology & Infectious Disease Epidemiology Research;
University of Warwick; Clinical Sciences Research Laboratories;
University Hospital, Coventry, U.K.,
n.rabbani@warwick.ac.uk

P.J. Thornalley**,

Diabetes Research Center, Qatar Biomedical Research Institute (QBRI),
Hamad Bin Khalifa University; Qatar Foundation, Doha, Qatar,
pthornalley@hbku.edu.qa

Autism spectrum disorders are a group of neuropsychiatric conditions of increasing prevalence. They are initially detected in early development of children. Diagnosis is currently made on the basis of clinical behaviour and cognition. Improvements in accuracy, timeliness and access to diagnosis to help manage the condition is high on the agenda of the autistic communities. A blood test may help for early-stage detection of autism spectrum disorders to focus support where required — particularly when symptoms are most challenging. This article discusses briefly the scientific basis of diagnosis of autism spectrum disorders and recent emergence of candidate blood tests for autism. We conclude that further validation and improvements in understanding of autism spectrum disorders are required to provide the scientific basis and classifier characteristics for accurate and reliable diagnosis by clinical chemistry blood test.

Keywords: blood test, diagnosis, proteomics, autistic adults, delayed diagnosis.

Autism Spectrum Disorders (ASD) are a collection of neuropsychiatric disorders characterized by difficulties in social interactions and interests causing a wide variety of disabilities. These commonly present as speech disturbances, repetitive and/or compulsive behaviors, hyperactivity, anxiety and difficulty of adaptation to new environments, with or without cognitive impairment [1]. The high heterogeneity

of the clinical presentation makes diagnosis of ASD difficult and uncertain, particularly at the early stages of development [15]. Discovery and development of robust biomarkers — surrogate indicators of the clinical condition — for diagnosis and progression of severity of ASD would facilitate early diagnosis and prioritization of support to those who likely will otherwise become most severely affected.

For citation:

Rabbani N., Thornalley P.J. Autism Spectrum Disorders — in Search of Mechanistic Biomarkers. *Autizm i narusheniya razvitiya = Autism & Developmental Disorders (Russia)*. 2019. Vol. 17. No 1 (62). Pp. 15–23. doi: 10.17759/autdd.2019170102

* *Rabbani Naila*, Ph.D., Reader of Experimental Systems Biology, Warwick Medical School and Zeeman Institute for Systems Biology & Infectious Disease Epidemiology Research; University of Warwick and Deputy Director of Research Technology Platform — Proteomics, University of Warwick, Coventry, U.K. Clinical Sciences Research Laboratories; University Hospital, Coventry, U.K. E-mail: N.Rabbani@warwick.ac.uk

** *Thornalley Paul J.*, Ph.D., Director of Diabetes Research Center, Qatar Biomedical Research Institute (QBRI), Hamad Bin Khalifa University; Qatar Foundation, Doha, Qatar. E-mail: pthornalley@hbku.edu.qa

Genetic causes of ASD are evident in a minority of cases, with most ASD likely resulting from the combination of environmental factors with a large number of (>1000) contributing causal genetic variants, each associated with a low increase in risk. A study of twins found that genetic variables contribute 35%–40% toward the risk of developing ASD and that the remaining 60% was associated with prenatal, perinatal, and postnatal environmental factors [5]. For some subjects, a single genetic variant may be sufficient to produce ASD; and in others, complex combinations of many common genetic variants may additively increase the risk of ASD. The largest genome-wide association studies performed to date were statistically underpowered to identify a single genetic variant of genome-wide significance. Further larger studies are required. It is also common in early onset neurodevelopmental disorders that risk factors are either rare with large effect or frequent with small effect [3]. Biological pathways associated with ASD through genetic variants linked to increased susceptibility involve chromatin remodelling, transcription, cytoskeleton dynamics, synaptic function, protein synthesis, damaging modifications and degradation of proteins, and amino acid transporters [2; 3]. Transcriptomic, proteomic and metabolomic profiling have been proposed for diagnosis of ASD. Diagnostic performance judged by area under-the-curve of receiver operating characteristic (AUROC) plot of 0.73–0.91 [4; 11; 13]. Typically with ‘omics technologies approaches for diagnosis of a disease of polygenic risk, moving closer to the phenotype — from genetics, to proteomics and metabolomics, we move closer to causality and diagnosis becomes more secure [9]. Improved diagnostic performance may be achieved with one of a relatively small number combinations of biomarker proteins and/or metabolites linked to the causal mechanisms of ASD.

