

KAS ON VÕIMALIK SELETADA AUTISMI PATOFÜSIOLOOGIAT URIINIST AVASTATUD PEPTIIDIDE TOIMEGA?

Can the Pathophysiology of Autism be Explained by the Nature and the Discovered Urine Pwter dog eptides? *Nutr Neuroscience* 6, 19-28 (2003)

Reichelt K.L. and Knivsberg A.M.

Pediaatriliste Uuringute Instituut, Oslo Ülikool, Rikshospitalet, N-0027, Norra.

Lugemisalaste Uuringute Keskus, Stavangeri Ülikooli kolledz, N-4068, Stavanger, Norra.

Autismi all kannatavate laste uriinist on leitud opioidseid peptiide, toidus olevate valkude ehk eksorfiinide vaheprodukte. Paljude teiste meeskondade uuringutele toetudes püüame me näidata, kuidas eksorfiinid ja serotoniini tagasivõttu stimuleerivad faktorid võivad selgitada paljusid autismi tunnuseid ja sümptomeid. Sümptoomid on seletatavad leitud peptiidide omadustega ja mõjuga lapse käitumisele. Alljärgnevad andmed moodustavad autismi mudeli aluse, milles me arvame, et eksorfiinid ja serotoniini tagasivõtu modulaatorid on põhilised mediaatorid autismi arengus. See võib olla põhjustatud geneetilist laadi ensüüm peptidaasi puudulikkusest või peptidaasist sõltuvate valkude regulatsiooni puudulikkusest, mis on omakorda tekkinud prekursor eksorfiinide (toidust pärit) üleküllusest ja samas ka soole läbilaskvuse suurenemisest.

SISSEJUHATUS

Mitmed laboratooriumid on leidnud autismi all kannatavate laste uriinist suurenenud opioidsete peptiidide ja eksorfiinide sisaldust (Israngun, Reichelt, Shattock, Cade, Shanahan jt). Nende ainete lõppehitus on kindlaks tehtud tänu mass-spektromeetria ja fragmentatsiooni mass-spektromeetria (Shanahan jt 2000, Remme jt 2001). Kindlaks on tehtud ka haruldase D-aminohappe esinemine, mis sisaldab dermorfiini (Shanahan jt 2000). Opioidide koguse suurenemist on leitud ka tserebrospinaalses vedelikus ja seerumis (Gillberg jt 1985, LeBoyer jt 1994), mõned nendest on veise kasomorfiinid (Reichelt jt 1991, Reichelt ja Reichelt 1997, Cade jt 2000, Shanahan jt 2000). Aeg on küps selle vaatlemiseks, kas autismisündroomi sümptomeid on võimalik seletada nende eraldatud peptiidide omadustega. Iga sümptomi puhul on võimalik leida seost ühe konkreetse peptiidiga.

SOTSIAALSUSE KADU

Autismi sündroomi üks sümptom on sotsiaalne osavõtmatuse ehk ükskõiksus. Panksepp on demonstreerinud, kuidas opioidid inhibeerivad sotsiaalsust (Panksepp jt 1978). Ta avastas ka, et opioidid ja kasomorfiinid põhjustavad sotsiaalsetes suhetes ükskõiksust ning pärsivad vastsündinud loomadel emast lahtuse stressi. Autistide uriinist leitud kasomorfiinide ja gliadinomorfiinide (Shanahan jt 2000), ka gluteenomorfiinide, deltorfiini ja dermorfiini krooniline toime võib selgitada sotsiaalset osavõtmatust.

Intrakranioventrikulaarselt (ajuvatsakestes) süstitud uriinist isoleeritud opioidid (Hole jt 1979) ja i/v süstitud kasomorfiin 1-7 põhjustavad rottidel ägedaid, tüüpilisi ja sarnaseid sümptomeid (Sun ja Cade 1999): plahvatav käitumine, analgeesia, närvilised värisemised/agiteeritus koos hilisema katatooniaga. Samasuguseid ägedaid sümptomeid on

täheldatud opioidsete ravimite kasutamisel ja see võib seletada hüperaktiivse rahutuse, agressiivsuse ja imelike emotsioonide perioode, samuti ka katatoonseid faase lastel. Eksorfiinid tõesti läbivad vere-aju ehk hematoentsefaalbarjääri (Ermish jt 1983, Nyberg jt 1989), olles väga psühhoogeensed nagu seda on näidatud sünnitusjärgse psühhoosi puhul (Lindstrom jt 1984). Kui aju-veri barjäär puutub esimestel elupäevadel kokku opioididega, siis see muudab püsivalt nende membraanide läbilaskvust opioidide suhtes (Banks jt 1996).

Eksorfiinid näitavad kellukesekujulist doosist sõltuvat reaktsioonikõverat, mida kutsutakse hormeesiks (Reichelt ja Reichelt 1997). See võib hästi selgitada muutuvat vastust naloksoonile või naltreksoonile, mis ulatub heast efektist kuni efekti puudumiseni ning isegi seisundi halvenemiseni (Campbell jt 1996), sõltudes opioidide tasemest iga konkreetse patsiendi puhul.

Opioidsete peptiidide kogutase autistlike laste uriinis pärast hippuurhappe mahapesemist.

	Autism	Normaalne
Vanuse vahemik	2-14	3-14
N	315	143
Peptiidide tase (keskmine)	720	346
SD	471	108
95% CI		
Madalam väärtus	560	329
Kõrgem	773	365

PUUDULIK KOHANEMISVÕIME

Kui mõõdame käelaba elektrijuhtivust autistlikul lapsel, siis puhkeaja juhtivus kõigub palju rohkem kui kontrollgrupi lastel ja paljud reageerivad tugevama vastusega kuuldestiimulitele, omades samas väga nõrka kohanemisvõimet (Bernal ja Miller 1971). See näitab kas tõusnud sensorset ja autonoomset NS ärritust/virgutust või puudulikku reaktiivset inhibitsiooni (ehk puudulikku kohanemist) (Mednick jt 1974). Kohanemise puudulikkus võib põhjustada uute sisestuste vältimist ja olla tugevaks eelduseks status quo säilitamisele ning rituaalide tekkele.

Selle reaktiivse inhibitsiooni ja kohandumise eest vastutab keemiline aine serotoniin. Me avastasime autistide uriinis peptiidi (pyroGlu-Trp-GlyNH₂), mis suurendab serotoniini tagasivõttu vereliistakutesse (Pedersen jt 1999) ja KNS-i sünaptsidesse (Persico jt 1998). Autistide vereliistakutes serotoniini sisalduse suurenemine on fakt, millest on tihti teada antud (Rogeness jt 1992). PyroGlu-Trp-GluNH₂ suurendab ka serotoniini võttu CHO rakkudesse (laboruuringutes kasutatavad hamstri munarakud), millesse on viidud inimese serotoniini transporteri geen. (Keller, 1997). Vereliistakud on uuringutes enimkasutatud farmakoloogilise serotoniinergilise sünapsi mudeliks.

