

Znaczenie mikroRNA jako potencjalnych markerów genetycznych w diagnostyce i terapii zaburzeń neurokognitywnych

The importance of microRNAs as potential genetic markers in the diagnosis and therapy of neurocognitive disorders

Aniela Zubek, Katarzyna Manikowska

Katedra i Zakład Farmakologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Terapia chorób związanych z zaburzeniami neurokognitywnymi stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny. Jednym z przykładów są zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD). Według wyliczeń WHO kilkadziesiąt milionów osób na świecie cierpi na autyzm, a liczba ta rośnie. Obecnie leczenie opiera się na znoszeniu objawów, diagnostyka zaś głównie na ocenie objawów behawioralnych. Pojawiają się kolejne doniesienia na temat potencjalnych markerów i podłoża molekularnego zaburzeń neurokognitywnych, w tym ASD. Nowe markery związane są z układem immunologicznym, specyficznymi białkami, małymi niekodującymi RNA oraz zmianami w anatomii mózgu. Ogromne znaczenie przypisuje się miRNA. Celem niniejszej pracy jest podsumowanie aktualnej wiedzy na temat markerów oraz potencjalnych celów farmakoterapii zaburzeń neurokognitywnych, szczególnie miRNA i obiecującego znaczenia miR-140-3p. Jest ono jednym z najliczniej występujących miRNA w korze mózgu człowieka, a jego znaczna rola w patogenezie być może umożliwi wykorzystanie go w diagnostyce i leczeniu ASD. Niezbędne są dalsze badania, które z pewnością przyniosą nadzieję na ogromny postęp. (*Farm Współ 2018; 11: 103-109*)

Słowa kluczowe: zaburzenia neurokognitywne, autyzm, mikroRNA

Abstract

The therapy of neurocognitive disorders is a large problem of modern medicine. An important example is the autism spectrum disorder (ASD). According to the WHO, tens of millions of people in the world suffer from ASD and this number increases. Currently, the treatment is based on the relief of symptoms, while the diagnosis is based on the analysis of behavior. Many new studies refer to potential markers and molecular pathogenesis of neurocognitive disorders. New markers are related to the immune system, specific proteins, small non-coding RNAs and changes in brain anatomy. The aim of this article is to summarize the knowledge about markers and potential targets for pharmacotherapy of neurocognitive disorders, including miRNAs, especially miR-140-3p. It is one of the most abundant miRNA in the human brain's cortex, and its role in ASD pathogenesis may enable its use in the diagnosis and treatment. Further research is necessary, giving hope for huge progress. (*Farm Współ 2018; 11: 103-109*)

Keywords: neurocognitive disorders, autism, mikroRNA

Wprowadzenie

Zaburzenia neurokognitywne stanowią podstawę szeregu chorób, których patogeneza oparta jest na zmianach czynników neurorozwojowych, genetycznych oraz środowiskowych. Choroby te cechują nieprawidłowości rozwojowe, oddziałujące na funkcje i integralność neuronów. Ze względu na fakt, iż zaburzenia te dotyczą milionów ludzi na całym świecie, co niesie za sobą duży wpływ na społeczeństwo, zajmują

ważne miejsce wśród zagadnień, wokół których skupia się zainteresowanie świata nauki. Obecnie terapia tych zaburzeń obejmuje jedynie leczenie objawowe, a jej skuteczność jest marginalna. Wskazuje to na konieczność poszukiwania nowych kierunków terapii, a także dogłębnego poznania patoetiologii zaburzeń neurokognitywnych, do których zalicza się chorobę Parkinsona, Huntingtona, Alzheimera oraz autyzm.

Chorobą, na której skupia się między innymi niniejsza praca jest zaburzenie ze spektrum autyzmu (ASD). ASD jest zaburzeniem neurorozwojowym charakteryzującym się nieumiejętnością funkcjonowania w społeczności, zaburzoną komunikacją międzyludzką i stereotypowymi lub powtarzającymi się zachowaniami [1]. U podnóża tej choroby leżą zmiany w organizacji ośrodków korowych, ich łączności oraz nieprawidłowa morfogeneza kolców dendrytycznych i plastyczność synaptyczna [2].