Why early diagnosis of autism is important

Diagnosis of autism is important for personalized support and care. This is particularly

important in the early stages where interventions may help diminish progression of symptoms to undesirable severity; and also because with advancing intellectual development and awareness, subjects with ASD may learn to mask the symptoms — making secure diagnosis challenging [8]. Also, accurate and accessible diagnosis of ASD in parents would provide appropriate clinical support rather than undiagnosed cases be attributed to “bad parenting” and removal of children into the care for social services. For multiple reasons, therefore, the ASD community is deserving of improved service by the clinical diagnostics industry and stakeholders. Some groups within the community of those affected by ASD and their carers have expressed resistance to the development of early-state diagnosis. This may be linked, in part, to fears that if pre-natal tests were possible and developed, social pressure may develop to impose negative fetal selection linked to ASD risk predictors. Benefits associated with some ASD phenotypes may thereby be lost in pursuit of avoidance of difficulties of providing care and support for an individual with expected ASD. Such application of ASD diagnosis would be ethically unacceptable. Such fears should not detract from the benefits that diagnosis of ASD may give for appropriate provision of care and support for children and adults affected.

Promise of a blood-based diagnosis for autism

Efforts have been made to develop a blood test for early and more accurate diagnosis. To date only two studies have shown promise and been taken forward to validate the assay.

1. Multivariate analysis of biomarkers of oxidative stress and DN methylation ASD prediction

Howson *et al* [6] developed a statistical model utilising biomarkers associated with folic acid-dependent the one carbon metabolic pathway of and trans-sulfuration pathways.

Abnormalities in levels of metabolites of these pathways and environment effects have been observed in subjects with ASD. The approach taken in this study to use metabolites already associated with ASD was appropriate. They developed a multivariate statistical model using 24 analytes measured in blood samples and selected 6 that gave the best classifier discrimination between subjects with and without ASD. Analytes included amino acids, oxidised and reduced glutathione (GSSG and GSH, respectively), 3-nitrotyrosine and 8-hydroxydeoxyguanosine and others from the Integrated Metabolic And Genomic Endeavour (IMAGE) study [10]. They found five variables provided optimum classification: oxidized glutathione. GSSG, (GSH + 2 x GSSG)/GSSG, 3-nitrotyrosine, tyrosine, and fraction of total cysteine (cysteine + 2 x cysteine) present as cysteine. In a second study with similar analytes algorithm training optimized to a different set of 5 analytes. This was followed by validation of the model using data from independent clinical studies, however, data of two of the 5 analytes — stated as the most important variables in the statistical model — were unavailable. The validation set also only included subjects with clinical ASD diagnosis and so the validation only tested for true positive and false negative ASD classifications [7]. This greatly impaired the validation process. There is some doubt, therefore, as to which is the best analyte combination to use. Further validation with the complete set of optimised analytes in an independent clinical subject group including subjects with and without ASD is required. Dissemination of standardised protocols for analyte estimation is also required to facilitate independent corroboration in other laboratories.

2. Protein glycation and oxidation and related amino acid metabolome

In our own research we took an innovative approach of assessing the diagnostic utility of spontaneous low level glycation, oxidation and nitration modifications of proteins and related amino acid metabolites for diagno-