Serotoniini suurenenud tagasivõtmine vähendab selle kontsentratsiooni taset sünaptilises võlvis. On hästi teada, et hüpo-serotoniinergilised seisundid nagu seda on näha kartsinoidi puhul, põhjustavad liigseid sensorseid vastuseid ning halba kohanemisvõimet, uneprobleeme ja impulsiivset käitumist. On loogiline, et kohanemisvõime puudulikkus ja tavalisest tugevam reaktsioon sensorsetele ja emotsionaalsetele stiimulitele põhjustavad nendest eemalehoidmist ja ühetolisuse toonitamist (Mednick jt 1974).

KORDUV JA STEREOTÜÜPNE KÄITUMINE

See on samuti sõltuv reaktiivse inhibitsiooni puudulikkusest (kohanemisvõimest). Siiski, eksorfiinide suurenemine, mis inhibeerib dopamiini võtmist sünapsoomidesse (Hole jt 1979), võib olla sõltuv söögist, põhjustatada kõikumist dopamiinergilises hüperfunktsioonis. Amfetamiinide poolt põhjustatud dopamiinergiline hüperfunktsioon loomal näitab stereotüüpsust kui tüüpilist joont.

See dopamiinergiline hüperaktiivsus võib seega olla võimendatud samal ajal esineva serotoniinergilise aktiivsuse languse poolt, sest funktsionaalse dopamiini ja serotoniini suhe erinevates aju piirkondades näib oluline olevat (Rogeness jt 1992). Kohanemisvõime langus on demonstreeritav ka auditoorses ajutüves tekkivate reaktsioonidega/vastustega (Rosenblum jt 1980) ja post-rotatsioonilise nüstagmi vähenemisega imikuea autismi korral (Ritvo jt 1969). Viimane seletab ära selle, miks enamus autiste on vaimustuses keerlemisest. Nendele meeldib keerutada asju ja kui võimalik, ka iseennast.

EPILEPSIA SAGENEMINE SEOS VANUSEGA

Enamusel lastel vähenevad epilepsiahood vanuse kasvades. Autistidest lastel aga suurenevad epilepsia ja EEG kõrvalekalded võrdeliselt vanusega ja 20-ndaks eluaastaks on umbes neljandikul kuni kolmandikul patsientidest EEG-s kõrvalekalded ja/või epilepsiahood (Deykin ja MacMahon 1997). Epilepsia sagedus tsöliaakiahaigetel on tõusnud (Chapman jt 1978, Gobbi jt 1992) ja neil on leitud uriinis opioidseid peptiide (Reichelt jt 1998). Autistlike häiretega ja kõrgeenenud peptiididega laste grupis leidsime seda üldse mitte oodates epilepsia sageduse ja sellele järgneva ravimite hulga vähendamist, kui need lapsed olid olnud dieedil (Reichelt jt 1990) ja hirnsat tagasilangust (epileptilist staatust) kui dieet katkestati.

Seda võib seletada faktiga, et opioididel ja eksorfiinidel on krampe esilekutsuvaid (Siggins jt 1986) ja mediaatroite ülekannet modifitseerivaid omadusi. Gluteeni andmine tsöliaakiahaigetele alla 7-aastastele lastele pärast üheaastast gluteenivaba dieeti põhjustab 72%-l pikka aega püsivaid muutusi EEG-s (Paul jt 1985). Need opioidid võivad anda seletuse nii leitud epilepsiale kalduvusele kui ka EEG anomaaliatele. Publitseerimata andmed näitavad, et kasomorfiin 1-4 amiid omab erilist tähtsust autistidel esineva epilepsia puhul.

TROOFILISED MUUTUSED

Need muutused ei ole suured, kuid magnetresonantstehnikate abil on võimalik mõõta ajutüve vähenemist ja eriti väikeaju mahu vähenemist (Hashimoto jt 1992, Courchesne jt 1994). On näidatud ka aju *corpus gallosum*'i mahu vähenemist (Egaas ja Courchesne 1995), kuigi 6-12%-l lastest esineb selle hüpertroofia (Piven jt 1996). Veelgi enam, 70-80% esineb parietaalmahu vähenemist ja 10%-l parietaalkoore suurenemist.

Opioidid inhibeerivad aju küpsemist (Zagon ja Mc Laughlin 1987), k.a. dendriitide ja seljaaju küpsemist (Hauser jt 1989). Kuigi apoptoosi läbi toimuv kärpimine toimub pidevalt, oletatakse, et aju kõige aktiivsema proliferatsiooni ajal (proliferatsioon toimub apoptoosis peamiselt viiel esimesel eluaastal) avaldavad opioidid pärssivat mõju. Kärpimise kõige intensiivsemal perioodil (faas, kus sünapside ja rakkude apoptootiline eemaldamine domineerib), puberteedieas, kus eemaldatakse 30% neuropiile (Feinberg 1982/83), võib oodata hüpertroofiat. Opioidid inhibeerivad kärpimist (Tenconi jt 1991) ja see inhibitsioon väljendub mahu suurenemisega.

Domineerivate väikeaju muutuste puhul on oluline teada, et gluteeniga seotud ataksia väljendub peamiselt väikeaju muutustes (Hadjivassiliou jt 1998) ning gliadiinivastased

antikehad võivad anda spetsiifilise reaktsiooni väikeaju Purkinje rakkudega (Hadjivassiliou jt 2002). Tsöliaakia puhul esineva progresseeruva müokloonilise ataksia korral on leitud väikeaju kahjustust (Bhatia jt 1982). Väikeaju kahjustus tsöliaakia korral on hästi tõestatud (Kinney jt 1982). Nende andmetega kooskõlas on autistidel leitud gluteeni- ja gliadiinivastaste IgG ja IgA antikehade tõus ilma transglutaminaasi tõusuta, mis viitab suurenenud valkude imendumisele sooletraktis (Reichelt jt 1991, Lucarelli jt 1995, Cade jt 2000).

Rottidele kasomorfiin 1-7 intravenoosne süstimine põhjustab/kutsub esile otsese varajase geeni Fos antigeen immuunreaktiivsuse roti ajus (induces the immediate early gene Fos antigen immuno-reactivity in rat brain) (Sun jt 1999), mis seostab opioididid troofiliste muutustega. Surmajärgsel aju uuringul leitakse muutunud rakkude hulka ja suhet neuropiilides (Ritvo jt 1986), mis on see, mida võib oodata, kui aju puutub kokku opioididega. Enamuse rakkude kahjustus sõltub kriitiliselt kasvu faasist ja seisundist. Serotoniini funktsionaalsuse langus sünaptilises pilus tema suurema võtmise tõttu võib häirida sünaptilist talitlust ja formeerumist (Chen jt 1980). Kortikaalse serotoniini kättesaadavuse blokeerimine võib vähendada sünaptilist tihedust peaaegu 30%.

