

The Pathophysiological Rationale for Personalized Metabolic Therapy of ASD. Promising Treatments

S.I. Polyakova*,
Pirogov Russian National Research
Medical University (RNRMU)
Moscow, Russia
polyakova1963@list.ru

A metabolic disorder is a serious problem. Changes that occur at the cellular level and are associated with biochemical processes lead to malfunctioning of the cell, and further, respectively, of tissue, organ, of the whole organism. Metabolic care is the basis of metabolic therapy. For almost every metabolic regimen of autism spectrum disorder, there is a counter-argument. For this reason, a unified approach to therapy is impossible, since, apart from the “autistic triad”, each person has his own peculiarities. At the present stage, in addition to a gluten-free and casein-free diet, vitamins of groups B and D, polyunsaturated fatty acids, various methods of microbiome correction are used in therapy, but there is no serious evidence base for the effectiveness of therapy for autism spectrum disorders. The article proposes options for the study of metabolic changes in the body, which are the rationale for the development of a scheme of metabolic therapy in the framework of a personalized medical approach to the treatment of autism spectrum disorders.

Keywords: autism spectrum disorders, autism, metabolic therapy, personalized therapy.

The purpose of this article is to acquaint with the complex biochemical processes occurring in the brain, their dependence on the dietary intake, metabolic features, and the gut flora condition. It seems that the detailed description of some biochemical processes, given in the article, may be of interest to young researchers and experienced professionals working with children with autism spectrum disorders.

People with ASD have varying degrees of brain function deficiency. This is due to the violation of neural pathways, the imbalance of inhibiting and activating biologically active

substances, which leads to a decrease in communication skills, the impossibility of socialization, and to some people — to cognitive impairment. Neurotransmitters are included in a wide variety of chemical processes at the level of neurons and synapses. The roles of gamma-aminobutyric acid (GABA), glutamate/glutaminergic mechanism, transport and synthesis of creatine, cholesterol, pyridoxine — which are cofactors of many reactions of neurotransmitter synthesis (serotonin, norepinephrine), biotin, carnitine were studied. Autism, as a symptom, is described in violation of the dis-

For citation:

Polyakova S.I. The Pathophysiological Rationale for Personalized Metabolic Therapy of ASD. Promising Treatments. *Autizm i narusheniya razvitiya = Autism & Developmental Disorders (Russia)*. 2019. Vol. 17. No. 1 (62). Pp. 55–70. doi: 10.17759/autdd.2019170105

* *Polyakova Svetlana Igorevna*, MD, Professor of the Department of Hospital Pediatrics named after academician V.A. Tabolin, Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia. E-mail: polyakova1963@list.ru

eases of the urea cycle, partly due to receptor deficiency in oxytocin and other mechanisms [4; 8; 11: 19; 20]. In a small number of studies on an autopsy of the brain of patients with autism, glial cells (neuroglia) predominate over neurons, whereas normally glial cells make up about 40% of all brain cells. The brain sizes of children under the age of one with autism exceed the brain sizes of neurotypical children. But with age, the brain composition changes: there is an increase of white matter, the cerebellum, precisely due to glia [4–6; 8; 11; 14, 17; 19; 22; 24]. Gliosis is the result of the replacement of neurons by glia, and the causes of neuron destruction in cases of autism are variable. There are various theories: autoimmune lesions, post-vaccination reactions with immune damage, infectious, trophic (including hypoxic), metabolic. It is important to determine the causes of gliosis and its location, which significantly affects the clinical manifestations, aphasia, emotional sphere, motor symptoms of people with ASD. In 3/4 of the results of magnetic resonance spectroscopy of patients with autistic traits, there was a decrease in the content of glutamic acid and glutamate in the brain [8].

An individual approach to the treatment of each patient is primarily the identification of personal features of the metabolism. Patients with ASD are known to have unusual eating behavior, hypersensitivity to certain foods, which can manifest themselves as aerophagia, abdominal pain, bowel disorders (both diarrhea and constipation), bloating, which ultimately leads to unwillingness to try new food and the formation of fear of eating [2]. The symptoms of metabolic disorders that appear after a year are described. That is, precisely when children expand their diets and try to introduce new foods into their diets. And, first of all, it concerns gluten-containing products [14; 15].

The essence of gluten intolerance

Cereal grains, especially wheat, are high in high molecular weight protein, gluten. The following are the current ideas about

the mechanisms of gluten intolerance with a description of specific clinical entities and manifestations:

- Allergic: wheat allergy (respiratory and food allergies, gluten-dependent anaphylaxis, contact urticaria);
- autoimmune (celiac disease, gluten ataxia, Dühring's disease);
- and non-autoimmune non-allergic gluten intolerance (or non-coeliac gluten intolerance), *see fig. 1*.

Coeliac disease is a disease that often occurs not only in children, but also in 1-3% of the western population, including the United States, which corresponds to 5 million people living in Europe. Celiac disease is particularly common in Sweden.

Wheat allergy is a type of allergy that is most common in children in their early infancy. In adolescents and adults, it is much less common. In most cases, children “overgrow” this type of allergy by the age of 12.

Non-coeliac gluten intolerance is a disease whose symptoms are triggered by the use of gluten by a patient without coeliac disease or food allergies. For gluten intolerance, not associated with coeliac disease, there are no biological markers.

The most important step in the diagnosis of this disease is the exclusion of coeliac disease and wheat allergy.

Gluten has two fractions – gluten and gliadin. It is the amino acid composition of these proteins that determine the properties and characteristics of hydrolyzed wheat gluten. The essence of the biochemical transformations of gluten in the process of digestion is the overproduction of glutamic acid.

Sources and biological significance of glutamic acid

glutamic acid is a part of proteins and means a lot in their metabolism, being an amino acid with a neurally mediated effect [16]. glutamic acid belongs to the group of replaceable amino acids and means a lot in the body. In the body, it is up to 25% of all amino acids.

Glutamate (a salt of glutamic acid) provides, in particular, the functioning of NMDA receptors and activates them, ensuring the conduction of nervous impulses, organizing such cognitive functions as learning and memory. According to some authors, the dysfunction of NMDA receptors leads to ASD [16].

The key amino acid in the hydrolysis of gluten, gliadin, and glutelin is glutamine acid. Another important point: glutamic acid itself and its salts are flavor enhancers, creating a so-called “umami” taste that the baby already feels with breast milk, although in essence, it is the taste of meat that was extracted during long-term cooking. For all substances, toxicity is a dose-dependent concept. For adults, it is considered safe to consume up to 9 g of glutamate per day.