sis of ASD [2]. Such biomarkers often shown subtle changes in multiple analytes or a “fingerprint” of metabolic disturbances in clinical conditions [14]. We used a machine learning approach for an objective, data-driven selection of protein damage biomarkers by glycation, oxidation and nitration for optimum diagnosis. We found that children with ASD had increased modifications by selected sugar-derived advanced glycation endproducts (AGEs), N_ε-carboxymethyllysine (CML) and N_ω-carboxymethyl-arginine (CMA), and increased oxidation damage marker, dityrosine (DT), in plasma protein, with respect to children without ASD. From study of renal handling of amino acids, we found that children with ASD had decreased renal clearance of arginine and CMA with respect to children without ASD. Algorithms to discriminate between children with and without ASD gave strong diagnostic performance with features: plasma protein AGEs — CML, CMA and 3-deoxyglucosone-derived hydroimidazolone (3DG-H), and oxidative damage marker, DT. With these 4 analytes, AUROC was 0.94 and sensitivity and specificity was 92% and 84%, respectively; *cf.* clinical diagnosis by the well-studied Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) protocol where sensitivity and specificity is highly variable and lower than achieved in our blood test — ranges of 60–90% and 70–81%, respectively [15]. We did internal 2-fold cross-validation and repeated this 10 times with independent, random data selection. Intriguingly, the biomarkers related to glyoxal-mediated modifications of proteins (CML and CMA) and activation of dual oxidase (DUOX) which may implicate lipid peroxidation and abnormal hyper activation of DUOX following a challenge to gastrointestinal immunity in ASD. The effect on renal clearance of arginine and CMA suggested a link to arginine transporters which has been implicated from rare genetic variants previously [12]. All analytes were measured concurrently by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) which is readily translatable to implementation in the clinical chemistry laboratory; *cf.* the test

developed by Howsman *et al.* [6; 7] which requires several different analytical runs. This test is applicable to children and adults; further studies to confirm this are planned. The study was a biomarker discovery study and comes with the caveats of requirement for further validation in independent and larger clinical study groups, including subjects with early-stage ASD.

Concluding remarks

Clinical diagnosis of ASD has profound consequences for individuals and their families, friends and carers. Delayed referral of children exhibiting symptoms of ASD to experts in child development and psychiatry for diagnosis also creates profound anxieties

for individuals and their support groups. Improved accuracy and access to diagnosis, particularly when symptoms first emerge and with follow-up, is required to provide appropriate personalized care and support. Diagnosis protocols requiring engagement of multiple clinical specialists cannot meet current demand and hence long referral times for families are common. A high performance blood test could meet the clinical demand and engage the clinical diagnostics industry with benefit for all stakeholders. Current and further blood tests in development require rigorous validation and to achieve high accuracy and low false-positive rates before implementation. There are encouraging signs, however, that this may be achievable with a limited number of biomarkers that may also point to the underlying mechanism of ASD. ■

Acknowledgements

NR would like to acknowledge the correspondence and the communication with the autistic community via emails and the websites <https://www.facebook.com/AutismBloodTest/>, <https://m.facebook.com/Planet.Autism.Resource/> that encourage us to write this review.

References / Литература

1. American Psychiatric Association: Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders [DSM-5]. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, 2013.
2. Anwar A, Abruzzo P.M., Pasha S., Rajpoot K., Bolotta A., Ghezzi A., Marini M., Posar A., Visconti P., Thornalley P.J., Rabbani N. Advanced glycation endproducts, dityrosine and arginine transporter dysfunction in autism — a source of biomarkers for clinical diagnosis. *Molecular Autism*, 2018, vol. 9:3.
3. Bourgeron T. Current knowledge on the genetics of autism and propositions for future research. *Comptes Rendus Biologies [Biology Reports]*, 2016, vol. 339, pp. 300–307.
4. Diémé B., Mavel S., Blasco H., Tripi G., Bonnet-Brilhault F., Malvy J., Bocca C., Andres C.R., Nadal-Desbarats L., Emond P. Metabolomics Study of Urine in Autism Spectrum Disorders Using a Multiplatform Analytical Methodology. *Journal of Proteome Research*, 2015, vol. 14, pp. 5273–5282.
5. Hallmayer J., Cleveland S., Torres A. *et al.* Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Archives of General Psychiatry*, 2011, vol. 68, pp. 1095–1102.
6. Howsman D.P., Kruger U., Melnyk S., James S.J., Hahn J. Classification and adaptive behavior prediction of children with autism spectrum disorder based upon multivariate data analysis of markers of oxidative stress and DNA methylation. *PLOS Computational Biology*, 2017, vol. 13. doi:10.1371/journal.pcbi.1005385
7. Howsman D.P., Vargason T., Rubin R.A., Delhey L., Tippett M., Rose S., Bennuri S.C., Slattery J.C., Melnyk S., James S.J., Frye R.E., Hahn J. Multivariate techniques enable a biochemical classification of children with autism spectrum disorder versus typically-developing peers: A comparison and validation study. *Bioengineering & translational medicine*, 2018, vol. 3, pp. 156–165.
8. Hull L., Petrides K.V., Allison C., Smith P., Baron-Cohen S., Lai M.-C., Mandy W. “Putting on My Best Normal”: Social Camouflaging in Adults with Autism Spectrum Conditions. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2017, vol. 47, pp. 2519–2534.
9. Jenkinson C.P., Göring H.H.H., Arya R., Blangero J., Duggirala R., DeFronzo R.A. Transcriptomics in type 2 diabetes: Bridging the gap between genotype and phenotype. *Genomics Data*, 2016, vol. 8, pp. 25–36.