VARIEERUV ANALGEESIA

Autistist lapsed võivad ennast ise vigastada või õnnetustes viga saada ilma erilise valuta (Frith 1988). See analgeesia ehk valu tundetus võib muutuda sõltuvalt päevast või päevaajast. Eksorfiinide olemasolu sõltub toidust ja nende saamine on erinevatel päevadel ja päevaegadel erinev. Enesevigastamiskäitumine on üks sümptomeid, mida saab kõige paremini ravida ja parandada opioidide antagonistidega (LeBoyer jt 1990), mis viitab opioidide rollile selle patoloogia puhul. Püsiv opioidide taseme kõikumine eksorfiinide tõttu peab sõltuma toidust. See võib ära hoida püsivaid muutusi retseptorite arvus ja või nende tundlikkuses ning ka dopamiinergilises süsteemis vaatamata aeg-ajalt esinevale dopamiinergilisele hüperaktiivsusele.

KÕNEPROBLEEMID

Autistist lastel on kõneprobleemid, mis väljenduvad mutismis/tummuses või vabalt kõnelemises, millel puudub õige rütm (rõhkude ja intonatsiooni „muster“ kõnes). Nad teevad palju grammatilisi vigu, kasutavad korduvat rääkimisviisi.

Et sõnade seeriast aru saada, on vaja neid hoida aktiivses mälus ja aparaat, mis vastutab üksiku sõna töötlemise eest peab olema piisavalt inhibeeritud selleks, et teha ruumi teise sõna jaoks. Kõnemisvõime puudulikkuse tõttu sõnad nagu kattuvad, tulevad korruga ja tekivad sõnade ja häälikute absurdsed kombinatsioonid. Patsiendid, keda me oleme dieediga ravinud, ütlevad meile, et sama juhtub neil lausetega. Lause koosneb sageli erinevatest üksteisele otsa laotud helidest, millel pole mingit tähendust.

AUTISMI VARAJASED JA HILISED ALATÜÜBID

Meil kõigil tekib sooletraktis peptiide (Gardner 1994) ja proteiine (Husby jt 1984, Gardner 1994) ning peptidaaside blokeerumine suurendab nende imendumist (Mahe jt 1987). Neid toidust pärit valke on leitud ema rinnapiimas (Kilshaw ja Cant 1984, Troncone jt 1987). Beebi saab normaalselt emapiimaga inimese kasomorfiine. On mõeldav, et peptidaaside puudus või

inhibeeritud peptidaasid põhjustavad probleeme sünnieelselt, aga kindlasti teevad nad seda sünnijärgselt varase algusega autismi puhul.

Kui soolesein muutub läbilaskvamaks hiljem, hilsema algusega autismi või CPDD (Childhood onset pervasive developmental disorder/Laste pervasiivne arenguhäire) puhul, kutsub see esile probleeme, suurendades söögijärgset peptiididega koormatust. Hiljutine uuring peensoole ilEaal-lümfoid-nodulaarse hüperplaasia CPDD puhul (Wakefield jt 2000, Ferlano jt 2001) viitab sellisele mehhanismile. Algselt publitseeritud andmetetele on lisandunud hulganisti uut informatsiooni, mis viitab põhiolemuselt samadele tulemustele. Teada on antud autismiga seotud ülemise peensooleosa kahjustustest (Horvath jt 1999, Torrente jt 2002) ning autismi puhul esinevast madalamolekulaarsest soole läbilaskvusest (D'Eufemia jt 1996). Viimane arvatakse olevat sooletrakti aminoglükaanide vähenenud sulfatsiooni tagajärg (Waring ja Ngong 1993), kuid peptidaaside defekt või inhibitsioon suurendab peptiidide imendumist (Mahe jt 1989). Autismi hilisem tekkimine võib seostuda gluteeni sisaldava toidu andmisega lapsele alates kuuendast elukuust.

Kuna peptiduuria on tavaliselt põhjustatud peptidaaside aktiivsuse langusest (Watanabe jt 1993), oletame me, et geneetiline eelsoodumus peptidaase kontrollivates valkudes või peptidaasides (Persico jt 2000) võib olla lõplik ühine defekt kõikide nende mistahes põhjusel tekkinud suurenenud läbilaskvuste puhul. Võib-olla on autismi puhul geneetiliseks markeriks reelin (Persico jt 2001), mis on seriini proteinaas ja võib sobituda piiratud lagundamise hüpooteesiga.

GENEETIKA

On esitatud kindlaid tõendusmaterjale autismi geneetilise eelsoodumuse kohta (Bailey jt 1995), aga vastavaid geene ei ole suudetud tuvastada. Nagu paljud teised uurijad, nii oleme ka meie leidnud autistlike laste uriinist erineva pikkusega eksorfiinide ahelaid (Reichelt jt 1997), mis võib viidata sellele, et erinevad peptidaaside rühmad on erinevates perekondades alafunktsionaalsed. Mass-spektromeetria abil leidsime me järgmise jaotuse 34 juhuslikult valitud autistliku lapse seas:

- Beta kasomorfiin 1-8 ehk Cm 1-8 esines 38,2%-l lastest
- Kasomorfiin 1-7 ehk Cm 1-7 esines 29,4%-l
- Kasomorfiin 1-5 ehk Cm 1-5 41,2%-l
- Kasomorfiin 1-4 NH2 Cm 1-4 NH2 94,1%-l
- Glutenomorfiin A5 (G-Y-Y-P-T) 32,4%-l
- Glutenomorfiin B5 (Y-G-G-W-L9) 64,7%-l

Ühelgi 34-st lapsest ei puudunud tõus ühe või mitme eelpool nimetatud opioidi osas võrrelduna kontrollgrupiga, kuid võisid puududa ülejäänud opioidid. Opioidsed peptiidid erinevatest perekondadest on erineva ahela pikkusega, aga erineva ahela pikkusega opioidid võivad olla väga sarnase bioloogilise toimega.

Ensüüm diamiinopeptidaas IV võib olla üheks haaratud ensüümiks (Näitab W personaalset kommunikatsiooni), sest need kasomorfiinid algavad Tyr-Pro (Y-P) aminohapetega. Diaminopeptidaas IV on tuntud ka Adenosin diaminaasi siduva proteiinina. Deaminaas võib olla kaasatud mõnedel infantiilse autismi juhtudel (Persico jt 2000). Glükosülatsiooni puudulikkus võib samuti mõjutada seda ensüümi nii nagu ka teisi peptidaase ja olla üheks geneetiliseks põhjuseks. Teine ensüüm võib olla Tyr ja Pro-aminopeptidaas.

