

**ЛАБОРАТОРНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ
КАЗЕИНА У ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ**

© И.А. Бавыкина

Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж,
Российская Федерация

Обоснование. Этиология и патогенез расстройств аутистического спектра (РАС) остаются до конца не изученными. В связи с множеством теорий развития заболевания появляется большое количество альтернативных методов лечения, среди которых использование безказеиновой диеты.

Цель. Определить частоту встречаемости лабораторных и клинических маркеров непереносимости казеина у детей с РАС.

Материалы и методы. 69 детям с расстройствами аутистического спектра в возрасте от 3 до 15 лет, проживающим на территории Воронежской области, проведена диагностика уровня антител к казеину (IgG) и β -казоморфина-7 в крови. Родители детей проходили анкетирование по вопросам приверженности к использованию безказеиновой диеты и результативности её использования.

Результаты. Лабораторная диагностика показала увеличение уровня антител к казеину (IgG) у 78,2% обследуемых, 4,4% детей, по данным анкетирования родителей, длительно с клинической эффективностью соблюдают безказеиновую диету. Таким образом, в общей сложности 82,6% детей с расстройствами аутистического спектра имеют непереносимость казеина. Концентрация β -казоморфина-7 в крови детей с РАС находятся в интервале 0,76-3,38 пг/мл, при среднем значении $2,23 \pm 0,53$.

Заключение. Необходимо проведение крупномасштабных исследований для объективной оценки эффективности диетотерапии и показаний к ее назначению. Дети с расстройствами аутистического спектра перед началом использования диеты должны быть обследованы на предмет наличия пищевой непереносимости и выбора оптимальной стратегии комплексной терапии.

Ключевые слова: *расстройства аутистического спектра; диетотерапия; казоморфин; антитела.*

**LABORATORY AND CLINICAL MARKERS OF INTOLERANCE TO CASEIN
IN CHILDREN WITH AUTISM**

I.A. Bavykina

Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russian Federation

Background. The etiology and pathogenesis of autism spectrum disorders (ASD) are still not fully understood. Due to many theories of the disease development, a large number of alternative treatment methods appear, including use of casein-free diet.

Aim. To determine the frequency of occurrence of laboratory and clinical markers of casein intolerance in children with ASD.

Materials and Methods. 69 children with autism spectrum disorders aged from 3 to 15 years living in the Voronezh region were diagnosed for the level of antibodies to casein (IgG) and β -casomorphin-7 in blood. Parents of children were surveyed on adherence to use of casein-free diet and the effectiveness of its use.

Results. Laboratory diagnostics showed increased level of antibodies to casein (IgG) in 78.2% of the examined children, 4.4% of children, according to a survey of parents, follow a casein-free diet for a long time with clinical effectiveness. Thus, a total of 82.6% of children with autism spectrum disorders have intolerance to casein. The concentration of β -casomorphin-7 in the blood of children with ASD is in the range of 0.76-3.38 pg/ml, with the average value 2.23 ± 0.53 .

Conclusion. It is necessary to conduct large-scale studies to objectively assess the effectiveness of diet therapy and indications for its use. Children with autism spectrum disorders should be examined for food intolerance and the optimal strategy of complex therapy before starting to use the diet.

Keywords: *autism spectrum disorders; diet therapy; casomorphin; antibodies.*

Расстройства аутистического спектра (РАС) широко распространенная патология во всем мире. Это многофакторная патология, являющаяся результатом генетических, а также негенетических факторов риска. Накопленные данные свидетельствуют о вовлечении генетических факторов в этиологию РАС, поскольку родные братья и сестры, рожденные в семьях с РАС, подвержены большему риску развития данной патологии на 35-40% [1]. К факторам окружающей среды, оказывающим влияние на развитие аутизма, относят пренатальные и перинатальные осложнения [2,3], осложнения родов и в периоде новорожденности [4,5], вирусные инфекции, аутоиммунные заболевания и воздействие тератогенов [6,7]. Однако глубокого понимания взаимосвязи между генетическими и экологическими факторами в патогенезе РАС пока нет.

Учёными активно обсуждается теория, согласно которой экзогенные опиоидные пептиды, высвобождаемые в процессе переваривания пищевых белков, таких как казеин и глютен, предположительно способствуют развитию аутизма [7]. Существует мнение, что пациенты многие с РАС имеют повышенную проницаемость кишечника и высокую чувствительность к казеину и глютену. Данные нарушения могут приводить к обострению поведенческих реакций

(например, истерика, крик, агрессия) и снижению концентрации, внимания [8].