10. Melnyk S., Fuchs G.J., Schulz E., Lopez M., Kahler S.G., Fussell J.J., Bellando J., Pavliv O., Rose S., Seidel L., Gaylor D.W., James S.J. Metabolic Imbalance Associated with Methylation Dysregulation and Oxidative Damage in Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2012, vol. 42, pp. 367–377.
11. Momeni N., Bergquist J., Brudin L., Behnia F., Sivberg B., Joghataei M.T., Persson B.L. A novel blood-based biomarker for detection of autism spectrum disorders. *Translational Psychiatry*, 2012, vol. 2. doi:10.1038/tp.2012.19
12. Nava C., Rupp J., Boissel J.-P., Mignot C., Rastetter A., Amiet C., Jacquette A., Dupuits C., Bouteiller D., Keren B., Ruberg M., Faudet A., Doummar D., Philippe A., Périsset D., Laurent C., Lebrun N., Guillemot V., Chelly J., Cohen D., Héron D., Brice A., Closs E.I., Depienne C. Hypomorphic variants of cationic amino acid transporter 3 in males with autism spectrum disorders. *Amino Acids*, 2015, vol. 47, pp. 2647–2658.
13. Scherer S.W., Dawson G. Risk factors for autism: translating genomic discoveries into diagnostics. *Human Genetics*, 2011, vol. 130, pp. 123–148.
14. Thornalley P.J. Quantitative screening of protein glycation, oxidation, and nitration adducts by LC-MS/MS: protein damage in diabetes, uremia, cirrhosis, and Alzheimer's disease. In *Dalle-Donne I., Scaloni A., Butterfield D.A. (eds.) Redox Proteomics*. Hoboken: Wiley, 2006. Pp. 681–728.
15. Zwaigenbaum L., Penner M. Autism spectrum disorder: advances in diagnosis and evaluation. *The BMJ*, 2018, vol. 361, k1674.

Расстройства аутистического спектра: в поисках биомаркеров крови

Н. Раббани*,
Ворвикская Медицинская школа,
Зееманский Институт системной биологии
и исследования эпидемиологии инфекционных заболеваний;
Университет Ворвика; Лаборатория клинических научных исследований;
Университетский госпиталь, Ковентри, Великобритания
n.rabbani@warwick.ac.uk

П.Дж. Торнэлли**,
Центр исследования диабета,
Катарский институт биомедицинских исследований
Университет имени Хамада Бин Халифа;
Катарский фонд образования, науки и общественного развития, Доха, Катар.
pthornalley@hbku.edu.qa

Для цитаты:

Раббани Н., Торналли П.Дж. Расстройства аутистического спектра: в поисках биомаркеров крови // Аутизм и нарушения развития. 2019. Т. 17. № 1 (62). С. 15–23. doi: 10.17759/autdd.2019170102

* Раббани Наила (Rabbani Naila), доктор наук, лектор по биологии экспериментальных систем, Ворвикская медицинская школа и Зееманский институт биологии систем и исследования эпидемиологии инфекционных заболеваний, Ворвикский университет; заместитель директора технологической исследовательской платформы — протеомика, Ворвикский университет, Ковентри, Великобритания. Исследовательские лаборатории клинических наук; Университетский госпиталь, Ковентри, Великобритания. E-mail: N.Rabbani@warwick.ac.uk