The list of products excluded from the diet of patients with ASD is expanded to the big four harmful: gluten, casein, soy, and corn.

These foods, rich in glutamic acid, contribute to atrophy of the villi in the small intestine and have neurotoxicity, which is a hot theme for discussion by Neuro Dietitians [21].

The mechanism of molecular mimicry explains the clinical intolerance of not only these four (gluten (including millet and oats), casein, soy, and corn) but already six products: rice and yeast are added to the list.

Contrary to popular belief, the corn-grain protein consists of zein (a partial protein that does not contain lysine) and glutelin (native protein), i.e., 40% per one of each. Corn glutelin contains a large (10–40%) amount of glutamine in its composition; moreover, breeders grow varieties enriched with protein for use in the food industry and to create animal feed [1].

Soy protein contains 21.6% of glutamine – it is more than whey (16.9%), casein (19.5%), egg (13.5%), beef (14.5%) [20]. Despite the combative advertising of soybeans and prod-

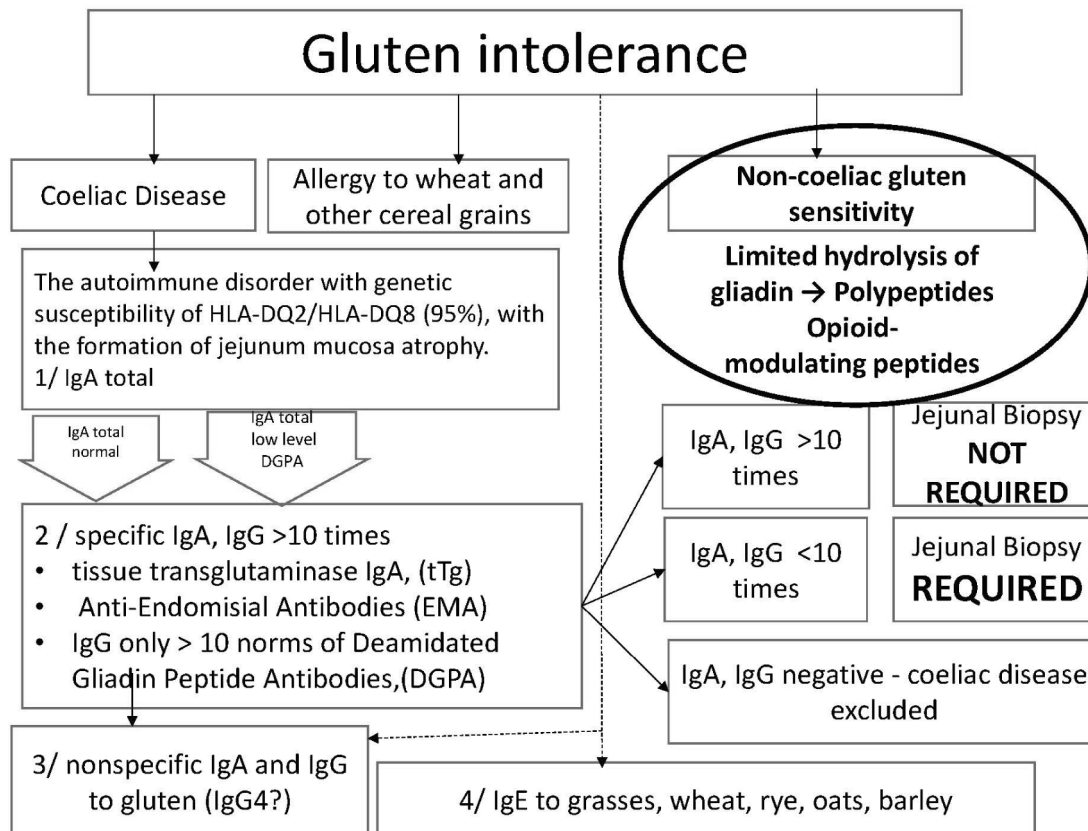


Fig. 1. Gluten intolerance scheme, diagnostic markers. A fragment of non-coeliac intolerance, characteristic of children with ASD, is highlighted.

ucts from it, soy is a stodgy product, that has a large number of “insertions” in the molecule, does not swell and, therefore, has low biological value, referring to partial proteins, because does not contain methionine. There is a lot of information about the useful and not very useful properties of soy, including products from genetically modified soy.

The lack of gluten in the product is not a guarantee of intolerance. It is not about allergy and celiac disease, it is a hydrolysis product — glutamic acid and peptides of gliadin with opiate activity [12].

Glutamic acid is found in all foods of both vegetable and animal origin. In grains— from 1500 mg/100 g of protein in product (corn), to 3400 mg/100 g of protein in Poltavskaya grain (wheat groats), in whole chicken eggs — 1773, in milk from 509 (cow’s milk protein) to 1164 mg/100 g of sheep protein milk, cheese — from 4000 to 6300, fish 1700–3000 mg/100 g of protein. The higher the fat content of the product, the smaller the proportion of protein and, accordingly, amino acids. Therefore, the transition to a ketogenic, more fat-laden diet is often useful not only due to a shift in metabolism from carbohydrates to fats. So, soy contains more than 6000 mg/100 g of glutamic acid. Then a little less — in green peas and parmesan cheese, and only then follow the meat varieties (beef — 2800), etc.

An important role in the hydrolysis of proteins is assigned to the enzyme dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-IV). It is a nonspecific enzyme of many protein substrates, and in particular, gluten and casein. The activity of DPP-IV reduces the content of polypeptides with an opioid effect on the CNS — gluten, and casein. If necessary, on the Internet you can find the trade names of enzymes containing DPP-IV, to use them to improve the digestion of gluten.

Glutamine is an integral part of the most important antioxidant complex — glutathione, which protects cells from oxidative damage. In addition, glutamine is an energy source for rapidly dividing cells, including cells of the immune system. About 1/3 of the energy of these cells is obtained by the oxidation of glutamine.