Mõned peptiidid, mida on leitud autistide uriinist

Compound	Cochrom. HPLC	Antibody binding	Receptor binding	Correct comp	Mass. Sp MW
----------	---------------	------------------	------------------	--------------	-------------

IAG

+

+

CM 1-8	+	+	+	+	887 (887.1)
CM 1-7	+	+	+	+	789.9 (789.93)
CM 1-5	+		+	+	579.1 (579.6)
CM 1-4	+		+	+	nm
CM 1-4NH2	+			+	521.2 (521.3)
A4	+			+	nm
A5	+		+	+	599.6 (599.7)
GM	+		+	+	728.6 (728.8)

The preliminary receptor assay was carried out by Dr L. Terenius, Stockholm. CM is Casomorphin (bovine), IAG ¼ indolyl acryloyl glycine, A4 and A5 are glutemorphins and GM: gliadinomorphin (Usually several peaks due to deamidation of glutamine: Shanahan et al., 2000). Composit.: Is amino acid composition after acid hydrolysis and amino acid analysis £ 3. IAG yielded only glycine; CM 1-8 gave: Y (0.8), P (4), F (0.9), G (1.3) I (1); CM 1-7: Y (0.7), P (3), F (0.8), G (1.3) I (1); CM1-5: Y (0.7), P (2.2), F (0.7), G (1.5); CM1-4: Y (0.7), P (2), F (0.8). The two glutemorphins came out with: A4: Y (1.8), P (1), G (1.4) and A5: Y (1.7), P (1), G (1.5), T (1). Found mass spectrometry weights and theoretical based on average isotopic mass in parenthesis (Mono isotopic mass is usually lower). Mass spectrometry was run on the Pesciex AP 2000 MS/MS machine with samples dissolved in methanol/water (50% by volume) and 0.01M formic acid and in the positive mode.

Oma mudelit võime võrrelda Follingsi häirega. Kuigi fenüülkeonuuria on geneetiline haigus, ei esineks seda keskkonnas, kus valkudes puudub fenüülalaniin. Me arvame, et piiratud peptiidide lõhustumise võime (peptidaasid) saab manifesteeruda ainult siis, kui toidus on nende üleküllus või kui imendumine on suurenenud. Vähenenud peptiidide lõhustamise võime selgitab ka hiljuti publitseeritud andmeid, kus on leitud neonataalsete autistide veres neuropeptiidide ja neurotrofiinide tõusu (Nelson jt 2001) ning suurenenud oksütotsiini prekursorpeptiidide hulka (Green jt 2001). Kuna peptiidid on ise üldiselt head peptidaaside inhibiitorid (LaBella jt 19859, on see arusaadav.

IMMUNOLOOGILISED MUUTUSED

Immuunsüsteemi ekstensiivset regulatsiooni neuropeptiidide poolt on kirjeldanud Singh (1995). Eksorfiinid võivad kergelt reageerida immuunkompetentsete rakkude opioidsete retseptoritega. Autismi puhul on leitud naltreksooni antagonisti toimet CD4/CD8 lümfotsüütidele (Scifo 1996). Kaseiinist moodustub terve seeria immuunmoduleerivaid peptiide (Migliore-Samour ja Jollet 1988). Sellist allasurunud immuunvastust autistlikel lastel (Stubbs jt 1977) võib lihtsalt selgitada toitumusliku etioloogiaga, eriti eksorfiinidega.

On leitud limaskestast gluteeni-, gliadiini- ja kaseiinivastaste IgA antikehade sagenenud tõusu, (Reichelt jt 1990, 1991, Lucarelli jt 1995, Cade jt 2000), sageli ilma endomütsiumivastaste antikehade tõusuta. Need immunoloogilised muutused viitavad tõusnud valkude imendumisele umbes kolmandikul autistidest lastest, seega jälle alimantaarsele etioloogiale. IgA gliadiini- ja gluteenivastastel antikehadel on suur afiinsus aju veresoonte struktuuriga (Pratesi jt 1998), mistõttu võivad nad muuta nende veresoonte läbilaskvust. Hiljutised andmed viitavad antikehadele MMR (punetised-mumps-leetrid) vaktsiinis esineva valgu vastu (Singh jt 2002), mis sobib kokku Wakefield'i andmetega, mis võib põhjustada tõusnud imendumist limaskestas esinevate põletikuliste muutuste tõttu ning võimalik, et seletada ka Th1 muutumise Th 2-ks ja tsütokiinide tõusu, selliste nagu interleukiin 2, 12 ja interferoon-gamma (Singh jt 2002).

UNEHÄIRED

Unehäired on tüüpilised autistlikele lastele nende esimestel eluaastatel. Tüüpilised on koolikad, karjed ja väsimuse puudumine pärast väikseimategi uinakute tegemist. Mitteautistlikud lapsed, kellel on samalaadne käitumine, muutuvad rahulikumaks, kui imetav ema lõpetab lehmapiima tarbimise või lõpetatakse lapsele lahjendatud lehmapiima andmine

(Lucassen jt 1998). Neid beeta-laktoglobuliinivastaseid antikehi on leitud ka sarnaseid probleeme omavatel normaalsetel lastel (Kahn jt 1987). Kui opioid on kaasatud, siis koos „kellukesekujulise“ annus-vastuse kõveraga võib oodata kõiki soolestiku probleeme ja unehäireid eriti, sest enkefaliin on mukosaalsete ganglioni rakkude jaoks vahendusaine. Meie hüpoteesi, et eksorfiinid on võtmelemendiks autismi arengus, tugevdavad andmed normaalste unetute imikute kohta. Sünapilise pilu madal serotoniini tase tugevdab seda seisundit, sest funktsionaalne serotoniin vähendab insomniat kartsinoidse haiguse korral.

AUTISMI JUHTUDE SUURENEMINE TEATUD MAADEST PÄRIT IMMIGRANTIDE SEAS

Immigrandid, kes tulevad Lääne-Euroopasse arengumaadest, omavad suuremat autistliku sündroomi esinemissagedust (Gillberg ja Gillberg 1996). Üldiselt tulevad need pered maadest, kus tarbitakse vähe teravilju ja piima riikidesse, kus tarbitakse neid palju. Need toiduained on nii Euroopa riikides kui ka USAs ka kõige odavamad. Ka nende andmete valguses on meie mudel korrektne.