** Торнэлли Поль Дж., доктор наук, директор Центра исследования диабета, Катарский институт биомедицинских исследований, Университет имени Хамада Бин Халифа; Катарский фонд образования, науки и общественного развития, Доха, Катар. E-mail: pthornalley@hbku.edu.qa

Расстройства аутистического спектра представляют собой группу нейropsychиатрических состояний возрастающей распространенности. Первоначально они выявляются в период раннего развития детей. В настоящее время диагноз ставится на основании клинических особенностей поведения и познавательной активности. Более высокая точность, своевременная и доступная диагностика, чтобы улучшить состояние ребенка, занимает важное место в деятельности аутистических сообществ. Чтобы выявить расстройства аутистического спектра на ранней стадии, а также оказать ребенку необходимую помощь, нужно сдать анализ крови, особенно когда симптомы являются спорными. В данной статье кратко рассматриваются научные основы диагностики расстройств аутистического спектра и недавнее появление анализов крови, способных выявить аутизм. Мы считаем, что необходима дальнейшая валидация и более полное понимание расстройств аутистического спектра для накопления научной базы с целью более точной и достоверной диагностики по биохимическому анализу крови.

Ключевые слова: анализ крови, диагностика, протеомика, аутичные взрослые, отсроченная диагностика.

Расстройства аутистического спектра (РАС) представляют собой совокупность нейropsychиатрических нарушений, характеризующихся трудностями в социальных взаимодействиях и особенностями интересов, вызывающих широкий спектр инвалидности. Они обычно проявляются в нарушениях речи, повторяющемся и/или компульсивном поведении, гиперактивности, тревоге и трудностях адаптации к новым условиям, а также могут сопровождаться когнитивными нарушениями [1]. Высокая гетерогенность клинической картины делает диагностику РАС сложной и неопределенной, особенно на ранних стадиях развития нарушения [15]. Открытие и разработка надежных биомаркеров — искусственных индикаторов клинического состояния для диагностики и определения тяжести РАС облегчили бы раннюю диагностику и обеспечили первоочередную поддержку для наиболее уязвимой группы.

Реже всего можно выявить генетические причины РАС. В большинстве случаев они обусловлены сочетанием воздействия факторов окружающей среды и большим количеством (>1000) разнообразных генетических нарушений, каждое из которых отвечает за незначительное увеличение риска РАС. Исследование близнецов показало, что генетические нарушения вносят 35–40% в риск развития РАС, а остальные 60% связаны с пренатальными, перинатальными и постнатальными факторами окружающей среды [5].

У некоторых людей одного генетического нарушения может быть достаточно для появления РАС; а у других сложные комбинации многих генетических поломок могут дополнительно увеличивать риск РАС. Крупнейшие проведенные на сегодняшний день исследования по геномной связи статистически не смогли выявить одного статистически значимого генетического нарушения в полногеномном исследовании. Необходимы дальнейшие более крупные исследования. Часто также при ранних проявлениях неврологических нарушений факторы риска могут воздействовать сильно, но достаточно редко, или часто и не сильно [3]. Биологическая составляющая связанная с РАС через генетические нарушения, в сочетании с повышенной восприимчивостью, включает изменение хроматина, транскрипции, динамики цитоскелета, синаптической функции, синтеза белка, повреждение и деградацию белков и переносчиков аминокислот [2; 3]. Для диагностики РАС было предложено составлять профиль транскрипции, протеомный и метаболомический профиль. Диагностические показатели, оцениваемые по площади под ROC-кривой (AUROC), лежат в диапазоне 0,73–0,91 [4; 11; 13]. Как правило, используют указанные выше подходы для диагностики заболеваний полигенного риска, при смещении к фенотипу, — от генетики, к протеомике и метаболомике мы приближаемся к причинно-следственной связи, и диагностика становится более надежной [9]. Улучшение диагностических

показателей может быть достигнуто с помощью одной из относительно небольшого числа комбинаций белков-биомаркеров и/или метаболитов, связанных с причинно-следственными механизмами РАС.