Ammonia as a neurotoxin

High levels of ammonia and glutamate in the brain are neurotoxic [7; ten]. Their effect on specific brain receptors (NMDA receptors) causes anxiety states. The “circulation” of glutamate is a complex mechanism that ensures the operation of NMDA receptors [7; 10; 23]. Deamination of glutamine to glutamate leads to the formation of ammonia, which, in turn, is associated with a free proton and excreted into the renal tubule lumen, leading to a decrease in acidosis. The conversion of glutamate to α -ketoglutarate also occurs with the formation of ammonia. But the reverse process of ammonia binding leads to an increase of glutamine (“time bomb”) with a potential risk of a hyperammonaemia crise, which, in a severe case, leads to coma, and in a lighter one — to headache, vomiting, impaired consciousness and behavior, other signs of intoxication. In the central nervous system is about 10^6 glutamatergic neurons. Elevated level of glutamate in the synapses between neurons can destroy them, but astrocyte glial cells absorb excess glutamate. It is transported into these cells using the GLT1 transport protein, which is present in the astrocyte cell membrane. Being absorbed by astroglia cells, glutamate no longer causes damage to neurons.

The role of nutrition in hyperammonaemia

Food selectivity, the rejection of certain foods, which is often peculiar to people with ASD, can lead to a lack of such amino acids as ornithine, arginine, citrulline, which are involved in ammonia detoxification. Refusal of protein foods, in particular, of meat, fish, eggs, cottage cheese, etc., can be associated with excessive formation of ammonia during the hydrolysis of dietary protein, as a result of which ammonia is not sufficiently neutralized by the liver, or too much of it is formed. This once again underlines the importance of the principle of balanced nutrition (a little protein — bad, a lot — it can be even worse).

And yet – the autoregulation of metabolic processes consists in the rejection of protein foods, meat, cottage cheese, that is, in the metabolically grounded selectivity of appetite. It should be considerate towards this.

Ammonia (and its ion – ammonium) is the primary nitrogenous slag, which must be converted into less toxic urea in the liver and excreted with urine. With an excess of formation, or with its insufficient neutralization, ammonia easily penetrates the blood-brain barrier and has a neurotoxic effect. The pathogenetic effect of ammonia on the central nervous system is associated with a violation of the Krebs cycle and a decrease in ATP synthesis – adenosine triphosphoric acid [10]. Ammonium causes alkalization of blood (metabolic alkalosis), inhibits gaseous exchange by increasing the affinity of hemoglobin for oxygen, which causes oxygen deprivation in tissues. A vicious circle is formed – hypoxia leads to increased respiration, loss of carbon dioxide, alkalization of blood (respiratory alkalosis); a combination of metabolic and respiratory alkalosis exacerbates impaired gas exchange and damages the cellular Na^+/K^+ pump.

Glutamine is formed from ammonia with glutamic acid, has a high osmolarity, accumulates in the cell, and, in excess, causes cerebral edema, especially astrocytes. The concentration of ammonium in tissues and in the brain, in particular, is 10 times higher than in the blood, but it is the brain that is most sensitive to hyperammonaemia. In the cell, glutamine and asparagine are deaminated, respectively, by glutaminase and asparaginase to form ammonium ion [10]. When collapsing, glutamine in high concentrations leads to hyperammonaemia – this cycle can be repeated many times, supporting intoxication, in a crisis situation – cerebral edema, and in milder cases – behavioral disturbance, vomiting, headache.

There are too little works aimed at studying the level of ammonium in the blood of people with ASD. Some clinical cases are combined in reviews of studies of adult patients with psychiatric diseases [7; 9; 28].

Hyperammonaemia as a symptom may be due to various reasons: hypercatabolism of

the protein (due to trauma, excessive physical activity), protein overeating, starvation (and as a result – autophagy, rhabdomyolysis – processes in which the own tissues are used to maintain homeostasis), disruption of microbiota functioning both in terms of production and utilization of ammonia, lack of enzymes of the urea cycle.

Thus, the ammonia toxicity does not cause any doubts, the level of ammonium more than $60 \mu\text{mol/l}$ ($110 \mu\text{g/dl}$) is considered pathological; the normal level of ammonium ions does not exceed $35 \mu\text{mol/l}$ (or $60 \mu\text{g/dl}$), intermediate questionable results fall into the “gray zone” and require repeated research.

The determination of the level of ammonia is carried out at any time, not only on an empty stomach. Physiological amount of protein (1 g/kg) challenge is more informative.

Ammonia is also formed from other amino acids by deamination to form ammonium ion, for example, cysteine into pyruvate + ammonia, histidine is converted into urocaic acid and ammonia, glycine into glyoxalic acid and ammonia, glucosamine-6 phosphate into glucose-6-phosphate and ammonia, glutamine to glutamic acid and ammonia. It is important to know for the correct assessment of the spectra of the amino acids, the prescription of a low protein diet and amino acid mixtures and drugs.

The role of microflora in ammonia homeostasis

The growth of yeast and bacteria in the intestine is accompanied by the formation of ammonia, which is easily soluble and overcomes the hematoencephalic barrier [14; 17; 18]. A diet rich in animal protein can also increase the level of ammonia in the body. Magnesium, zinc and taurine are agonists that prevent the activation of NMDA receptors and, accordingly, reduce anxiety, including during hyperammonaemia [16; 25].

It is important to emphasize that the study of the intestinal microbiota by the bacteriological method makes it possible to identify only 10% of the intestinal microbiota, since

already dead microorganisms are taken for analysis. In addition, the microbial community of the small intestine is represented not only by the luminal, but also by the parietal flora, located under the protective layer of the epeithelial mucus.

Alternative methods for the study of microbiota include the sequencing of its representatives, but this is a costly and inaccessible study to date. Also used is registered more than 20 years ago, the **diagnostic method G.A. Osipov “Mass spectrometry of microbial markers” (MSMM)**. This method is based on the reconstruction of microbiota by microbial markers: components of microorganism membranes, serum lipopolysaccharides, punctates, drainage fluid, coprofiltrates, urine, saliva. The advantage of this method allows to evaluate the functional activity and the qualitative diversity of the representatives of the microbiota (including the intestine, and it is more powerful). This promising method is being actively developed.

Deviations in the intestinal microbiota in patients with ASD lead to an imbalance of representatives: decrease in the number of bifidobacteria and lactobacilli (parietal flora), increase in clostridia, fungi, some anaerobes (translucent

flora). Symbiont digestion, complementary to its own, is accompanied by bloating, pain, increased intestinal permeability. This important point in conjunction with sensitization makes the intestine a very weak barrier to the metabolites of both the flora itself and the products of protein hydrolysis with opioid action.