GLUTEENI JA KASEIINIVABA TOIDUMUUTUSE MÕJU

Dieedi osas on raske läbi viia kaksikpimedaid kontrollgruppidega uuringuid, kuna kontrollrühmad lõpetavad tavaliselt toidumuutuse juba pärast paari nädalat. Teostatud on palju testimisi enne ja pärast toidumuutust ja teadmata, kes testitavatest toidumuutust järgib (Reichelt jt 1990; 1991, Knivsberg jt 1995, Lucarelli jt 1995, Whiteley jt 1999, Cade jt 2000, Knivsberg jt 2002). Mõnede juhtumite puhul võib tegemist olla platseeboga, kuid sekkumise perioodid nendes projektides on olnud vähemalt aasta või enam ja ühe projekti raames isegi 4 aastat (Knivsberg jt 1995) ning pikaajsete projektide puhul ei täheldatud platseeboefekti (Shattock 1995). Uurimused perekonna küsimustike abil (Rimland 1988) ja väikesed sotsioloogilised uurimused ning hulgaliselt identseid jutustusi viitavad sellele, et dieediga saab haigust parandada. Nagu oligi arvata, mõjub toidumuutus tõhusamalt väikelastele, kes on haiguse all kannatanud vähem aega. Esitatud juhtumites viidatakse võõrutus- ja ärajäämanähtudele, mis kinnitavad toidu toimet. Lööbeid, sügelemist, pupillide muutusi, kõhulahtisust ja une probleeme, mis ilmnevad, ei saa teisiti tõlgendada.

SOOLESTIKU JA AJU VAHELINE SEOS

On tõestatud, et hilise alguse ja regressiivse autismiga lapsed omavad sageli regionaalset sõlmelist ileiiti ja koliiti jämesoole ülemises osas (Wakefield jt 2000, Furlano jt 2001) Tõendeid on leitud ka ülemise gastrointestinaaltrakti kahjustuste kohta (Horvath jt 1999, Torrente jt 2002). Limaskestast kahjustus toob endaga kaasa kindlasti soole läbilaskvuse suurenemise, kuna sooleseina rakud - enterotsüüdid moodustavad üherakulise kihi. See seletab tõusnud valkude imendumise, mida määratakse spetsiifiliste IgA antikehade tõusuga veres (Reichelt jt 1991, Lucarelli jt 1995, Cade jt 2000) ja väikese molekulmassiga osakeste läbipääsemise hindamisega (peptiidid uriinis) (D'Eufemia jt 1996). Mitmed avaldatud teaduslikud uurimused viitavad sellele, et põletik sooletraktis põhjustab regulaarselt aju valgeaine kahjustusi (Geissler jt 1995, Hart 1998). Peptiide võib kergesti pidada nende toimete vahendajaks, eriti sellepärast, et opioidide seos epilepsiaga on kindlaks tehtud. Ka tsöliaakia korral on tõusnud peptiidide eritamist leitud (Reichelt jt 1998).

LOOMMUDELID

Loomad, kes ei söö tavaliselt gluteenirikast toitu, peaksid demonstreerima liigselt gluteeni saamise mõju ning psühhofüsioloogilisi muutusi selle korral. Kassile gluteeni andmine põhjustab tõsiseid muutusi aju monoamiinides, aminohapete profiilis ja dopamiini beta-hüdroksülaasis (Thibault jt 1988). Seega võib gluteen mõjutada kesknärvisüsteemi. Rottidele liigselt gluteeni andmine põhjustab neil loomadel seda, et nad õpivad tähele panema üliohtraid/liigseid stiimuleid, mida tavaliselt ignoreeritakse tingitud refleks-paradigma puhul. (Harper jt 1997). See võimetus eristada olulisi ja mitteolulisi sisestusi on tüüpiline autistlikule seisundile (Frith 1998).

KOKKUVÕTE

Toetudes eelnevale informatsioonile võime esitada oma lihtsa mudeli. Geneetiline rike usutakse olevat primaarne vähemalt kahe või rohkema peptidaasi või peptidaasi reguleeriva valgu puhul. Tõusnud soole läbilaskvus/imendumine ja järgnev peptiidide hulga tõus, mis võib olla tingitud ka peptidaaside defektist, ülekoormatud piiratud lõhustamise võime muudab nõrgad haigusnähud väga ägedateks väljendusteks. Me arvame, et kõnealused ensüümid peavad olema erinevad paarid või suuremad kooslused erinevate perekondade ensüümidest (peptidaasidest), sest opioidsed peptiidid on erinevate ahela pikkustega erinevatel patsientidel. Eksorfiinid ja teised isoleeritud peptiidid võivad seletada suurt osa autistliku sündroomi sümptomatoloogias ja autismi paljusid väljendusi. Kui manustada loomadele peptiidide nende väga varajases arenguperioodis, võime saada pikaajalise mõju. Rottidel võib neid leida veel kolm kuud pärast manustamist (Gschanes ja Windisch 1999). See võib olla tingitud nende troofilisest toimest ja seetõttu tuleks kõiki peptiide käsitleda suure ettevaatusega, k.a. sekretiini.

Ei ole üllatav näha nii suurt arvu erinevaid sümptomeid, erinevaid morfoloogiaid ja EEG erinevaid leide autistlike laste puhul, mis tulenevad sellest, et opioidide ahela pikkused on erinevad, opioidide kontsentratsioonid on erinevad ja kellukesekujulised doosi-vastuse kõverad on ka erinevad.

Tunnustus

Täname Seimi perekonna fondi. Ilma nende toeta ei oleks olnud see projekt võimalik.

Kirjandusallikad

- Bailey, A., Le Coneur, A., Gottesman, I., Bolton, P., Simonoff, E., Yuzda, E. and Rutter, M. (1995) "Autism is a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study", *Psychol. Med.* 25, 63–77.
- Banks, W.A., Kastin, A.J., Harrison, L.M. and Zadina, J.E. (1996) "Perinatal treatment of rats with opiates affects the development of blood-brain barrier transport system PTS-1", *Neuroendocrinol. Teratol.* 18, 711–715.
- Bauman, M. (1991) "Microscopic neuroanatomic abnormalities in autism", *Pediatrics* 87(Suppl.), 791–796.
- Bernal, M.E. and Miller, W.H. (1971) "Electrodermal and cardiac responses of schizophrenic children to sensory stimuli", *Psychophysiology* 7, 155–165.
- Bhatia, K.P., Brown, P., Gregory, Manji, H., Thompson, P.D., Ellison, D.M., et al. (1995) "Progressive myoclonic ataxia associated with coeliac disease. The myoclonus is of cortical origin, but the pathology is in the cerebellum", *Brain* 118, 1087–1093.
- Böhlen, P., Castillo, F., Ling, R. and Guillemin, R. (1980) "An efficient procedure for the separation of peptides from amino acids and salts", *Int. J. Pept. Protein Res.* 16, 306–310.
- Cade, R.J., Privette, R.M., Fregly, M., Rowland, N., Sun, Z., Zele, V., Wagemaker, H. and Edelstein, C. (2000) "Autism and schizophrenia: intestinal disorders", *Nutr. Neurosci.* 2, 57–72.
- Campbell, M., Schopler, E., Cueva, J.E. and Hallin, A. (1996) "Treatment of autistic disorder", *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatr.* 35, 134–143.