Одним из наиболее биологически активных пептидов молочного происхождения являются β -казоморфины, в частности β -казоморфин-7 (БКМ7) [9]. БКМ7 обладает способностью проникать через кишечный барьер и может индуцировать биологические эффекты через μ -опиоидные рецепторы в иммунной и нервной системах [10]. Кроме того, установлено, что белок коровьего молока оказывает воспалительное действие на желудочно-кишечный тракт и может способствовать развитию пищевой аллергии [10,11]. Исследования *in vitro* показали, что БКМ7 может изменять пролиферацию лимфоцитов и высвобождение маркеров воспаления [12]. Повышенные уровни БКМ7 наблюдались в сыворотке крови и моче больных АСДС в нескольких независимых исследованиях [13].

На основании вышесказанного, в настоящее время широко применяется в комплексном подходе терапии РАС безглютеновая (БГД) и казеиновая (БКД) диеты, эффективность которых подтверждается рядом исследований [14-15], а также информацией, полученной от родителей о значительном улучшении состояния здоровья и даже выздоровлении детей с симптомами АСД [16,17]. Однако использование диетотерапии у детей с РАС не регламен-

тировано терапевтическими протоколами и существуют исследования, подвергающие сомнению результативность использования ограничений в питании [18,19].

Важно сказать, что почти все приведенные научные работы, доказывают наличие гастроэнтерологической симптоматики у детей с аутизмом [13,16,18].

Цель – определить частоту встречаемости лабораторных и клинических маркеров непереносимости казеина у детей с РАС.

Материал и методы

В исследование включены 69 детей в возрасте от 3 лет до 15 лет (средний возраст – 6,4 года, 25 квартиль – 4 года, медиана – 6 лет, 75 квартиль – 8 лет) с диагнозом расстройство аутистического спектра. Из них 56 мальчиков и 13 девочек. На момент проведения лабораторной диагностики 3 человека использовали БКД более 6 месяцев. Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая из локтевой вены утром натощак. Определение специфических IgG-антител к казеину и уровня БКМ7 проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием наборов IgG - ELISA - Enzyme Kit Anti-IgG-AP Microplate (поставщик ЗАО «Био-ХимМак Диагностика») и ИФА Human Casomorphin ELISA Kit (поставщик ООО «Лабораторная диагностика»).

Исследования проведены на базе НИИ экспериментальной биологии и медицины (НИИ ЭБМ) ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н. Н. Бурденко Минздрава России.

Статистический анализ выполнен с помощью статистических программ Statistica 6.0. С использованием методов описательной статистики.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Родителями давалось письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты и обсуждение

При проведении диагностики концентрации антител к казеину (IgG) установлено, что подавляющее большинство исследуемых (78,2%, 54 чел.) имеют повышенный уровень данного показателя. При

референсном значении до 1 Ед/мл, минимальное содержание IgG - антител к казеину составило 0,26 Ед/мл, при максимальном – 45 Ед/мл, среднее значение составило $8,655 \pm 5,61$ Ед/мл. Распределение результатов приближается к нормальному, наиболее распространены показатели из интервала 0-5 Ед/мл.

Из числа обследуемых, у которых не было диагностировано повышение IgG-антител к казеину (15 чел.), 3 пациента соблюдали БКД сроком более 6 месяцев. При этом через 1-2 месяца от введения диетотерапии, родителями отмечается положительная динамика как со стороны гастроэнтерологической, так и психоневрологической симптоматики. В частности, по мнению родителей, дети стали более усидчивыми, улучшилась концентрация внимания, что отразилось на обучаемости, у детей стабилизировалась частота и консистенция стула. Итог анализа на IgG-антител к казеину у этих 3 детей можно признать ложноотрицательным, тем не менее, благодаря результатам теста можно судить о строгой приверженности пациентов к соблюдению БКД. Принимая во внимание количество детей (4,4%, 3 из 69), результативно придерживающихся БКД, можно говорить о фактическом повышении концентрации антител к казеину у 82,6% (57 чел.) в исследуемой группе. Полученные результаты согласуются с данными Cade R. и др., которые определили наличие непереносимости казеина у 90% пациентов с РАС [20].