Biorąc pod uwagę fakt, że wiedza na temat patogenezy zaburzeń neurokognitywnych, w tym ASD, jest marginalna, jak również zakres metod diagnostycznych oraz terapii jest wielce ograniczony, rozwój nauki podążający w tym kierunku, jest niesłychanie ważny. Wiele obiecujących badań dotyczy znaczenia obrazowania mózgu, mutacji genetycznych (zróżnicowania liczby kopii (CNV) i punktowych), zaburzeń ekspresji genów, stresu oksydacyjnego czy proteomiki, związanej między innymi z badaniami nad zmianami stężeń czynników immunologicznych, takich jak cytokiny, interleukiny, interferony, chemokiny, w rozwoju wiedzy na temat patogenezy, diagnostyce oraz leczeniu chorób neurokognitywnych [3,4]. Duże nadzieje wiąże się z mikroRNA (miRNA).

Niniejsza praca ma na celu podsumowanie aktualnej wiedzy na temat markerów genetycznych oraz wskazanie potencjalnych celów farmakoterapii zaburzeń neurokognitywnych, ze szczególnym uwzględnieniem miRNA.

Rola mikroRNA w patogenezie zaburzeń neurokognitywnych

Etiologia dysfunkcji poznawczych w chorobach neurodegeneracyjnych jest złożona i niejasna, jedną z bardziej powszechnych jest hipoteza neurorozwojowa. Wszystkie kolejne etapy rozwoju mózgu są bardzo plastyczne i podatne na wpływ czynników środowiskowych i doświadczalnych, a każde odejście od norm we wczesnych etapach życia może prowadzić do dysfunkcji poznawczych w późniejszym życiu [5].

Wśród modulatorów tych procesów, jak również interesujących biomarkerów wyróżnić można miRNA, których znaczenie ugruntowuje bezinwazyjna wykrywalność w surowicy krwi, płazmie lub płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) [6] oraz fakt stabilności i porównywalności poziomów między poszczególnymi pacjentami. Niezmiernie ważnym jest także istnienie specyficznych modeli ekspresji

w powiązaniu z zarówno stanami fizjologicznymi, jak i patologicznymi [7].

MiRNA są klasą małych niekodujących RNA (około 21 nukleotydów), które mogą modulować komórkowe matrycowe RNA (mRNA) i poziomy białek poprzez interakcję ze specyficznymi mRNA nieulegającym translacji, zazwyczaj w regionie 3', powodując degradację mRNA lub hamowanie translacji [8].

Zmiany poziomu miRNA zostały wykryte w różnych chorobach neurodegeneracyjnych (np. choroba Huntingtona, Parkinsona i Alzheimerera) lub zaburzeniach neurorozwojowych (np. schizofrenia, autyzm). Co więcej wykazano, że ekspresja białek zaangażowanych w wymieniowe choroby (np. α -synukleina, huntingtyna) lub uczestniczących w szlakach regulujących funkcje neuronów (morfologia neuronów, plastyczność synaptyczna, długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP) jest regulowana przez miRNA [9].

W różnych regionach mózgu u pacjentów cierpiących na chorobę Parkinsona wykazano zwiększoną ekspresję miRNA-133b, miRNA-7, miRNA-16, miRNA-106a oraz miRNA-224, zaś w przypadku miRNA-205 była ona zmniejszona. Wymienione miRNA zaangażowane są w regulację ekspresji α -synukleiny oraz jej kumulację [10]. Zmiany takich miRNA jak miRNA-137, miRNA-15, miRNA-181b, miRNA-26b, miRNA-29b, miRNA-30b, miRNA-106b, miRNA-132/132, miRNA-198, miRNA-206, miRNA-9, miRNA-124 i miRNA-219 zostały odnotowane w pośmiertnych badaniach mózgu u pacjentów ze schizofrenią (SCZ) [11]. Ich rola w regulacji receptora dopaminy D2 (DRD2) [12], i sygnalizacji receptora N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) została udowodniona badaniami [13]. Ekspresja obecnych w mózgu miRNA jest zaburzona także w przypadku pacjentów z Płasawicą Huntingtona (HD) Dotyczy to min. miRNA-196a, miRNA-34b, miRNA-22, miRNA-29c, miRNA-128, miRNA-132, miRNA-138, miRNA-218, miRNA-222, miRNA-344, miRNA-674, miRNA-200, miRNA-200a i miRNA-200c. Przewidywane geny docelowe uczestniczą w regulacji plastyczności synaptycznej, neurogenezy i przeżycia neuronów [14].