- Chapman, R.W.G., Laidlow, J.M., Colin-Jones, D., Eade, O.E. and Smith, C.L. (1978) "Increased prevalence of epilepsy in coeliac disease", *Br. Med. J.* 22 July, 250–251.
- Chen, L., Hamaguchi, K. and Ogawa, M. (1980) "pCPA reduces both monoaminergic afferents and non-monoaminergic synapses in the cerebral cortex", *Neurosci. Res.* 19, 111–115.
- Courchesne, E., Townsend, J. and Saitoh, O. (1994) "The brain in infantile autism: posterior fossa structures are abnormal", *Neurology* 44, 214–223.
- D'Eufemia, P., Celli, M., Finnochiario, R., Pacifico, L., Viozzi, L., Zaccagnini, M., Cardi, E. and Giardini, O. (1996) "Abnormal intestinal permeability in children with autism", *Acta Paediatr.* 85, 1076–1079.
- Deykin, E.Y. and MacMahon, N. (1979) "The incidence of seizures among children with autistic symptoms", *Am. J. Psychiatr.* 136, 1310–1312.
- Egaas, B., Courchesne, E. and Saitoh (1995) "Reduced size of corpus callosum in autism", *Arch. Neurol.* 52, 794–801.
- Ermisch, A., Brust, P., Kretzschmar, R. and Buhle, H-J. (1983) "On the blood-brain barrier to peptides (3H) beta-casomorphin-5 uptake by eighteen brain regions in vivo", *J. Neurochem.* 41, 1229–1233.
- Feinberg, I. (1982) "Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence?", *J. Psychiatr. Res.* 17, 319–334.
- Frith, U. (1988) "Autism: possible clues to the underlying pathology", In: Wing, L., ed, *Aspects of Autism: Biological Research* (Gaskell, The National Autistic Society, London), pp. 19–30.
- Furlano, R.I., Anthony, A., Day, R., Brown, A., McGarvey, L., Tomson, M.A., Davies, S.E., Berelowitz, M., Forbes, A., Wakefield, A.J., Walker-Smith, J.A. and Murch, S.H. (2001) "Colonic CD-8 and g-d-cell infiltration with epithelial damage in children with autism", *J. Pediatr.* 136, 366–372.
- Gardner, M.L.G. (1994) "Absorption of intact proteins and peptides", In: Johnson, L.R., ed, *Physiology of the Gastrointestinal tract*, 3rd Ed. (Raven Press, New York), pp. 1795–1820.
- Geissler, A., Andus, T., Roth, M., Kullmann, F., Caesar, I., Held, P., Gross, V., Feuerbach, S. and Schoemerich, F. (1995) "Focal whitmatter lesions in brain of patients with inflammatory bowel disease", *Lancet* 345, 897–989.
- Gillberg, I.C. and Gillberg, C. (1996) "Autism in immigrants: a population-based study from Swedish rural and urban areas", *J. Intellect. Disabil. Res.* 40, 24–31.
- Gillberg, C., Terenius, L. and Lønnerholm, G. (1985) "Endorphin activity in childhood psychosis: spinal fluid in 24 cases", *Arch. Gen. Psychiatr.* 42, 780–783.
- Gobbi, G., Bouquet, F., Gicco, L., Lambertini, A., Tassinari, C.A., Ventura, L. and Zaniboni, M.G. (1992) "Coeliac disease, epilepsy, and cerebral calcifications", *Lancet* 340, 439–443.
- Green, L-A., Fein, D., Modahl, C., Feinstein, C., Waterhouse, L. and Morris, M. (2001) "Oxytocin and autistic disorder: alterations in peptide forms", *Biol. Psychiatr.* 50, 609–613.
- Gschanes, A. and Windisch, M. (1999) "Early postnatal treatment of peptide preparations influences spatial navigation of young and adult rats", *Behav. Brain Res.* 100, 161–166.
- Hadjivassiliou, M., Gru newald, R.A., Chattopadhyay, A.K., Davies-Jones, G.A.B., Gibson, A., Jarratt, J.A., et al. (1998) "Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia", *Lancet* 352, 1582–1585.
- Hadjivassiliou, M., Boscolo, S., Davies-Jones, G.A.B., Gru newald, R.A., Not, T., Sanders, D.S., Simpson, J.E., Tongiorgi, E., Williamson, C.A. and Woodroffe, N.M. (2002) "The humoral response in the pathogenesis of gluten ataxia", *Neurology* 58, 1221–1226.
- Harper, D.N., Nisbet, R.H. and Siegert, R.J. (1997) "Dietary gluten and learning to attend to redundant stimuli in rats", *Biol. Psychiatr.* 42, 1060–1066.
- Hart, P.E., Gould, S.R., MacSweeney, J.E., Clifton, A. and Schon, F. (1998) "Brain white matter lesions in inflammatory bowel disease", *Lancet* 351, 1558.
- Hashimoto, T., Tayama, M., Masahito, M., Sakorama, N., Yoshimoto, T. and Murakawa, K. (1992) "Reduced brain stem size in children with autism", *Brain Dev.* 14, 94–97.
- Hauser, K.F., McLaughlin, P.J. and Zagon, I.S. (1989) "Endogenous opioid systems and the regulation of dendritic growth and spine formation", *J. Comp. Neurobiol.* 281, 13–22.
- Hole, K., Bergslien, A.A., Jørgensen, H., Berge, O-G., Reichelt, K.L. and Trygstad, O.E. (1979) "A peptide containing fraction from schizophrenia which stimulates opiate receptors and inhibits dopamine uptake", *Neuroscience* 4, 1139–1147.
- Horvath, K., Papadimitriou, J.C., Rabsztyn, A., Drachenberg, C. and Tildon, J.T. (1999) "Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder", *J. Pediatr.* 135, 559–563.
- Husby, S., Jensenius, J.C. and Cant, A.J. (1984) "Passage of un-degraded dietary antigen into the blood of healthy adults", *Scand. J. Immunol.* 22, 83–92.
- Israngkun, P., Newman, H.A., Patel, S.T., Duruibe, V.A. and Abou-Issa, H. (1986) "Potential biochemical markers for infantile autism", *Neurochem. Pathol.* 5, 51–70.
- Kahn, A., Rheffat, E., Blum, D., Casimir, G., Duchateau, J., Mozin, J. and Jost, R. (1987) "Difficulty in initiating sleep and maintaining sleep associated with cow's milk allergy in infants", *Sleep* 10, 116–121.
- Keller, J. (1997) "Impact of autism-related peptides and 5-HT system manipulations on cortical development and plasticity", 1st. Annual report for the EU project, BMH4-CT96-0730, pp. 1–10.
- Kilshaw, P.J. and Cant, A.J. (1984) "The passage of maternal dietary protein into human breast milk", *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 75, 8–15.
- Kinney, H.C., Burger, P.C., Hurwitz, B.J., Humans, J.C. and Grant, J.P. (1982) "Degeneration of the central nervous system associated with celiac disease", *J. Neurol. Sci.* 53, 9–22.
- Knivsberg, A-M., Reichelt, K.L., Nødland, M. and Høien, T. (1995) "Autistic syndromes and diet: a follow up study", *Scand. J. Edu. Res.* 39, 223–236.
- Knivsberg, A-M., Reichelt, K.L., Høien, T. and Nødland, M. (2002) "A randomised, controlled study of dietary intervention in Autistic syndromes", *Nutr. Neurosci.* 5, 251–261.
- LaBella, F.S., Geiger, J.D. and Glavin, G.B. (1985) "Adminstrated peptides inhibit the degradation of endogenous peptides, the dilemma of distinguishing direct from indirect effects", *Peptides* 6, 645–660.
- LeBoyer, M., Bouvard, M.P., Lensing, P., Launay, J-M., Tabuteau, F., Arnaud, P., Waller, D., Plumet, M-H., Recasens, C., Kerdelhue, B., Duags, M. and Panksepp, J. (1990) "Opioid excess hypothesis of Autism", *Brain Dysfunct.* 3, 285–298.
- LeBoyer, M., Bouard, M.P., Racasens, C., Philippe, A., Guillod-Bataille, M., Bondeaux, D., Tabateau, F., Dugas, M., Panksepp, J. and Launoy, J-M. (1994) "Difference between plasma N- and C-terminally directed beta-endorphin immunoreactivity in infantile autism", *Am. J. Psychiatr.* 151, 1797–1801.
- Lindstrøm, L.H., Nyberg, F., Terenius, L., Bauer, K., Besev, G., Gunne, L.M., Lyrenaas, S., Willdeck-Lund, G. and Lundberg, B.