A personalized approach to the prescription of a gluten-free and casein-free diet should be based primarily on clinical efficacy, but laboratory diagnosis of gluten and casein sensitization can be an argument in favor of this restrictive diet. Prescription of the DPP-IV enzyme does not solve the problems of coeliac disease, but it has proven itself very well for the occasional use of gluten for allergies and is especially effective for non-coeliac gluten intolerance.

The study of amino acids and the determination of ammonium must be included in the diagnostic program of children with ASD. Moreover, in the arsenal of specialists there are medications for the correction of hyperammonaemia and various dietary supplements.

As a result of two years of work on the study of metabolic features, eating behavior, diet peculiarities and microbiota in children with ASD, the diagnostic program presented below is proposed.

Table

Diagnostic program for the study of potentially significant metabolic abnormalities in children with autism spectrum disorders

Research methods	Therapeutic approach	Advanced research and prescriptions
Exclusion of antiglyadin antibodies (to tissue transglutaminase, deamidated gliadin peptide) and genetic susceptibility to coeliac of HLA-DQ2/HLA-DQ8	Individual approach to a gluten-free and casein-free diet – Test diet for at least 3 months. Prescriptions: – alpha-galactosidase – DPP-IV – Synthesis of continuity of the intestinal barrier – Mucous reparants – Antisecretory drugs to reduce the aggressive properties of luminal fluids – Production of physiological rest (enzymes) – Correction of defecation (including in the absence of hygienic skills) – FODMAP ¹ diet with the administration of alpha-galactosidase (allowed from 5 years to off-table)	– Determination of exorphins of gluten and casein in urine – Magnetic resonance spectroscopy of the brain – LCHF ² diet in patients with epilepsy

¹ Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols.

² Low Carb High Fat

Research methods	Therapeutic approach	Advanced research and prescriptions
Evaluation of liver function tests	Optimization of detoxification and synthetic functions using ademetionine, tocopherol, acetylcysteine preparations.	Breathing test
Ammonium control on an empty stomach – after taking gluten – after protein load of 1 g/kg	– Correction of amino acids, including subsidies of arginine, ornithine, citrulline (coenzymes and substrates of the Krebs urea cycle). – Low protein diet. – Determination of orotic acid in the urine. – Consultation of a geneticist. – Exclusion of diseases of the urea cycle.	Ammonium monitoring (by individual devices) according to indications
Determination of amino acids in the blood (including glutamine)	– Supplement of deficient amino acids – With an excess of glutamine, the prescription of ammonium scavengers. – Prevention of hyperammonaemic crises	Special formulas for patients with UCD (diseases of the urea formation cycle)
MSMM study by G.A. Osipov	Specific and nonspecific decontamination, correction with metabiotics and symbiotics	– In the future, the study of microbiota drug resistance – Microbiota transplantation
Research of acylcarnitines, free carnitine	– Deviation correction – Prescription of carnitine nootropics, omega-3 fatty acids and similar substrates	
Lactate test	Exclusion of mitochondrial insufficiency	Primary, secondary
Creatinine test	+ creatine phosphokinase	In an optimal way - creatine test in the cerebrospinal fluid
Vitamin-mineral premix	At the request of the parents	

In conclusion, it is important to emphasize that there are no uniquely bad or good molecules in the metabolism, to ensure homeostasis (constancy of the internal environment of the body) there must be a mobile biochemical equilibrium. As a doctor with more than thirty years of experience, I can

recommend a reasonable and gradual nutritional intervention of new products, diets, and medicines.

And, of course, any medical recommendations should be understood and accepted by parents, especially in the case of restrictive and prohibitive measures. ■

References / Литература

1. *Volchanskaya A.A., Konareva V.R., Alenikova Yu.B.* Khimicheskii sostav razlichnykh gibridov kukuruzy [Chemical composition of different corn hybrids]. *Molodoi uchenyi* [Young scientist], 2016, no. 13, pp. 914–916. URL: <https://moluch.ru/archive/117/32343/> [accessed 27.03.2019].
Волчанская А.А., Конарева В.Р., Аленикова Ю.Б. Химический состав различных гибридов кукурузы // Молодой ученый, 2016. № 13. С. 914–916. URL <https://moluch.ru/archive/117/32343>
2. *Bandini L.G., Anderson S.E., Curtin C., Cermak S., Evans E.W. et al.* Food Selectivity in Children with Autism Spectrum Disorders and Typically Developing Children. *The journal of pediatrics*, 2010, no. 157(2), pp. 259–264. doi: 10.1016/j.jpeds.2010.02.013
3. *Bernardi S., Anagnostou E., Shen J., Kolevzon A., Buxbaum J.D., Hollander E., et al.* In vivo 1H-magnetic resonance spectroscopy study of the attentional networks in autism. *Brain Res*, 2011;1380:198–205.

