

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра**Худякова М.И.¹, Черевко Н.А.¹, Скирневская А.В.¹, Розенштейн М.Ю.², Розенштейн А.З.², Кондаков С.Э.³, Березовская К.В.⁴**

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634055, г. Томск, ул. Московский тракт, 2, Россия); ² ООО «Иммунохелс Рус» (117393, г. Москва, ул. Архитектора Власова, 18, Россия); ³ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, 1, Россия); ⁴ Медицинское объединение ООО «Центр семейной медицины» (634050, г. Томск, ул. Трифонова, 22, Россия)

Автор, отвечающий за переписку: Худякова Мария Ивановна, e-mail: khudiakovami@mail.ru

Резюме

Согласно мировой статистике, в детской популяции продолжает нарастать частота развития расстройств аутистического спектра (68–100 случаев на 1000 рождённых) с преобладанием мальчиков над девочками. Несмотря на многочисленные исследования, посвящённые этой проблеме, патогенез аутизма по-прежнему остаётся спорным.

Целью работы являлось оценить эффективность элиминационных диетологических подходов на динамику показателей пищевой гиперчувствительности, цитокинового баланса и психологических параметров у детей с расстройствами аутистического спектра, проживающими в г. Томске.

Для реализации поставленной цели использовали модифицированный метод ИФА для определения концентрации специфических иммуноглобулинов к 111 пищевым антигенам. Концентрацию интерлейкинов измеряли стандартным методом ИФА. Динамику психического состояния детей с аутизмом оценивали при помощи анкеты АТЕС.

В результате было отмечено, что у детей с аутизмом статистически значимо чаще наблюдается гиперчувствительность к пАГ зерновых и молочных. Получены изменения концентрации ряда интерлейкинов в сыворотке крови. Выявлена прямая корреляционная зависимость между концентрацией IgG к антигенам грибов рода *Candida*, пАГ продуктов молочного и зернового происхождения и концентрацией ИФН γ в сыворотке крови. Каждому ребёнку была назначена индивидуальная элиминационная диета. В результате проведённой коррекции получен ряд позитивных результатов. Значительно снизились диагностические значимые титры АТ к грибам рода *C. albicans*. Выявлены статистически значимые изменения результатов АТЕС-тестирования: средний балл до диеты равнялся 71 (тяжёлая степень аутизма), после диеты – 58 (средняя степень аутизма). У 30 % детей, со строгой приверженностью мам к соблюдению принципов элиминационной диеты, показатели тестов АТЕС снизились до 35 (лёгкая степень аутизма). Полученные данные раскрывают неизученные эффекты специфической пищевой гиперчувствительности на процесс инициации и поддержания хронического системного воспаления, а также на психоневрологический статус в условиях нормы и при патологических состояниях. Персонализированная элиминационная диета позволяет повысить возможности иммунореабилитации, коммуникативных показателей и улучшить качество жизни детей с аутизмом.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, пищевая гиперчувствительность, персонализированная элиминационная диета, интерлейкины, тест АТЕС, грибы *Candida albicans*

Для цитирования: Худякова М.И., Черевко Н.А., Скирневская А.В., Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Березовская К.В. Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

Features of Food Hypersensitivity in Children with Autism Spectrum Disorder**Khudiakova M.I.¹, Cherevko N.A.¹, Skirnevskaja A.V.¹, Khudiakova M.I.¹, Rozenshtein M.Yu.², Rozenshtein A.Z.³, Kondakov S.E.³, Berezovskaja K.V.⁴**

¹ Siberian State Medical University (Moskovskiy Tract 2, 634055 Tomsk, Russian Federation); ² OOO ImmunoHealth Rus (Arkhitektora Vlasova str. 18, 117393 Moscow, Russian Federation); ³ Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory str. 1, 119991 Moscow, Russian Federation); ⁴ Medical Association OOO "Center of Family Medicine" (Trifonova str., 22, 634050 Tomsk, Russian Federation)

Corresponding author: Mariya I. Khudiakova, e-mail: khudiakovami@mail.ru

Abstract

Currently, the incidence of autism spectrum disorders (ASD) continues to increase in the children's population. However, the pathogenesis of autism remains controversial.

The purpose of this work is to evaluate the performance of the elimination nutritional approaches to the dynamics of indicators of food hypersensitivity, the balance of interleukins and psychophysiological parameters in children with ASD. Methods. A prospective cohort study of children aged 7 ± 2 years, healthy and diagnosed with ASD was performed. Determination of specific immunoglobulin concentrations to 111 food antigens and interleukins was measured by ELISA. Psychophysiological indicators of communicative competence in children with ASD were evaluated in the ATEC-test. Results. It was established that in children with ASD (n = 69), the frequency of occurrence of food hypersensitivity and indicators of specific sIgG concentrations to food antigens of dairy and grain products are higher (p < 0.05). A direct correlation was found between the concentration of INF γ , IgG concentrations to antigens of dairy, grain products and C. albicans. High ratios of the INF γ /IL4 and INF γ /IL10 ratios (p < 0.05) were revealed. As a result of compliance with the elimination diet was noted significant decrease in the concentration of sIgG to food antigens, sIgG to C. albicans, changes indicators following the results of ATEC testing.