- (1984) "CSF and plasma beta-casomorphin-like opioid peptides in post-partum psychosis", *Am. J. Psychiatr.* 141, 1059–1066.
- Lucarelli, S., Frediani, T., Zingoni, A.M., Ferruzzi, F., Giardini, O., Quintieri, F., Barbato, M., D'Eufemia, P. and Cardi, E. (1995) "Food allergy and infantile autism", *Panminerva Med.* 37, 137–141.
- Lucassen, P.L.B., Assendelft, W.J.J., Gubbels, J.W., vanEijk, J.T.M., vanGeldrop, W.J. and Knuistingh Neven, A. (1998) "Effectiveness of treatments for infantile colic: a systematic review", *Br. Med. J.* 316, 1563–1569.
- Mahe, S., Tome, D., Dumontier, A.M. and Desjeux, J.F. (1989) "Absorption of intact morphiceptin by diisopropylfluorophosphate-treated rabbit ileum", *Peptides* 10, 45–52.
- Mednick, S.A., Schulsinger, F., Bell, B., Venables, P.H. and Christiansen, K.O. (1974) *Genetics, environment and psychopathology* (North Holland Press, Amsterdam).
- Migliore-Samour, D. and Jollet, P. (1988) "Casein, a prohormone with immunostimulating role in the newborns?", *Experientia* 44, 88–93.
- Nelson, K.B., Grether, J.K., Croen, L.A., Dambrosia, J.M., Dickens, B.F., Jelliffe, L.L., Hansen, R.L. and Phillips, T.M. (2001) "Neuropeptides and neurotrophins in neonatal blood of children with autism and mental retardation", *Ann. Neurol.* 49, 597–606.
- Nyberg, F., Liberman, R., Lindstøm, L.H., Lyrenaes, S., Koch, G. and Terenius, L. (1989) "Immunoreactive beta-casomorphin-8 in cerebrospinal fluid from pregnant and lactating women: correlation with plasma level", *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 68, 283–289.
- Panksepp, J., Normansell, L., Sivily, S., Rossi, J. and Zolovick, A.J. (1978) "Casomorphins reduce separation distress in chickens", *Peptides* 5, 829–831.
- Paul, K-D., Henker, J., Todt, A. and Eysold, R. (1985) "EEGBefunde in Zoeliaki-kranken Kindern in Abhängigkeit von der Ernährung", *Z. Klin. Med.* 40, 439–443.
- Pedersen, O.S., Ying, L. and Reichelt, K.L. (1999) "Serotonin uptake stimulating peptide found in plasma of normal individuals and in some autistic urines", *Pept. Res.* 53, 641–646.
- Persico, A.M., Baldi, A., Reichelt, K-L., Gonzalez, A., Keller, F., (1998) "Serotonin uptake-stimulating peptides extracted from the urines of autistic patients: potential significance for the pathogenesis of autistic disorders". *American Neuroscience Meeting, Los Angeles.* abs. No 2.
- Persico, A.M., Militerni, R., Brvaccio, C., Schneider, C., Melmed, R., Trillo, S., Montecchi, F., Palermo, M.T., Pascucci, T., puglisi-Allegra, S., Reichelt, K.L., Conciatori, M., Baldi, A. and Keller, F. (2000) "Adenosine deaminase alleles and autistic disorders: case-control and family-based association studies", *Am. J. Med. Genet.* 96, 784–790.
- Persico, A.M., D'Agruma, L., Maiorano, N., Totaro, A., Militerni, R., Bravaccio, C., Wassink, T.H., Schneider, C., Melmed, R., Trilo, S., Montecchi, F., Palermo, M., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., Reichelt, K.L., Conciatori, M., Marino, R., Quattrocchi, C.C., Baldi, A., Zelante, L., Gasparini, P. and Keller, F. (2001) "Reelin gene alleles and haplotypes as a factor pre-disposing to autistic disorder", *Mol. Psychiatr.* 6, 150–159.
- Piven, J., Arndt, S., Bailey, J. and Andreasen, N. (1996) "Regional Brain enlargement in autism: a magnetic resonance imaging study", *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatr.* 35, 530–536.
- Pratesi, R., Gandolfi, L., Friedman, H., Farage, L., DeCastro, C.A.M. and Catassi, C. (1998) "Serum IgA antibodies from patients with coeliac disease react strongly with human brain blood-vessel structures", *Scand. J. Gastroenterol.* 33, 817–821.
- Reichelt, W.H. and Reichelt, K.L. (1997) "The possible role of peptides derived from food proteins in diseases of the nervous system", In: Gobbi, G., ed. *Epilepsy and other Neurological Disorders in Coeliac Disease* (John Libbey & Comp., London), pp. 225–235.
- Reichelt, K.L., Saelid, G., Lindback, T. and Boler, J.B. (1986) "Childhood autism: A complex disorder", *Biol. Psychiat.* 21, 1279–1290.
- Reichelt, K.L., Ekrem, J. and Scott, H. (1990) "Gluten, milk proteins and autism: dietary intervention effects on behavior and peptide secretion", *J. Appl. Nutr.* 42, 1–11.
- Reichelt, K.L., Knivsberg, A-M., Lind, G. and Nødland, M. (1991) "Probable etiology and possible treatment of childhood autism", *Brain Dysfunct.* 4, 308–319.
- Reichelt, K.L., Pedersen, O.S., Liu, Y., Knivsberg, A.M., and Nødland, M. (1997). "Possible role of peptides, exorphines and serotonin uptake stimulating peptides in autism". In: *Living and learning with Autism* (Edit: The Autism Res Unit. University of Sunderland), pp. 221–231.
- Reichelt, W.H., E, J., Stensrud, M.B. and Reichelt, K.L. and (1998) "Peptide excretion in Celiac disease", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 26, 305–309.
- Remme, J.F., Koetznner, S., Haugland, K., Reichelt, K.L., and Brønstad, G.O. (2001) "Analysis of neuroactive peptides with LC/MS in the urine of autistic patients". *Proc. 49th Conf Mass Spectrometry and Allied Topics, Chicago, May 27–31*, pp. 2–3.
- Rimland, B. (1988) "Comparative effects of treatment on child's behaviour", *Autism Res. Rev.* 2(suppl. 34B).
- Ritvo, E.R., Ornitz, E.M., Eviatar, A., Markham, C.H., Brown, M. and Mason, A. (1969) "Decreased post-rotatory nystagmus in early infantile autism", *Neurology* 19, 653–658.
- Ritvo, E., Freeman, B.J., Scheibel, A.B., Duong, T., Robinson, H. and Guthrie, D. (1986) "Lower Purkinje cell counts in cerebella of four autistic subjects: initial findings of the UCLA-NSAC autopsy research report", *Am. J. Psychiatr.* 143, 863–866.
- Rogeness, G.A., Javors, M.A. and Pliszka, S.R. (1992) "Neurochemistry and child and adolescent psychiatry", *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatr.* 31, 765–781.
- Rosenblum, S.M., Ariock, J.R., Krug, D.A., Stubbs, E.G., Young, N.B. and Pelson, R.O. (1980) "Auditory brainstem evoked responses in autistic children", *J. Autism Dev. Disord.*, 215–225.
- Scifo, R., Cioni, M., Batticane, N., Tirolo, C., Testa, N., Quattropiani, M.C., Morale, M.C., Gallo, F. and Marchetti, B. (1996) "Opioid-immune interactions in autism: behavioural and immunological assessment during a double-blind treatment with naltrexone", *Ann. Ist. Super. Sanita* 32, 351–359.
- Shanahan, M.R., Venturini, A.J., Daiss, J.L. and Friedman, A.E. (2000) "Peptide diagnostic markers for human disorders", *Eur. Patent Appl. EP 0 969 015 A2* 1-44, 1–44.
- Shattock, R. (1995). "Can dietary intervention be used successfully as a therapy for Autism?" In *Psychological Perspectives in Autism*. (Edit: The Autism Res Unit, University of Sunderland), pp. 203–206.
- Shattock, P., Kennedy, A., Rowell, F. and Berney, T. (1990) "Role of neuropeptides in autism and their relationship with classical neurotransmitters", *Brain Dysfunct.* 3, 328–345.
- Siggins, G.R., Henriksen, S.J., Chavkin, C. and Gruol, D. (1986) "Opioid peptides and epileptogenesis in the limbic system: cellular mechanisms", *Adv. Neurol.*, 501–512.
- Singh, V.K. (1995) "Neuropeptides as native immune modulators", *Prog. Drug Res.* 45, 10–31.
- Singh, V.K., Lin, S.X., Newell, E. and Nelson, C. (2002) "Abnormal measles-mumps-rubella antibodies and CNS autoimmunity in