Rola miRNA w patogenezie i leczeniu autyzmu

Zgodnie z danymi WHO około 67 milionów osób na świecie cierpi na autyzm, a liczba ta wzrasta o 14% rocznie [3]. Wśród możliwych przyczyn autyzmu wymieniane są modyfikacje genetyczne, czego dowo-

dem są wyniki licznych badań opartych na materiale genetycznym [15,16]. ASD jest genetycznie bardzo heterogeniczną chorobą. Nie ustalono dotąd wspólnych loci ryzyka dla ASD, choć powiązano z tą chorobą kilkaset różnych loci, w tym mutacje pojedynczych genów, nieprawidłowości chromosomalne i zmiany liczby kopii, co jawi się jedną z przyczyn wspomnianego wzrostu liczby zdiagnozowanych przypadków [17]. Do tej pory nie istnieje dostępny test molekularny umożliwiający wykrycie ASD. Sytuacja bardziej się komplikuje przez związek autyzmu z chorobami współistniejącymi oraz fakt, że objawy ASD stają się w pełni widoczne w wieku szkolnym. Średni wiek rozpoznania u dzieci z ASD wynosi 3 lata, a około połowa z nich to wyniki fałszywie dodatnie [18]. Kontrola biomarkerów, która może być wykonywana w każdej chwili już od urodzenia, stanowi atrakcyjny dodatek do zestawu narzędzi w diagnostyce autyzmu.

Nie należy zapominać, że za podatność na ASD w znacznej mierze odpowiadają czynniki środowiskowe, które obejmują choroby metaboliczne, zaburzenia immunologiczne, choroby zakaźne, odżywianie, zaburzenia mikroflory jelitowej i wpływ wielu toksycznych substancji, takich jak pestycydy, metale ciężkie i zanieczyszczenia atmosferyczne. Dzieci z ASD ujawniły szereg polimorfizmów genetycznych, związanych ze zmniejszeniem ekspresji enzymów, takich jak PON1 (ang. *serum paraoxonase/arylesterase 1*) i GST (S-transferaza glutationowa) uczestniczących w eliminacji toksyn środowiskowych [19].

Ważnym pytaniem jest, w jaki sposób tak wiele różnych kombinacji genetycznych może prowadzić do podobnego klinicznego fenotypu. Po części być może, że wiele etiologicznie heterogenicznych zaburzeń zbiega się i zakłóca kluczowe stadia rozwoju neurologicznego. Dowodem na to są analizy szlaków genów u chorych na ASD oraz wyraźne i powtarzalne zmiany ekspresji genów w tkance mózgowej, zmiany szlaków genetycznych związanych z funkcją i rozwojem neuronu i zmiany szlaków immunologicznych [20]. Istnieje wiele czynników, które mogą regulować ekspresję genów – w tym metylacja DNA, czynniki transkrypcyjne i małe niekodujące RNA (SncRNA), jak choćby mikroRNA (miRNA) i małe jąderkowe RNA (snoRNA). Szacuje się, że ponad 60% wszystkich genów jest regulowanych przez miRNA, ponieważ każdy miRNA ma dziesiątki do setek celów. Zakłócenia w pojedynczym miRNA mogłyby wpływać na setki genów bezpośrednio i jeszcze więcej pośrednio. W ten

sposób pojedyncze zakłócenie mogłoby znacznie wpłynąć na złożoną organizację i funkcję komórkową [21].

Liczne badania wskazują na miRNA krążące w surowicy jako obiecujące biomarkery zaburzeń neurorozwojowych i neurodegeneracyjnych, takich jak zespół nadpobudliwości z deficytem uwagi ADHD [22], zespół Touretta (TS) [23], zaburzenia depresji, lęku [24], zaburzenia stresu pourazowego [25], zaburzenia dwubiegunowe [26], schizofrenia [12], padaczka [27]. Istnieje niewiele badań charakteryzujących krążące miRNA w płynach ustrojowych u pacjentów z autyzmem [4,8].