Стоит отметить, что истинная распространённость непереносимости казеина скорее всего больше, т.к. большая часть обследованных пациентов (95,6%) не пробовали соблюдать БКД.

При проведении лабораторной диагностики с целью определения уровня БКМ7 в крови детей с РАС установлено, что значения расположились в интервале 0,76-3,38 пг/мл, при среднем значении $2,23 \pm 0,53$. Распределение значений также приближается к нормальному. Полученные данные существенно ниже, чем показатели, приведенные в исследовании Beata

Jarmołowska с соавторами, где концентрация БКМ7 в сыворотке крови пациентов с РАС составила $42,96 \pm 2,52$ нг/мл, а в контрольной группе – $26,42 \pm 1,63$ нг/мл [20]. Данные отличия можно связать с рядом факторов, в первую очередь, это различные производители и методики проведения диагностики, т.к. определение БКМ7 в настоящее время используется только в научных целях в связи с отсутствием четких диагностических инструкций и дальнейшей интерпретации результатов. Возможно, оказал влияние фактор низкого потребления молочных продуктов детьми непосредственно перед проведением исследования.

В любом случае для включения диетотерапии в протоколы лечения РАС необходимо проведение крупномасштабных, рандомизированных, контролируемых исследований с целью уточнения степени эффективности диет и механизмов их действия на организм.

Выводы

1. Повышение концентрации антител к казеину (IgG) имеют 78,2% детей с расстройствами аутистического спектра, 4,4% пациентов имеют клинические признаки непереносимости казеина, таким

образом, 82,6% обследуемых имеют чувствительность к казеину.

2. Уровень β -казоморфина-7 в крови детей с расстройствами аутистического спектра находятся в интервале 0,76-3,38 пг/мл, при среднем значении $2,23 \pm 0,53$. Необходимо дальнейшее изучение показателя, в том числе и в сравнении с группой контроля.

Перед введением диетотерапии детям с расстройствами аутистического спектра необходимо проводить комплексное диагностическое обследование для установления наличия и характера непереносимости и последующего выбора приемлемой стратегии терапии.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи.

Этика. В исследовании использованы данные людей в соответствии с подписанным информированным согласием.

Финансирование. Автор статьи является стипендиатом Президента Российской Федерации на 2019-2021 год для молодых учёных и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

Литература

1. Stubbs G., Henley K., Green J. Autism: Will vitamin D supplementation during pregnancy and early childhood reduce the recurrence rate of autism in newborn siblings? // *Medical Hypotheses*. 2016. Vol. 88. P. 74-78. doi:10.1016/j.mehy.2016.01.015
2. Glasson E.J., Bower C., Petterson B., et al. Perinatal factors and the development of autism: a population study // *Archives of General Psychiatry*. 2004. Vol. 61, №6. P. 618-627. doi:10.1001/archpsyc.61.6.618
3. Maramba L.A., He W., Ming X. Pre- and perinatal risk factors for autism spectrum disorder in a New Jersey cohort // *Journal of Child Neurology*. 2014. Vol. 29, №12. P. 1645-1651. doi:10.1177/0883073813512899
4. Gardener H., Spiegelman D., Buka S.L. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis // *Pediatrics*. 2011. Vol. 128, №2. P. 344-355. doi:10.1542/peds.2010-1036
5. Guinchat V., Thorsen P., Laurent C., et al. Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2012. Vol. 91, №3. P. 287-300. doi:10.1111/j.1600-0412.2011.01325.x
6. Kolevzon A., Gross R., Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings // *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 2007. Vol. 161, №3. P. 326-333. doi:10.1001/archpedi.161.4.326
7. Саванович И.И., Третьяк И.Г. Нарушение толерантности к глютену и казеину у детей с расстройствами аутистического спектра (РАС): обзор литературы // *Психиатрия, психотерапия и клиническая психология*. 2015. №1 (19). С. 106-113.
8. Elder J.H., Kreider C.M., Schaefer N.M., et al. A review of gluten-and casein-free diets for treatment of autism: 2005-2015 // *Nutrition and Dietary Supplements*. 2015. Vol. 7. P. 87-101. doi:10.2147/NDS.S74718
9. Leboyer M., Bouvard M.P., Launay J.M., et al. Opiate hypothesis in infantile autism? Therapeutic trials with naltrexone // *L'Encephale*. 1993. Vol. 19, №2. P. 95-102.
10. Fiedorowicz E., Kaczmarski M., Cieślińska A., et al. β -casomorphin-7 alters μ -opioid receptor and dipeptidyl peptidase IV genes expression in children with atopic dermatitis // *Peptides*. 2014. Vol. 62. P. 144-149. doi:10.1016/j.peptides.2014.09.020