children with autism", *J. Biomed. Sci.* 9, 359–364.

Stubbs, E.G., Crawford, M.L., Burger, D.R. and Vandenberg, A.A. (1977) "Depressed lymphocyte responsiveness in autistic children", *J. Autism Child. Schizophr.* 7, 49–55.

Sun, Z. and Cade, J.R. (1999) "A peptide found in schizophrenia and autism causes behavioral changes in rats", *Autism* 3, 85–95.

Sun, Z., Cade, R.J., Fregly, M.J. and Privette, R.M. (1999) "Betacasomorphin induces Fos-like immunoreactivity in discrete brain regions relevant to schizophrenia and autism", *Autism* 3, 67–83.

Tenconi, B., DiGiulio, A.M., Donadoni, M.L., Montegazza, P. and Gorio, A. (1991) "Perinatal exposure to opiates alters reactive pruning and regeneration of serotonergic neurones", *Brain Dysfunct.* 4, 49–50.

Thibault, L., Coulon, J-F., Roberg, J., Craig, K.A., Meador- Woodruff, J.H., Goldman, R. and Green, J.F. (1988) "Changes in serum amino acids content and dopamine beta-hydroxylase activity and brain neuro-transmitter interaction in cats fed casein with and without gluten", *J. Clin. Biochem. Nutr.* 4, 209–221.

Torrente, F., Ashwood, P., Day, R., Machado, N., Furlano, R.I., Anthony, A., Davies, S.E., Wakefield, A.J., Thomson, M.A., Walker-Smith, J.A. and Murch, S.H. (2002) "Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism", *Mol. Psychiatr.* 7, 375–382.

Troncone, R., Scarcella, A., Donatiello, A., Cannataro, P., Tarabusco, A. and Aurichio, S. (1987) "Passage of gliadin into human breast milk", *Acta Paediatr. Scand.* 76, 453–456.

Wakefield, A.J., Anthony, A., Murch, S.H., Thomson, M., Montgomery, S.M., Davies, S., O'Leary, J.J., Berelowitz, M. and Walker-Smith, J.A. (2000) "Enterocolitis in children with developmental disorders", *Am. J. Gastroenterol.* 95, 2285–2295.

Waring, R.H. and Ngong, J.M. (1993). Sulphate metabolism in allergy-induced autism: relevance to the disease etiology. In *Biological perspectives in Autism* (Edit: The Autism Res Unit. University of Sunderland), pp. 25–33.

Watanabe, Y., Kojima-Kumatsu, T., Iwaki-Egawa, A. and Fujimoto, Y. (1993) "Increased excretion of proline-containing peptides in dipeptidyl peptidase IV-deficient rats", *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 81, 323–350.

Whiteley, P., Rodgers, J., Savery, D. and Shattock, P. (1999) "A gluten-free diet as an intervention for autism and associated spectrum disorders: preliminary findings", *Autism* 3, 45–65.

Zagon, I.S. and McLaughlin, P.J. (1987) "Endogenous opioid systems regulate cell proliferation in the developing rat brain", *Brain Res.* 412, 68–72.