Typami miRNA najprawdopodobniej powiązanymi z genezą i przebiegiem chorób neurokognitywnych są między innymi miRNA-9, 124, 137, 132, 134, 138, 128, 29, 199, 146, 181, 27.

miRNA-9 jest jednym z liczniej występujących w mózgu, głównie w komórkach progenitorowych. Jego znaczenie w neurogenезie zostało szeroko przebadane, mianowicie kontroluje proliferację i różnicowanie komórkowe poprzez wpływ na wiele czynników transkrypcyjnych [28]. Pełni kluczową rolę w regulacji zdolności do uczenia się i tworzenia pamięci [29].

Poziom miRNA-124 wzrasta głównie podczas różnicowania neuronów. Reguluje ich rozwój przez kontrolowanie kluczowych czynników różnicowania jak REST (ang. *repressor element-1 silencing transcription factor*) i PTBP1 (ang. *polypyrimidine tract-binding protein 1*) a także dojrzewanie przez wpływ na CREB (białko wiążące CRE – ang. *cAMP response element*) [30]. Ponadto, poprzez hamowanie ekspresji czynnika transkrypcyjnego Sox9 (ang. *sex determining region Y-box 9*), zwiększa neurogenезę u dorosłych [31].

Obecność miRNA-137 odnotowano w hipokampie, obszarze wysoce aktywnym w neurogenезie dorosłych [32], regulującym tworzenie i różnicowanie komórek neuroprogenitorowych oraz dojrzewanie neuronów poprzez wpływ na m.in. na LSD1 (ang. *lysine-specific histone demethylase 1A*) [33].

Wykazano związek pomiędzy miRNA-132 a pamięcią długotrwałą. Jest to związane z obecnością sekwencji CRE w promotorze miRNA-132, do których przyłącza się czynnik transkrypcyjny CREB, którego fosforylacja niezbędna jest do poprawienia funkcjonowania pamięci długotrwałej [34]. Wpływa na regulację ekspresji receptorów glutaminianowych (NR2A, NR2B i GluR1), wydłużanie dendrytów, powstawanie kolców dendrytycznych, modyfikację transkrypcji kluczowych genów regulowanych LTP, a zatem na rozwój i plastycz-

ność neuronów [35]. Badania wykazały spadek stężenia miRNA-132 w ludzkim hipokampie w przypadku choroby o późnym początku [36].

miRNA-134 to specyficzny dla mózgu mikroRNA, który ulega ekspresji w dendrytach. Hamuje wzrost dendrytycznych kolców neuronów w hipokampie przez hamowanie ekspresji kinazy białkowej LIMK1 (kinaza LIM-1), która reorganizuje cytoskielet aktyny [37], wpływa na poziom CREB oraz BDNF (neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego), zaangażowanych w plastyczność synaptyczną. W wyniku zahamowania miRNA-134 poziom CREB wzrósł, a proces upośledzenia plastyczności został odwrócony [38].

miRNA-138 także hamuje powstawanie kolców dendrytowych, w tym przypadku przez regulację APT1 (ang. *acyl protein thioesterase 1*). Poprzez regulację RhoA (ang. *ras homolog gene family, member A*) wpływa to na reorganizację szkieletu aktynowego.

Wpływ miRNA128 na pamięć związany jest z hamowaniem ekspresji genów związanych z plastycznością, takich jak regulator sygnalizacji kalmoduliny, Rcs (ang. *regulator of calmodulin signaling*) i CREB1 [39].

Badania Héberta i wsp. opisują miRNA-29 jako potencjalny główny supresor enzymu przecinającego białko prekursorowe amyloidu beta 1 (BACE1), uczestniczącą w wytwarzaniu β amyloidu A β [40].

miRNA-199b-5p uległ najbardziej znacznej dysregulacji w komórkach limfoblastocytarnych u pacjentów z ciężkim autyzmem, w porównaniu z grupą kontrolną. Wśród jego celów wykryto HES1 (ang. *hairy and enhancer of split*), białko zaangażowane w rozwój ośrodkowego układu nerwowego [41].

W próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów z chorobą Alzheimera wyłoniono miRNA-100 oraz miRNA-146a, jako najlepszych kandydatów na potencjalne biomarkery AD [42]. miRNA-100 poza funkcją biomarkera mógłby być interesującym celem interwencji terapeutycznych, ponieważ jego przewidywanym celem jest mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin kinase*) [43], pełniący rolę w procesie uczenia się i pamięci. Wzrost aktywności szlaku mTOR odnotowano między innymi u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera [3]. W układzie nerwowym miR-146 moduluje endocytozę receptora kwasu α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowego (AMPA) [44]. Wpływa również na aktywność mikrogleju mózgu, obniżając jego aktywność prozapalną [45]. Zaburzenia sygnalizacji między neuronami

a mikroglejem odpowiadają za nieprawidłowości w zachowaniu społecznym [46].

W porównaniu z grupą kontrolną poziom miRNA-181b-5p w surowicy pacjentów z ASD był obniżony, a czynniki zakłócające, takie jak wiek i płeć, nie miały wpływu na obserwowane tu wyniki, dlatego może stać się kandydatem na obwodowy biomarker ASD [8]. Wcześniej opisywano wysoko wyrażone miRNA-181b w schizofrenii, potwierdzając twierdzenie, że ASD i schizofrenia mają wspólne cechy neurobiologiczne. Zaangażowany jest w: przekaźnictwo aksonalne, sygnalizację TGF-beta (transformujący czynnik wzrostu beta), sygnalizację MAPK (kinaza aktywowana mitogenami), istnienie połączeń przylegających, regulację cytoskieletu aktyny, fosforylację oksydacyjną, sygnalizację hedgehog, sygnalizację mTOR i sygnalizację Wnt [47].

Wśród miRNA oznaczonych w ślinie dzieci z autyzmem, miRNA-27a wydaje się szczególnie interesujące. Zostało wcześniej opisane w badaniach pośmiertnych kory mózgowej, limfoblastoidowych liniach komórkowych i surowicy dzieci z ASD oraz wykazano zaburzenie jego poziomu w wielu stanach chorobowych człowieka, w tym w ASD [48]. Do miRNA wykrytych w ślinie należy także miRNA-140-3p.

Znaczenie miRNA – 140-3p w patogenezie i diagnostyce zaburzeń neurokognitywnych

Zmiany poziomu miRNA 140-3p zostały opisane zarówno w ślinie [4] jak i surowicy krwi chorych na ASD[49]. W badaniu surowicy krwi, poza grupą dzieci dotkniętych autyzmem (ASD), grupą kontrolną (K), stworzono także grupę chorych z zespołem Touretta (TS) oraz grupę pacjentów ze współistniejącymi ASD + TS. Dodatkowo choroby współistniejące komplikują diagnozę ASD opartą na zaburzeniach behawioralnych i wpływa na brak obiektywizmu [50]. TS i ASD mają wspólne objawy kliniczne i behawioralne. Badania genetyczne postulują istnienie wspólnych genów podatności [51]. Ich dokładna etiologia jest jednak nieuchwytna. Wykazano, że poziom miRNA 140-3p zwiększa się w ASD w porównaniu z K, TS i TS + ASD. Analiza funkcjonalna sieci oddziaływań wykazała, że białka, których ekspresja jest kontrolowana przez miRNA-140-3p, zwłaszcza CD38 (antygen CD38) i NRIP1 (białko oddziałujące z receptorem jądrowym 1), uczestniczą w procesach, które uległy dysregulacji w ASD, takich jak neurogeneza, regulacja plastyczności

synaptycznej, długotrwałe wzmocnienie synaptyczne, reakcja komórkowa na czynnik wzrostu nerwu, różnicowanie neuronów, rozwój dendrytów i śmierć neuronów. Oprócz roli w rozwoju układu nerwowego, uczestniczy w regulacji wzrostu, rozwoju układu endokrynnego, serca, układu oddechowego i języka, rozwoju embrionalnego [49]. miRNA-140-3p okazał się być znacząco zaburzony w surowicy u pacjentów z ASD. Nie zaobserwowano różnic w ekspresji porównując pacjentów z TS do K, pacjentów z TS + ASD do K, oraz pacjentów z TS + ASD do pacjentów z TS [49].

Można przyjąć, że niższe stężenia miRNA-140-3p w surowicy, obserwowane u pacjentów z TS + ASD, są potencjalnie związane zarówno z występowaniem, jak i nasileniem się tuszów motorycznych i fonicznych oraz że wyższe poziomy miRNA-140-3p w surowicy, które występowały u pacjentów z ASD, mogą wiązać się z brakiem tików. Przeciwnie, zgodnie z wcześniejszymi badaniami nad TS [51] spodziewano się braku różnicy w ekspresji miRNA-140-3p pomiędzy pacjentami z TS a K [49].