4. Bonnot O., Klünemann H., Sedel F., Torjman S. et al. Diagnostic and treatment implications of psychosis secondary to treatable metabolic disorders in adults: a systemic review. *Orphaner journal of rare diseases*, 2014, Vol. 9, pp. 65–79.
5. Campistol J., Diez-Juan M., Callejón L., Fernandez-De Miguel A., et al. Inborn error metabolic screening in individuals with nonsyndromic autism spectrum disorders. *Dev Med Child Neurol*. 2016; 58(8). pp. 842–847. doi: 10.1111/dmcn.13114.
6. Courchesne E. Abnormal early brain development in autism. *Molecular psychiatry*, 2002, vol. 7, pp. 21–23. doi:10.1038/sj.mp.4001169.
7. Demily C., Sedel F. Psychiatric manifestations of treatable hereditary metabolic disorders in adults. *Annals of general psychiatry*, 2014. Vol. 13, № 1. pp. 27–36
8. DeVito T.J., Drost D.J., Neufeld R.W., Rajakumar N., Pavlosky W., Williamson P., et al. Evidence for cortical dysfunction in autism: a proton magnetic resonance spectroscopic imaging study. *Biol Psychiatry*, 2007;61: p. 465–473.
9. Durieux A.M.S., Horder J., Mendez M.A., Egerton A., Williams S.C.R., Wilson C.E., Spain D., Murphy C., Robertson D., Barker G.J., Murphy D.G., McAlonan G.M. Cortical and subcortical glutathione levels in adults with autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2016, Apr; 9(4):429–435. doi: 10.1002/aur.1522. Epub 2015 Aug 20.
10. Felipo V., Butterworth R.F. Neurobiology of ammonia. *Progr. Neurobiol*, 2002. Vol. 67. No 4. pp. 259–279.
11. Frye R.E., Casanova M.F., Fatemi S.H., Folsom T.D., et al. Neuropathological Mechanisms of Seizures in Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 2016, vol. 10, pp 1–9. doi:10.3389/fnins.2016.00192
12. Fukudome S., Yoshikawa M. Opioid peptides derived from wheat gluten: their isolation and characterization. *FEBS Letters*, 1993, vol. 316, pp. 17–19.
13. Hyman S., Stewart P.A., Foley J., Cain U., et al. The Gluten-Free/Casein-Free Diet: A Double-Blind Challenge Trial in Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2016, Vol. 46, Issue 1, pp. 205–220.
14. Krajmalnik-Brown R., Lozupone C., Kang D-W., Adams J.B. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 2015, vol. 26. doi:10.3402/mehd.v26.26914
15. Lange K.W., Hauser J., Reissmann A. Gluten-free and casein-free diets in the therapy of autism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015. Nov; 18(6):572–5.
16. Lee E.J., Choi S.Y., Kim E. NMDA receptor dysfunction in autism spectrum disorders. *Current Opinion in Pharmacology*, 2015, vol. 20, pp. 8–13. doi: 10.1016/j.coph.2014.10.00
17. Madore C., Leyrolle Q., Lacabanne C., Benmamar-Badel A., Joffre C., Nadjar A., Layé S. Neuroinflammation in Autism: Plausible Role of Maternal Inflammation, Dietary Omega 3, and Microbiota. *Neural Plast?* 2016; 3597209
18. Oriach C.S., Ruairi C. Robertson, Stanton C., John F. Cryan., Timothy G. Dinan Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut-brain axis *Clinical Nutrition Experimental*, 2016. No. 6. pp. 25–38.
19. Page L.A., Daly E., Schmitz N., Simmons A., Toal F., Deeley Q., et al. In vivo 1H-magnetic resonance spectroscopy study of amygdala-hippocampal and parietal regions in autism. *The American Journal of Psychiatry*, 2006, vol. 163, pp. 2189–2192.
20. Parr J.R. Autism. *Clinical Evidence* [Online] (2008). pii: 0322 [Web resource]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19450315> (retrieved 31.1.2019).
21. Pusponogoro H.D., Ismael S., Firmansyah A., Sastroasmoro S., Vandenplas Y. Gluten and casein supplementation does not increase symptoms in children with autism spectrum disorder. *Acta Paediatr*, 2015. Nov. 104(11):e500–5. doi: 10.1111/apa.13108.
22. Redcay E., Courchesne E. When is the brain enlarged in autism? A meta-analysis of all brain size reports. *Biol Psychiatry*, 2005. Jul. 1. 58(1):1–9. DOI: 10.1016/j.biopsych.2005.03.026
23. Rose C. Effect of ammonia on astrocytic glutamate uptake/release mechanisms. *J neurochem*, 2006. Vol. 97 (suppl. 1). pp. 11–15.
24. Schiff M., Benoist J-F et al. Should Metabolic Diseases Be Systematically Screened in Nonsyndromic Autism Spectrum Disorders? *Autism and Metabolic Diseases*, 2011. Vol. 6, No 7. pp. 219–32.

Патофизиологическое обоснование персонифицированной метаболической терапии РАС. Перспективные методы лечения

С.И. Полякова*,
ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова,
Москва, Россия
polyakova1963@list.ru

Нарушение обмена веществ — серьезная проблема: изменения на клеточном уровне, связанные с биохимическими процессами, приводят к неправильной работе клетки, а далее, соответственно, ткани, органа, всего организма. Коррекция этих нарушений — основа метаболической терапии. Практически для каждой схемы метаболической терапии расстройств аутистического спектра находится свой контраргумент, и единый подход к терапии невозможен, поскольку, кроме «аутистической триады», каждый человек имеет свои особенности. На современном этапе, кроме безглютенной и безказеиновой диеты, в терапии применяются витамины групп В и D, полиненасыщенные жирные кислоты, различные методы коррекции микробиоты, но серьезной доказательной базы эффективности терапии расстройств аутистического спектра не существует. В статье предложены варианты исследования метаболических изменений в организме, которые являются обоснованием для разработки схемы метаболической терапии в рамках персонализированного медицинского подхода к лечению расстройств аутистического спектра.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, аутизм, метаболическая терапия, персонализированная терапия.

Цель настоящей статьи — ознакомить со сложными биохимическими процессами, происходящими в мозге, их зависимостью от пищевого рациона, особенностей обмена веществ и состояния микрофлоры кишечника. Представляется, что детализированное описание в статье некоторых биохимических процессов может заинтересовать молодых исследователей и опытных специалистов, работающих с детьми, имеющими расстройства аутистического спектра.

Люди с РАС имеют разную степень недостаточности функционирования мозга. Это объясняется нарушением нейронных связей, дисбалансом тормозящих и активирующих биологически активных веществ, что приводит к снижению коммуникативных способностей, невозможности социализации и у части людей — к когнитивным нарушениям. Нейромедиаторы включены в большое количество разнообразных химических процессов на уровне нейронов и

Для цитаты:

Полякова С.И. Патофизиологическое обоснование персонифицированной метаболической терапии РАС. Перспективные методы лечения // Аутизм и нарушения развития. 2019. Т. 17. № 1 (62). С. 55–70. doi: 10.17759/autdd.2019170105

* Полякова Светлана Игоревна, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии им. академика В.А. Таболина Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, Россия. E-mail: polyakova1963@list.ru

синапсов. Изучены роли гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), глутамат/глутамин-эргического механизма, транспорта и синтеза креатина, холестерина, пиридоксина — кофакторов многих реакций синтеза нейротрансмиттеров (серотонина, норэпинефрина), биотина, карнитина. Аутизм как симптом описан при нарушении болезней цикла образования мочевины, отчасти объясняется рецепторной недостаточностью к окситоцину и прочими механизмами [4; 8; 11; 19; 20]. В небольшом количестве работ по результатам аутопсии мозга пациентов с аутизмом показано преобладание глиальных клеток (нейроглии) над нейронами, тогда как в норме глиальных клеток примерно 40% от всех клеток мозга. Размеры мозга детей до года, имеющих аутизм, превышают размеры мозга нейротипичных детей. Но с возрастом меняется состав мозга: происходит увеличение белого вещества, мозжечка, именно за счет глии [4–6; 8; 11; 14, 17; 19; 22; 24]. Глиоз — результат замещения нейронов глией, а причины разрушения нейронов при аутизме переменны. Существуют различные теории: аутоиммунного поражения, поствакцинальной реакции с иммунным механизмом повреждения, инфекционная, трофическая (в том числе гипоксическая), метаболическая. Важно определение причин глиоза и мест его расположения, что существенно влияет на клинические проявления, афазию, эмоциональную сферу, моторные симптомы людей с РАС. В 3/4 результатов магнитно-резонансной спектроскопии пациентов с аутистическими чертами отмечено снижение содержания в мозге глутаминовой кислоты и глутамата [8].