11. Боткина А.С., Дубровская М.И., Железоголо Е.А., и др. Тактика ведения детей раннего возраста с непереносимостью белков коровьего молока // Вопросы практической педиатрии. 2016. Т. 11, №2. С. 58-64. doi:10.20953/1817-7646-2016-2-58-64
12. Pal S., Woodford K., Kukuljan S., et al. Milk intolerance, Beta-Casein and Lactose // *Nutrients*. 2015. Vol. 7, №9. P. 7285-7297. doi:10.3390/nu7095339
13. Jarmołowska B., Bukalo M., Fiedorowicz E., et al. Role of Milk-Derived Opioid Peptides and Proline Dipeptidyl Peptidase-4 in Autism Spectrum Disorders // *Nutrients*. 2019. Vol. 11, №1. P. 87. doi:10.3390/nu11010087
14. Lange K.W., Hauser J., Reissmann A. Gluten-free and casein-free diets in the therapy of autism // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2015. Vol. 18, №6. P. 572-575. doi:10.1097/MCO.0000000000000228
15. Звягин А.А., Бавыкина И.А. Использование диетологических подходов в лечении расстройств аутистического спектра у детей // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2019. Т. 98, №6. С. 171-176. doi:10.24110/0031-403X-2019-98-6-171-176
16. Звягин А.А., Бавыкина И.А., Бавыкин Д.В. Гастроэнтерологическая симптоматика у детей с расстройствами аутистического спектра // *Вопросы детской диетологии*. 2018. Т. 16, №2. С. 52-55. doi:10.20953/1727-5784-2018-2-52-55
17. Herbert M., Weintraub K. *The Autism Revolution: Whole-Body Strategies for Making Life All It Can Be*. 1st ed. Ballantine Books; New York, USA; 2012. P. 1095-1102.
18. Navarro F., Pearson D.A., Fatheree N., et al. Are 'leaky gut' and behavior associated with gluten and dairy containing diet in children with autism spectrum disorders? // *Nutritional Neuroscience*. 2015. Vol. 18, №4. P. 177-185. doi:10.1179/1476830514Y.0000000110
19. Sausmikat J., Smollich M. Nutritional Therapy for Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorders: What is the Evidence? // *Klinische Padiatrie*. 2016. Vol. 228, №2. P. 62-68. doi:10.1055/s-0041-110207
20. Cade R., Privette M., Fregly M., et al. Autism and Schizophrenia: Intestinal Disorders // *Nutritional Neuroscience*. 2000. Vol. 3, №1. P. 57-72. doi:10.1080/1028415X.2000.11747303
21. Botkina AS, Dubrovskaya MI, Zhelezoglo EA, et al. Tactics of treating infants with cow's milk protein intolerance. *Voprosy Prakticheskoi Peditrii*. 2016;11(2):58-64. (In Russ). doi:10.20953/1817-7646-2016-2-58-64
22. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*. 2011;128(2):344-55. doi:10.1542/peds.2010-1036
23. Guinchat V, Thorsen P, Laurent C, et al. Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2012;91(3):287-300. doi:10.1111/j.1600-0412.2011.01325.x
24. Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 2007;161(3):326-33. doi:10.1001/archpedi.161.4.326
25. Savanovich II, Tretyak IG. Abnormality of tolerance to gluten and casein in children, suffering from autism spectrum disorders (ASD): The literature review. *Psychiatry. Psychotherapy and Clinical Psychology*. 2015;(1):106-13. (In Russ).
26. Elder JH, Kreider CM, Schaefer NM, et al. A review of gluten-and casein-free diets for treatment of autism: 2005-2015. *Nutrition and Dietary Supplements*. 2015;7:87-101. doi:10.2147/NDS.S74718
27. Leboyer M, Bouvard MP, Launay JM, et al. Opiate hypothesis in infantile autism? Therapeutic trials with naltrexone. *L'Encephale*. 1993;19(2):95-102.
28. Fiedorowicz E, Kaczmarek M, Cieślińska A, et al. β -casomorphin-7 alters μ -opioid receptor and dipeptidyl peptidase IV genes expression in children with atopic dermatitis. *Peptides*. 2014;62:144-9. doi:10.1016/j.peptides.2014.09.020
29. Pal S, Woodford K, Kukuljan S, et al. Milk intolerance, Beta-Casein and Lactose. *Nutrients*. 2015; 7(9):7285-97. doi:10.3390/nu7095339
30. Jarmołowska B, Bukalo M, Fiedorowicz E, et al. Role of Milk-Derived Opioid Peptides and Proline Dipeptidyl Peptidase-4 in Autism Spectrum Disorders. *Nutrients*. 2019;11(1):87. doi:10.3390/nu11010087
31. Lange KW, Hauser J, Reissmann A. Gluten-free and casein-free diets in the therapy of autism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2015;18(6):572-5. doi:10.1097/MCO.0000000000000228
32. Zvyagin AA, Bavykina IA. Nutritional approaches in treatment of autism spectrum disorders in children. *Pediatrics*. 2019;98(6):171-6. (In Russ). doi:10.24110/0031-403X-2019-98-6-171-176
33. Zvyagin AA, Bavykina IA, Bavykin DV. Gastroenterological symptoms in children with autism spectrum disorders. *Voprosy Detskoi Dietologii*. 2018; 16(2):52-5. (In Russ). doi:10.20953/1727-5784-2018-2-52-55
34. Herbert M, Weintraub K. *The Autism Revolution*: Jersey cohort. *Journal of Child Neurology*. 2014; 29(12):1645-51. doi:10.1177/0883073813512899