Istnieją liczne badania na temat znaczenia miRNA-140-3p jako biomarkera wielu chorób, w tym neurologicznych: jest on podwyższony w krwi pacjentów z zaburzeniami dwubiegunowymi [52] i pacjentów z poważną depresją po 12 tygodniach leczenia przeciwdepresyjnego [53]. Zgodnie z danymi Human miRNA Tissue Atlas odnośnie ekspresji miRNA, miR-140-3p jest wysoce wykrywalny w kościach, nerwach, tętnicach, oponach, mięśniach i tkance tłuszczowej. Jest jednym z najliczniej występujących miRNA w korze mózgu człowieka [54]. Zmienione wzorce ekspresji miRNA znaleziono w wielu tkankach i komórkach pacjentów z ASD, takich jak kora mózgowa i mózdzek, węchowe komórki macierzyste, krew obwodowa i linie komórek limfoblastoidowych (LBC) [21,49].

Podsumowanie

Ostatnie lata obfitowały w nowe doniesienia na temat potencjalnych markerów zaburzeń neurokognitywnych. Dotyczyły one także markerów autyzmu. Co więcej, wiedza na temat podłoża molekularnego konkretnych chorób z tej grupy również wzrosła w ciągu

minionych lat. Nowe markery związane są z układem immunologicznym, zmianami anatomicznymi mózgu oraz poszukiwane wśród małych niekodujących RNA (SncRNA), takich jak miRNA i małych jąderkowych RNA (snoRNA).

Znaczenie miRNA wydaje się być ogromne. Dalsze badania z nimi związane w przyszłości mogą przyczynić się do znacznego postępu w diagnostyce i leczeniu nie tylko licznych zaburzeń neurokognitywnych, lecz wielu innych chorób. Chociaż ich znaczenie jest bezsprzeczne, wyzwaniem jest mała specyficzność. Przykładem jest miR-140-3p, które choć obiecujące, ponieważ jest oznaczalne zarówno w ślinie, jak i w surowicy, nie jest idealnym kandydatem na biomarker, ze względu na niską specyficzność. Zaburzony poziom tego miRNA występuje nie tylko w przypadku rozlicznych zaburzeń neurologicznych, lecz także reprezentuje niektóre przykłady dysfunkcji układu krwionośnego, krwiotwórczego, pokarmowego oraz oddechowego. Znaczenie nowych badań na temat tej cząsteczki jest jednak bezsprzecznie ogromne. Każde nowe doniesienie, przybliżające do poszerzenia ubogiego spektrum metod diagnostycznych i leczniczych, jest niezwykle ważne. Szczególnie, że nie ulega wątpliwości, że rola miRNA-140-3p w patogenezie autyzmu jest znaczna i daje nadzieję na wykorzystanie w diagnostyce i być może w przyszłości w leczeniu tej jednostki chorobowej. Dalsze badania miR-140-3p są więc niezbędne i niosą nadzieję na ogromny postęp w tej dziedzinie.

Konflikt interesów / Conflict of interest
Brak/None

Adres do korespondencji
✉ Katarzyna Manikowska
Katedra i Zakład Farmakologii
UM w Poznaniu
ul. Rokietnicka 5a; 60-806 Poznań
☎ (+48 61) 854 7262
✉ kmanikowska@ump.edu.pl