Индивидуальный подход к терапии каждого пациента — это прежде всего выявление персональных особенностей метаболизма. Известно, что пациенты с РАС отличаются необычным пищевым поведением, гиперчувствительностью к некоторым продуктам питания, которая может проявляться аэрофагией, болью в животе, расстройством стула (как поносами, так и запорами), вздутием живота и наконец приводит

к нежеланию пробовать новые продукты и формированию страха перед приемом пищи и [2]. Описаны симптомы метаболических нарушений, которые появляются после года, именно тогда, когда детям расширяют диету и пытаются ввести в рацион новые продукты. И в первую очередь это касается глютено-содержащих продуктов [14; 15].

Суть непереносимости глютена

В злаках, а особенно в пшенице, содержится высокомолекулярный белок глютен. Ниже перечислены современные представления о механизмах непереносимости глютена с описанием конкретных нозологических форм и проявлений:

— аллергические: аллергия на пшеницу (респираторная и пищевая аллергия, глютенозависимая анафилаксия, контактная крапивница);

— аутоиммунные (целиакия, глютеновая атаксия, герпетиформный дерматит);

— и неаутоиммунная неаллергическая непереносимость глютена (или нецелиакийная непереносимость глютена (англ. NCGS — non-coeliac gluten sensitivity)), см. рис. 1.

Целиакия — это заболевание, часто встречающееся не только у детей, у 1–3% западного населения, включая США, что соответствует 5 миллионам проживающих в Европе людей. Особенно часто целиакия встречается в Швеции.

Аллергия на пшеницу — один из видов аллергии, наиболее часто проявляющийся у детей в раннем младенческом возрасте. У подростков и взрослых она встречается гораздо реже. В большинстве случаев дети «перерастают» этот вид аллергии к 12 годам.

Не связанная с целиакией чувствительность к глютену — это заболевание, симптомы которого запускаются употреблением глютена при отсутствии у пациента целиакии или пищевой аллергии. Для чувствительности к глютену, не связанной с целиакией, не существует каких-либо биологических маркеров.

Наиболее важным шагом при диагностике данного заболевания является исключение целиакии и аллергии на пшеницу.

Глютен имеет две фракции — глютен и глиадин. Именно аминокислотный состав данных белков обуславливает свойства и особенности гидролизата пшеницы. Суть биохимических превращений глютена в процессе пищеварения заключается в гиперпродукции глутаминовой кислоты.

Источники и биологическое значение глутаминовой кислоты

Глутаминовая кислота входит в состав белков и играет важную роль в их обмене, являясь аминокислотой с нейромедиаторным действием [16]. Глутаминовая кислота относится к группе заменимых аминокислот и играет важную роль в организме. Ее содержание в организме составляет до 25% от всех аминокислот.

Глутамат (соль глутаминовой кислоты) обеспечивает в частности функционирование NMDA-рецепторов и активирует их, обеспечивая проведение нервного импульса, организуя такие когнитивные функции как обучение и память. По мнению некоторых авторов, дисфункция NMDA-рецепторов приводит к РАС [16].

Ключевая аминокислота при гидролизе как глютена, глиадина, так и глютелина — глутаминовая. Еще один важный момент: сама глутаминовая кислота и ее соли являются усилителями вкуса, создавая так называемый вкус «умами», который ребенок ощущает уже с грудным молоком, хотя по существу это вкус мяса, выделенный при длительной его варке. Для всех веществ токсичность — понятие дозозависимое, для взрослых считается безопасным употреблять до 9 г глутамата в сутки.

Перечень продуктов, исключаемых из рациона пациентов с РАС, расширен до большой вредоносной четверки: глютен, казеин, соя и кукуруза. Эти продукты, богатые глутаминовой кислотой, способствуют атрофии ворсинок в тонком кишечнике и обладают

нейротоксичностью, что является горячей темой обсуждения нейродиеетологов [21].

Механизмом молекулярной мимикрии объясняется клиническая непереносимость не только этих четырех (глютен (в том числе просо и овес), казеин, соя и кукуруза), а уже шести продуктов: к списку добавляются рис, дрожжи.

Вопреки существовавшему мнению белок кукурузного зерна состоит из зеина (неполноценный белок, который не содержит лизин) и глютелина (полноценный), по 40% каждого. Глютелин кукурузы содержит большое (10–40%) количество глутамина в своем составе, мало того, селекционеры выращивают обогащенные белком сорта для использования в пищевой промышленности и для создания животных кормов [1].

Соевый протеин содержит 21,6% глутамина — это больше, чем сывороточный (16,9%), казеиновый (19,5%), яичный (13,5%), говяжий (14,5%) [20]. Несмотря на агрессивную рекламу сои и продуктов из нее, соя — тяжелый продукт, имеет большое количество «прошивок» в молекуле, не набухает и, соответственно, имеет низкую биологическую ценность, относясь к неполноценным белкам, т.к. не содержит метионин. О полезных и не очень свойствах сои есть много информации, в том числе о продуктах из генномодифицированной сои.

Отсутствие глютена в продукте — еще не гарантия отсутствия непереносимости, потому что дело не в аллергии и не в целиакии, а в продукте гидролиза — глутаминовой кислоте и в пептидах глиадина с опиатной активностью [12].

Глутаминовая кислота содержится во всех продуктах питания и растительного, и животного происхождения. В крупах — от 1500 мг/100 г белка продукта (кукурузе), до 3400 мг/100 г белка в полтавской крупе, в целых куриных яйцах — 1773, в молоке от 509 (белка коровьего молока) до 1164 мг/100 г белка овечьего молока, в сыре — от 4000 до 6300, рыбе 1700–3000 мг/100 г белка. Чем выше жирность продукта, тем меньше доля белка и, соответственно, аминокислот. Поэтому нередко переход на кетогенную, более



Рис. 1. Схема непереносимости глютена, диагностические маркеры. Выделен фрагмент нецелиакийной непереносимости, свойственной детям с РАС

жирную, диету бывает полезен не только за счет смещения метаболизма с углеводов на жиры. Так вот, в сое более 6000 мг/100 г глутаминовой кислоты, затем меньше — в зеленом горошке и сыре пармезан, и только потом следуют сорта мяса (говядина — 2800) и т.п.