References

1. Stubbs G, Henley K, Green J. Autism: Will vitamin D supplementation during pregnancy and early childhood reduce the recurrence rate of autism in newborn siblings? *Medical Hypotheses*. 2016;88: 74-8. doi:10.1016/j.mehy.2016.01.015
2. Glasson EJ, Bower C, Petterson B, et al. Perinatal factors and the development of autism: a population study. *Archives of General Psychiatry*. 2004;61(6): 618-27. doi:10.1001/archpsyc.61.6.618
3. Maramara LA, He W, Ming X. Pre- and perinatal risk factors for autism spectrum disorder in a New

- Whole-Body Strategies for Making Life All It Can Be*. 1st ed. Ballantine Books; New York, USA; 2012. P. 1095-1102.
18. Navarro F, Pearson DA, Fatheree N, et al. Are 'leaky gut' and behavior associated with gluten and dairy containing diet in children with autism spectrum disorders? *Nutritional Neuroscience*. 2015;18(4):177-85. doi:10.1179/1476830514Y.0000000110
19. Sausmikar J, Smollich M. Nutritional Therapy for Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorders: What is the Evidence? *Klinische Padiatrie*. 2016;228(2):62-8. doi:10.1055/s-0041-110207
20. Cade R, Privette M, Fregly M, et al. Autism and Schizophrenia: Intestinal Disorders. *Nutritional Neuroscience*. 2000;3(1):57-72. doi:10.1080/1028415X.2000.11747303

Информация об авторе [Author Info]

Бавыкина Ирина Анатольевна – к.м.н., старший научный сотрудник НИИ ЭБМ, Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Российская Федерация. e-mail: i-bavikina@yandex.ru
SPIN: 5677-2002, ORCID ID: 0000-0003-1062-7280, Researcher ID: M-3133-2016.

Irina A. Bavykina – MD, PhD, Senior Researcher at the EBM Research Institute, Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russian Federation. e-mail: i-bavikina@yandex.ru
SPIN: 5677-2002, ORCID ID: 0000-0003-1062-7280, Researcher ID: M-3133-2016.

Цитировать: Бавыкина И.А. Лабораторные и клинические маркеры непереносимости казеина у детей с аутизмом // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2021. Т. 9, №1. С. 5-10. doi:10.23888/HMJ2021915-10

To cite this article: Bavykina IA. Laboratory and clinical markers of intolerance to casein in children with autism. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2021;9(1):5-10. doi:10.23888/HMJ2021915-10

Поступила / Received: 09.07.2020
Принята в печать / Accepted: 01.03.2021