Piśmiennictwo

1. Levy SE, Mandell DS, Schultz RT. Autism *Lancet*. 2009;374(9701):1627-38.
2. Pardo CA, Eberhart CG. The Neurobiology of autism. *Brain Pathol*. 2007;17(4):434-47.
3. Nadim DW, Simion V, Bénédetti H, et al. MicroRNAs in Neurocognitive Dysfunctions: New Molecular Targets for Pharmacological Treatments? *Curr neuropharmacol*. 2017;15(2):260-75.
4. Hicks SD, Ignacio C, Gentile K et al. Salivary miRNA profiles identify children with autism spectrum disorder, correlate with adaptive behavior, and implicate ASD candidate genes involved in neurodevelopment. *BMC Pediatr*. 2016;16(1):52.
5. Jiang X, Nardelli J. Cellular and molecular introduction to brain development. *Neurobiol Dis*. 2016;92:3-17
6. Grasso M, Piscopo P, Confaloni A, et al. Circulating miRNAs as biomarkers for neurodegenerative disorders. *Molecules*. 2014;19(5):6891-910.
7. Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18(10):997-1006.
8. Mundalil V M, Anitha A, Thanseem I, et al. Serum microRNA profiles in children with autism. *Mol Autism*. 2014;5:40.
9. Ryan B, Joilin G, Williams JM. Plasticity-related microRNA and their potential contribution to the maintenance of long-term potentiation. *Front Mol Neurosci*. 2015;8:4.
10. Zhang Z, Cheng Y. miR-16-1 promotes the aberrant alphasynuclein accumulation in parkinson disease via targeting heat shock protein 70. *Sci World J*. 2014.ID938348.
11. Moreau MP, Bruse S, Rus DR, et al. Altered microRNA expression profiles in postmortem brain samples from individuals with schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2011;69(2):188-193.
12. Shi S, Leites C, He D, et al. MicroRNA-9 and microRNA-326 regulate human dopamine D2 receptor expression, and the microRNA-mediated expression regulation is altered by a genetic variant. *J Biol Chem*. 2014;289(19):13434-44.
13. Kocerha J, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, et al. MicroRNA-219 modulates NMDA receptor-mediated neuro – behavioral dysfunction. *Proc Natl Aca Sci USA*. 2009;106(9):3507-12.
14. Jin J, Cheng Y, Zhang Y, et al. Interrogation of brain miRNA and mRNA expression profiles reveals a molecular regulatory network that is perturbed by mutant huntingtin. *J Neurochem*. 2012;123(4):477-90.
15. Abdolmaleky HM, Zhou JR, Thiagalingam S. An update on the epigenetics of psychotic diseases and autism. *Epigenomics*. 2015;7:427-49.
16. Nardone S, Elliott E. The Interaction between the immune system and epigenetics in the etiology of autism spectrum disorders. *Front Neurosci*. 2016;10:329.
17. Holt R, Monaco AP. Links between genetics and pathophysiology in the autism spectrum disorders. *EMBO Mol Med*. 2011;3:438-50.
18. Robins DL. Screening for autism spectrum disorders in primary care settings. *Autism*. 2008;12:537-56.
19. Rossignol DA, Genuis SJ, Frye RE. Environmental toxicants and autism spectrum disorders: a systematic review. *Transl Psychiatry*. 2014;4:360.
20. Chow ML, Pramparo T, Winn ME, et al. Age-dependent brain gene expression and copy number anomalies in autism suggest distinct pathological processes at young versus mature ages. *PLoS Genet*. 2012;8:e1002592.
21. Ander BP, Barger N, Stamova B, et al. Atypical miRNA expression in temporal cortex associated with dysregulation of immune, cell cycle, and other pathways in autism spectrum disorders. *Mol. Autism*. 2015;6:37.
22. Wu LH, Peng M, Yu M, et al. Circulating MicroRNA Let-7d in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuromol Med*. 2015;17:137-46.
23. Rizzo R, Ragusa M, Barbagallo C, et al. Circulating miRNAs profiles in Tourette syndrome: molecular data and clinical implications. *Mol Brain*. 2015;8:44.
24. Wang X, Sundquist K, Hedelius A, et al. Circulating microRNA-144-5p is associated with depressive disorders. *Clin Epigenetics*. 2015;7:69.
25. Balakathiresan NS, Chandran R, Bhomia, M, et al. Serum and amygdala microRNA signatures of posttraumatic stress: fear correlation and biomarker potential. *J Psychiatr Res*. 2014;57:65-73.
26. Rong H, Liu TB, Yang KJ, et al. MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania. *J Psychiatr Res*. 2011;45:92-5.
27. An N, Zhao W, Liu Y, et al. Elevated serum miR-106b and miR-146a in patients with focal and generalized epilepsy. *Epilepsy Res*. 2016;127:311-6.
28. Shibata M, Nakao H, Kiyonari H, et al. MicroRNA-9 regulates neurogenesis in mouse telencephalon by targeting multiple transcription factors. *J Neurosci*. 2011;31(9):3407-22.
29. Busto GU, Guven-Ozkan T, Fulga TA, et al. microRNAs That Promote or Inhibit Memory Formation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 2015;200(2):569-80.
30. Visvanathan J, Lee S, Lee B, et al. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev*. 2007;21(7):744-9.
31. Cheng LC, Pastrana E, Tavazoie M, et al. miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche. *Nat Neurosci*. 2009;12(4):399-408.