Важная роль в гидролизе белков отводится ферменту дипептидил-пептидазе-4 (DPP-IV), неспецифическому ферменту многих белковых субстратов, и в частности, глютена и казеина. Активность DPP-IV уменьшает содержание полипептидов с опиоидным действием на ЦНС — глютена и казеина. При необходимости, в интернете можно узнать торговые названия ферментов, содержащих DPP-IV, чтобы использовать их для улучшения переваривания глютена.

Глутамин — составная часть важнейшего антиоксидантного комплекса — глутатиона, защищающего клетки от окислительного повреждения. Кроме того, глутамин — это

источник энергии для быстродействующих клеток, в том числе и для клеток иммунной системы. Около 1/3 энергии данных клеток получается за счет окисления глутамина.

Аммиак как нейротоксин

Высокий уровень аммиака и глутамата в мозге нейротоксичен [7; 10]. Их влияние на специфические рецепторы мозга (NMDA-рецепторы) вызывает тревожные состояния. «Круговорот» глутамата — сложный механизм, обеспечивающий работу NMDA-рецепторов [7; 10; 23]. Дезаминирование глутамина до глутамата приводит к образованию аммиака, который, в свою очередь, связывается со свободным протоном и экскретируется в просвет почечного канальца, приводя к снижению ацидоза. Превращение глутамата в α -кетоглутарат так же происхо-

дит с образованием аммиака. Но и обратный процесс связывания аммиака приводит к повышению глутамина («бомбы замедленного действия») с потенциальным риском гипераммониемического криза, который в тяжелом случае приводит к коме, а в более легком — к головной боли, рвоте, нарушению сознания и поведения, других признаков интоксикации. В ЦНС находится порядка 10^6 глутаматергических нейронов. Повышенное содержание глутамата в синапсах между нейронами может уничтожить нейроны, но глиальные клетки астроциты поглощают избыток глутамата. Он транспортируется в эти клетки с помощью транспортного белка GLT1, который присутствует в клеточной мембране астроцитов. Будучи поглощенным клетками астроглии, глутамат больше не приводит к повреждению нейронов.

Роль питания в гипераммониемии

Пищевая избирательность, отказ от некоторых продуктов, часто характерные для людей с РАС, могут приводить к нехватке таких аминокислот как орнитин, аргинин, цитруллин, участвующих в детоксикации аммиака. Отказ от белковой пищи, в частности, от мяса, рыбы, яиц, творога и др., может быть связан с избыточным образованием аммиака при гидролизе пищевого белка, в результате чего в печени недостаточно нейтрализуется аммиак, или его образуется слишком много. Это еще раз подчеркивает важность принципа сбалансированности питания (мало белка — плохо, много — может быть еще хуже). И еще — ауторегуляция обменных процессов заключается в отказе от белковой пищи, мяса, творога, то есть в метаболически обоснованной избирательности аппетита. К этому надо относиться внимательно.

Аммиак (и его ион аммоний) — первичный азотистый шлак, который должен превращаться в печени в менее токсичную мочевину и выводиться с мочой. При избытке образования или при недостаточной его нейтрализации аммиак беспрепятственно проникает через гематоэнцефалический

барьер и оказывает нейротоксическое действие. Патогенетическое влияние аммиака на ЦНС связано с нарушением цикла Кребса и снижением синтеза АТФ — аденозинтрифосфорной кислоты [10]. Аммоний вызывает защелачивание крови (метаболический алкалоз), тормозит газообмен за счет увеличения сродства гемоглобина к кислороду, что вызывает кислородное голодание в тканях. Формируется порочный круг — гипоксия приводит к учащению дыхания, потере углекислого газа, защелачиванию крови (дыхательному алкалозу); сочетание метаболического и дыхательного алкалоза усугубляет нарушение газобмена и повреждает клеточный Na^+/K^+ насос.

Глутамин образуется из аммиака с глутаминовой кислотой, имеет высокую осмолярность, накапливается в клетке, и, при избытке, вызывает отек мозга, особенно астроцитов. Концентрация аммония в тканях и в мозге, в частности, в 10 раз выше, чем в крови, но именно мозг наиболее чувствителен в гипераммониемии. В клетке глутамин и аспарагин дезаминируются, соответственно, глутаминазой и аспарагиназой с образованием иона аммония [10]. Разрушаясь, глутамин в высоких концентрациях приводит к гипераммониемии, — этот цикл может многократно повторяться, поддерживая интоксикацию, в кризовой ситуации — отек мозга, а в более легких случаях — нарушение поведения, рвоту, головную боль.

Работ, направленных на исследование уровня аммония в крови у людей с РАС, явно недостаточно, некоторые клинические случаи объединены в обзорах исследований взрослых пациентов с психиатрическими заболеваниями [7; 9; 28].

Гипераммониемия как симптом может быть обусловлена различными причинами: гиперкатаболизмом белка (из-за травмы, чрезмерной физической активности), белковым переизбытком, голоданием (и как следствие — аутофагией, рабдомиолизом — процессами, при которых собственные ткани используются для поддержания гомеостаза), нарушением функционирования

микробиоты как в плане продукции, так и утилизации аммиака, недостаточностью ферментов цикла образования мочевины.

Таким образом, токсичность аммиака не вызывает сомнений, патологическим считается уровень аммония более 60 мкМоль/л (110 мкг/дл); нормальный уровень ионов аммония не превышает 35 мкМоль/л (или 60 мкг/дл), промежуточные сомнительные результаты попадают в «серую зону» и требуют повторного исследования.

Определение уровня аммиака проводится в любое время, не только натощак. Провокация физиологическим количеством белка (1 г/кг) более информативна.

Аммиак образуется и из других аминокислот путем дезаминирования с образованием иона аммония, например, цистеин — в пируват + аммиак, гистидин превращается в урокаиновую кислоту и аммиак, глицин — в гликоксалевую кислоту и аммиак, глюкозамин-6 фосфат в глюкозу-6-фосфат и аммиак, глутамин в глутаминовую кислоту и аммиак. Это важно знать для правильной оценки спектра аминокислот, назначения низкобелковой диеты и аминокислотных смесей и препаратов.