Почему важна ранняя диагностика аутизма

Диагностика аутизма важна для персонализированной поддержки и ухода. Это особенно важно на ранних стадиях, когда вмешательство может остановить развитие симптомов до нежелательной степени тяжести; а также потому, что по мере развития интеллекта и осознанности дети с РАС могут научиться маскировать симптомы, что уменьшит надежность диагностики [8]. Кроме того, для родителей точный и понятный диагноз РАС мог бы обеспечить соответствующую клиническую поддержку, вместо того чтобы списывать недиагностированные случаи на «плохое воспитание» и передавать детей в социальные службы. Поэтому по многим причинам сообщество людей с РАС и заслуживает более качественных услуг клинической диагностики и других организаций. Некоторые группы в сообществе людей с РАС, и их опекуны, отрицательно отнеслись к развитию ранней диагностики. Это может быть связано, в частности, с опасениями, что, если бы пренатальные тесты были возможны и разработаны, общество могло бы вынуждать матерей делать аборт по показаниям «риск РАС». Таким образом, желание избежать рождения ребенка с вероятным РАС и трудностей в обеспечении ухода и поддержки негативно скажется на ранней диагностике, способной выявить некоторые фенотипы РАС. Однако, такая позиция в диагностике РАС была бы этически неприемлемой. Эти опасения не должны умалять тех преимуществ, которые может дать своевременная диагностика РАС для обеспечения надлежащего ухода и поддержки детей и взрослых.

Перспективы диагностики аутизма на основе анализа крови

Были предприняты усилия по разработке анализа крови для ранней и более точной диагностики. На сегодняшний день только два исследования показали перспективность и были продолжены для подтверждения результатов.

1. Многопараметрический анализ биомаркеров окислительного стресса и прогнозирование РАС по метилированию ДНК

Хаусмон и др. (Howson et al) [6] разработали статистическую модель, использующую биомаркеры, зависимиыми от фолиевой кислоты одноуглеродным метаболическим путем и транс-сульфурационными путями. У людей с РАС выявлены аномалии метаболитов в этих путях совместно с негативным влиянием окружающей среды. Таким образом, целесообразным оказалось использование метаболитов, уже связанных с РАС. Авторы исследования разработали многофакторную статистическую модель с измерением 24 параметров в образцах крови, и отобрали 6, которые лучше всего позволяли отделить людей с и без РАС. Определяемые параметры включали аминокислоты, окисленный и восстановленный глутатион (GSSG и GSH, соответственно), 3-нитротирозин и 8-гидроксидоксигуанозин и другие показатели из всестороннего метаболического и геномного исследования (IMAGE) [10]. Авторы выделили пять переменных, обуславливающих наличие или отсутствие риска РАС: окисленный глутатион GSSG, (GSH + 2-х GSSG)/GSSG, 3-нитротирозин, тирозин и фракцию полного цистеина (цистеин + 2-х цистеин), присутствующую в виде цистеина. Во втором исследовании с аналогичными параметрами алгоритм обучения был оптимизирован для других 5 параметров. Затем была проведена валидация модели с использованием данных независимых клинических исследований, однако данные для двух наборов из пяти опреде-

ляемых параметров, заявленных в качестве наиболее важных переменных в статистической модели, были недоступны. Также в валидационную выборку вошли только люди с клиническим диагнозом РАС, и поэтому валидация выявляла только истинные положительные и ложноотрицательные классификации РАС [7]. Это существенно затруднило процесс валидации. Поэтому есть некоторые сомнения относительно того, какую комбинацию исследуемых параметров лучше всего использовать. Необходимо провести дальнейшую валидацию с полным набором параметров на независимой выборке, в которую войдут как люди с РАС, так и без него. Необходимы также стандартизированные протоколы оценки определяемых параметров для облегчения независимой проверки в других лабораториях.