32. Smrt RD, Szulwach KE, Pfeiffer RL, et al. MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb-1. *Stem Cells*. 2010;28(6):1060-70.
33. Sun G, Ye P, Murai K, et al. miR-137 forms a regulatory loop with nuclear receptor TLX and LSD1 in neural stem cells. *Nat. Commun*. 2011;2:529.
34. Scott HL, Tamagnini F, Narduzzo KE, et al. MicroRNA-132 regulates recognition memory and synaptic plasticity in the perirhinal cortex. *Eur J Neurosci*. 2012;36(7):2941-8.
35. Kawashima H, Numakawa T, Kumamaru E, et al. Glucocorticoid attenuates brain-derived neurotrophic factor-dependent upregulation of glutamate receptors *via* the suppression of microRNA-132 expression. *Neuroscience*. 2010;165(4):1301-11.
36. Lau P, Bossers K, Janky R, et al. Alteration of the microRNA network during the progression of Alzheimers disease. *EMBO Mol Med*. 2013;5(10):1613-34.
37. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;439(7074):283-9.
38. Gao J, Wang WY, Mao YW, et al. A novel pathway regulates memory and plasticity *via* SIRT1 and miR-134. *Nature*. 2010;466(7310):1105-9.
39. Lin Q, Wei W, Coelho CM, et al. The brain-specific microRNA miR-128b regulates the formation of fear-extinction memory. *Nat Neurosci*. 2011;14(9):1115-7.
40. Hébert SS, Horré K, Nicolai L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimers disease correlates with increased BACE1/ beta-secretase expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(17):6415-20.
41. Ghahramani Seno MM, Hu P, Gwadyr FG, et al. Gene and miRNA expression profiles in autism spectrum disorders. *Brain Res*. 2011;1380:85-97.
42. Denk J, Boelmans K, Siegmund C, et al. MicroRNA Profiling of CSF Reveals Potential Biomarkers to Detect Alzheimers Disease. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126423.
43. Hoeffler CA, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci*. 2010;33(2):67-75.
44. Chen YL, Shen CK. Modulation of mGluR-dependent MAP1B translation and AMPA receptor endocytosis by microRNA miR-146a-5p. *J Neurosci*. 2013;33:9013-20.
45. Saba R, Gushue S, Huzarewich RL, et al. MicroRNA 146a (miR-146a) is over-expressed during prion disease and modulates the innate immune response and the microglial activation state. *PLoS One*. 2012;7:e30832.
46. Zhan Y, Paolicelli RC, Sforzini F, et al. Deficient neuron-microglia signaling results in impaired functional brain connectivity and social behavior. *Nat Neurosci*. 2014;17:400-6.
47. Lai CY, Yu SL, Hsieh MH, et al. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS One*. 2011;6:e21635.
48. Sarachana T, Zhou R, Chen G, et al. Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Med*. 2010;2(4):23.
49. Cirnigliaro M, Barbagallo C, Gulisano M, et al. Expression and Regulatory Network Analysis of miR-140-3p, a New Potential Serum Biomarker for Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2017;10:250.
50. Clarke RA, Lee S, Eapen V. Pathogenetic model for Tourette syndrome delineates overlap with related neurodevelopmental disorders including Autism. *Transl Psychiatry*. 2012;2:e158.
51. Rizzo R, Ragusa M, Barbagallo C, et al. Circulating miRNAs profiles in Tourette syndrome: molecular data and clinical implications. *Mol Brain*. 2015;8:44.
52. Maffioletti E, Cattaneo A, Rosso G, et al. Peripheral whole blood microRNA alterations in major depression and bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2016;200:250-8.
53. Bocchio-Chiavetto L, Maffioletti E, Bettinsoli P, et al. Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013;23:602-11.
54. Shao NY, Hu HY, Yan Z, et al. Comprehensive survey of human brain microRNA by deep sequencing. *BMC Genomics*. 2010;11:409.