Роль микрофлоры в гомеостазе аммиака

Рост дрожжей и бактерий в кишечнике сопровождается образованием аммиака, который легко растворим и преодолевает гематоэнцефалический барьер [14; 17; 18]. Диета с высоким содержанием животного белка может также увеличить уровень аммиака в организме. Магний, цинк и таурин — агонисты, которые предотвращают активацию NMDA-рецепторов, а соответственно снижают тревожность, в том числе при гипераммониемии [16; 25].

Важно подчеркнуть, что исследование микробиоты кишечника бактериологическим методом позволяет выявить только 10% кишечной микробиоты, поскольку на анализ берутся уже отработавшие (мертвые) микроорганизмы. Кроме того, микробное сообщество тонкой кишки представлено

не только просветной, но и пристеночной флорой, расположенной под защитным слоем надэпителиальной слизи.

Альтернативные методы изучения микробиоты включают секвенирование ее представителей (но это дорогостоящее и малодоступное на сегодняшний день исследование) и зарегистрированный более 20 лет назад **диагностический метод Г.А. Осипова «Масс-спектрометрия микробных маркеров» (МСММ)**, основанный на реконструкции микробиоты по микробным маркерам: компонентам мембран микроорганизмов, липополисахаридам в сыворотке крови, пунктатах, дренажной жидкости, копрофильтратах, моче, слюне. Преимущество этого метода позволяет оценить функциональную активность и качественное разнообразие представителей микробиоты (в том числе кишечника, а она более мощная). Этот многообещающий метод активно развивается.

Отклонения в микробиоте кишечника у пациентов с РАС приводят к дисбалансу представителей: снижению числа бифидо-и лактобактерий (пристеночной флоры), увеличению клостридий, грибов, некоторых анаэробов (просветной флоры). Симбионтное пищеварение, дополняющее собственное, сопровождается вздутием, болями, повышением проницаемости кишки. Этот важный момент в совокупности с сенсibilизацией делает кишку весьма слабым барьером на пути метаболитов как самой флоры, так и продуктов гидролиза белков с опиоидным действием.

Персонализированный подход к назначению безглютеновой и безказеиновой диеты должен базироваться прежде всего на клинической эффективности, но и лабораторная диагностика сенсibilизации к глютену и казеину может быть аргументом в пользу этой ограничительной диеты. Назначение фермента DPP-IV не решит проблемы целиакии, но отлично зарекомендовало себя при случайном употреблении глютена при аллергии и особенно эффективно при нецелиакийной непереносимости глютена.

Исследование аминокислот и определение аммония необходимо включить в диа-

гностическую программу детей с РАС. Тем более что в арсенале специалистов есть медикаментозные средства коррекции гипераммониемии и различные БАДы.

Вследствие двухлетней работы по исследованию особенностей обмена веществ, пищевого поведения, своеобразия рациона и микробиоты у детей с РАС предлагается представленная ниже диагностическая программа.

В заключение важно подчеркнуть, что в обмене веществ нет каких-то однознач-

но плохих или хороших молекул, для обеспечения гомеостаза (постоянства внутренней среды организма) должно быть подвижное биохимическое равновесие. Как врач с более чем тридцатилетним стажем могу рекомендовать разумное и постепенное введение новых продуктов, диет и лекарств.

И, конечно, любые врачебные рекомендации должны быть понятны и приняты родителями, особенно в случае ограничивающих и тем более запрещающих мер. ■

Таблица

Диагностическая программа исследования потенциально значимых метаболических отклонений у детей с расстройствами аутистического спектра

Методы исследования	Терапевтические подходы	Перспективные исследования и назначения
Исключение антиглиадиновых антител (к тканевой трансглутаминазе, деамидированному пептиду глиадина) и генетической предрасположенности к целиакии HLA-DQ2 и DQ8	Индивидуальный подход к безглютеновой и безказеиновой диете — Пробная диета минимум 3 мес. Назначения: — альфа-галактозидазы — DPP-IV — Восстановление целостности кишечного барьера — Репаранты слизистой — Антисекреторные препараты для уменьшения агрессивных свойств пищеварительных соков — Создание физиологического покоя (ферменты) — Коррекция дефекаций (в том числе при отсутствии гигиенических навыков) — FODMAP ¹ диета с назначением альфа-галактозидазы (разрешена с 5 лет, до off-table)	— Определение экзорфинов глютена и казеина в моче — Магнитно-резонансная спектроскопия мозга — LCHF ² диета у пациентов с эпилепсией
Оценка функциональных проб печени	Оптимизация детоксикационной и синтетической функции с применением препаратов адиметионина, токоферола, ацетилцистеина	Дыхательный тест
Контроль аммония натощак — после приема глютена — после белковой нагрузки 1 г/кг	— Коррекция аминокислот, в том числе доплатции аргинина, орнитина, цитруллина (коэнзимы и субстраты орнитинового цикла). — Низкобелковая диета. — Определение оротовой кислоты в моче. — Консультация генетика. — Исключение болезней цикла образования мочевины	Мониторирование аммония (индивидуальными приборами) по показаниям

¹ Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols. (ферментируемые олигосахариды, дисахариды, моносахариды и полиолы).

² Low Carb High Fat («мало углеводов, много жиров»).

Методы исследования	Терапевтические подходы	Перспективные исследования и назначения
Определение аминокислот в крови (в т. ч. глутамина)	<ul style="list-style-type: none"> – Дотация дефицитных аминокислот – При избытке глутамина назначение скавенджеров аммония. – Профилактика гипераммониемических кризов 	Специальные формулы для больных UCD (болезней цикла образования мочевины)
Исследование МСММ по Г.А. Осипову	Специфическая и неспецифическая декантамация, коррекция метабиотиками и симбиотиками	<ul style="list-style-type: none"> – В перспективе исследование лекарственной резистентности микробиоты – Трансплантация микробиоты
Исследование ацилкарнитиннов, свободного карнитина	<ul style="list-style-type: none"> – Коррекция отклонений – Назначение карнитина и ноотропов, омега-3 ЖК и подобных субстратов 	
Исследование лактата	Исключение митохондриальной недостаточности	Первичной, вторичной
Исследование креатинина	+ КФК	Оптимально — исследование креатина в спинномозговой жидкости
Микроэлементный состав, витаминный профиль	По желанию родителей	