2. Гликирование и окисление белка и связанный с ними аминокислотный метаболизм

В наших собственных исследованиях мы использовали инновационный подход оценки диагностической полезности спонтанного низкого уровня гликирования, окисления и нитрации белков и связанных с ними аминокислотных метаболитов для диагностики РАС [2]. Такие биомаркеры часто демонстрируют незначительные изменения в нескольких определяемых элементах или «отпечаток» метаболических нарушений в клинических условиях [14]. Мы использовали машинное обучение для объективного, основанного на данных выбора биомаркеров повреждения белка путем гликирования, окисления и нитрации для оптимальной диагностики. Мы обнаружили, что у детей с РАС наблюдались изменения выбранных конечных продуктов гликирования сахара (AGE), N_ε-карбоксиметиллизина (CML) и N_ω-карбоксиметиларгинина (CMA), а также повышенное содержание маркера окислительного повреждения дитиозина (DT) в белке плазмы по сравнению с детьми без РАС. Изучая удержание почками аминокислот

мы обнаружили, сниженный почечный клиренс аргинина и CMA у детей с РАС по сравнению с детьми без аутизма. Наиболее показательными параметрами для дифференциации детей с РАС и без РАС были следующие: конечные продукты гликирования в плазме — карбоксиметиллизина, карбоксиметилакридонона и 3-деоксиглюкозной производное гидроимидазона (3DG-H), и маркер окислительного повреждения, DT. Показатель под ROC-кривой для этих четырех параметров составил 0,94, а чувствительность и специфичность — 92% и 84%, соответственно. Клинический диагноз по доработанному опроснику ADI-R (Опроснику для диагностики аутизма, адаптированный вариант), демонстрирует более низкую чувствительность и специфичность, чем в нашем анализе крови: 60–90% и 70–81%, соответственно [15]. Мы провели внутреннюю 2-кратную перекрестную проверку и повторили процедуру 10 раз с независимым случайным подбором данных. Интересно, что биомаркеры, связанные с гликоал-опосредованными модификациями протеинов (CML и CMA) и активацией двойной оксидазы (DUOX), которая показывает перекисное окисление липидов и аномальную гиперактивацию DUOX, были связаны с проблемами с желудочно-кишечным иммунитетом у детей с РАС. Воздействие на почечный клиренс аргинина и CMA предполагает связь с транспортерами аргинина, которая ранее ассоциировалась с редкими генетическими изменениями [12]. Все определяемые параметры измерялись одновременно методом жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (LC-MS/MS), что легко возможно проводить в клинической химической лаборатории по сравнению с тестом, разработанный Хаусманом и др. (Howsman *et al.*) [6; 7], который требует нескольких различных повторений теста. Этот тест применим к детям и взрослым; в настоящее время запланированы дальнейшие исследования для подтверждения полученных результатов. Исследование было направлено на

открытие биомаркера и учитывает необходимость дальнейшей валидации на независимых и более многочисленных клинических группах, включая лиц с своевременно диагностированными РАС.

Заключительные замечания

Клинический диагноз РАС обуславливает серьезные последствия для людей и их семей, друзей и опекунов. Часто запоздалое направление на диагностику детей с симптомами РАС к специалистам в области развития и психиатрии вызывает глубокую тревогу. Для обеспечения надлежащего индивидуального ухода и поддержки необходимо повысить точность диагностики и расширить к ней доступ, особенно при по-

явлении первых симптомов заболевания, а также и при последующем наблюдении. Диагностические протоколы, требующие привлечения многих клинических специалистов, не могут удовлетворить текущие потребности, что приводит к позднему обращению к врачу-специалисту. Высокодостоверный анализ крови мог бы удовлетворить потребность в диагностике РАС. Текущие и последующие анализы крови в процессе разработки требуют до внедрения тщательной валидации, более точных результатов и сокращения ложноположительных показателей. Есть обнадеживающие признаки того, что достоверный диагноз может быть получен с ограниченным числом биомаркеров, которые могут указывать на лежащие в основе нарушений расстройства аутистического спектра. ■

Благодарность

НР хотела бы поблагодарить за переписку и общение через электронную почту и веб-сайты <https://www.facebook.com/AutismBloodTest/>. <https://m.facebook.com/Planet.Autism.Resource/>, сообщество людей с аутизмом, которые побудили нас написать этот обзор.