The data obtained revealed the unexplored effects the influence of specific food hypersensitivity on the process of initiation and maintenance of immune inflammation, as well as on the communicative competence in pathological conditions. A personalized elimination diet can improve the immunorehabilitation and the quality of life of children with autism.

Key words: autism spectrum disorder, food hypersensitivity, personalized elimination diet, interleukins

For citation: Khudiakova M.I., Cherevko N.A., Skirnevskaja A.V., Khudiakova M.I., Rozenshtein M.Iu., Rozenshtein A.Z., Kondakov S.E., Berezovskaja K.V. Features of Food Hypersensitivity in Children with Autism Spectrum Disorder. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

ОБОСНОВАНИЕ

Согласно мировой статистике, в детской популяции продолжает нарастать частота развития расстройств аутистического спектра (РАС) (68–100 случаев на 1000 рождённых) с преобладанием мальчиков над девочками (6–8 : 1) [1]. Несмотря на многочисленные исследования, посвящённые этой проблеме, патогенез аутизма по-прежнему остаётся спорным. В последние годы в ряде опубликованных статей были представлены исследования о роли пищевых антигенов (ПАГ) в нарушении пищевой толерантности (ПТ) и развитии патологических процессов, являющихся причинами воспалительных ответов в центральной нервной системе и иммунных дисфункций в кишечнике у пациентов с психическими расстройствами, шизофренией и РАС, описана IgG-опосредованная гиперчувствительность к ПАГ растительных белков злаковых продуктов и, в частности, глютена [2, 3].

Могут ли реакции на ПАГ сопровождаться системными воспалительными процессами? За исключением признания роли системных аллергических IgE-опосредованных реакций на ПАГ, до сих пор остаётся спорным вопрос участия IgG-опосредованных реакций в иммунной регуляции ПТ.

На наш взгляд, процессы регуляции толерантности к ПАГ формируются после рождения в локальной среде пребывания человека и связаны с эпигенетическими влияниями средовых факторов. Наиболее важные среди них – изменение характеристик современных пищевых продуктов, незрелость иммунной системы (ИС) кишечника, индивидуальные особенности состояния биоплёнки, образованной микробиотой, муцином и секреторным иммуноглобулином А (sIgA). Важно понимать, что ПТ – исключительно динамический процесс, связанный со всеми периодами дисбалансов иммунной системы у человека, отражающий возрастные, гормональные, адаптационные, инфекционные, лекарственные влияния. При этом, иммунологический контроль любых АГ связан с их распознаванием толл-подобными рецепторами (TLR), расположенными на клетках врождённого иммунитета и эпителиоцитах кишечника и/или специфическими рецепторами (TCR, BCR) на Т- и В-лимфоцитах адаптивного иммунитета, и это зависит от количественных и качественных характеристик АГ, попадающих внутрь. В целом, проявление или отсутствие клинических реакций

на пищевые АГ обеспечиваются совокупностью факторов: генетикой ферментов пищеварения, генетикой цитокинов воспаления, функциональным состоянием микробной популяции кишечника и их влиянием на иммунные клетки, экспрессией TLR2, TLR4, продукцией sIgA, IgG, TGF β , IL10, функциональной активностью дендритных клеток, Treg, Th17, Th1, Th2-лимфоцитов, концентрацией в кишечнике витаминов D и А [4, 5]. Процессы изменения количественных и качественных характеристик ПАГ (продуктов) на любых этапах пищеварения способны нарушить процесс распознавания АГ на уровне рецепторов иммунокомпетентных клеток и активность процессов транцитоза ПАГ в зоны изолированных лимфоидных фолликулов под эпителием кишечника. Гуморальные механизмы ответного синтеза специфических IgG к ПАГ являются универсальными защитными механизмами, направленными на нейтрализацию и элиминацию причинных АГ, контроль их проникновения в кровеносное русло и ткани. При этом именно количественные показатели специфических IgG (sIgG) являются важным диагностическим критерием, так как позволяют диагностировать присутствие и выраженность гиперчувствительности к конкретному ПАГ. Значение концентраций свободных sIgG является, по сути, количественной мерой контроля за АГ нагрузкой в существующих динамических условиях состояния ЖКТ и ИС. Специфические субпопуляции IgG (G1, G2, G3, G4) являются доступным критерием оценки фенотипов иммунных ответов, так как связаны с разным интерлейкин-зависимым стартом и критериями манифестного или транзиторного нарушения ПТ. Эффекторные реакции с участием sIgG в отношении ПАГ включают: формирование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), активацию процессов фагоцитоза, антителозависимую цитотоксичность, появление сенситилизированной лимфоцитов, активацию ретикулоэндотелиальной системы для элиминации ЦИК. Эффекторные реакции на ПАГ запускаются по любому из перечисленных путей [6, 7, 8]. Снижение антигенной нагрузки при условии отмены (элиминации) поступления специфических пищевых АГ должно приводить к динамическим изменениям концентраций специфических IgG и активности эффекторных гуморальных реакций. Принимая во внимание известные данные по периоду полураспада и катаболизма IgG, клинико-иммунологические изменения должны фиксироваться к первому месяцу в условиях элиминации

и стабильно диагностироваться в периоды, начиная с 3 до 6 месяцев.

ЦЕЛЬ

Оценить влияние элиминационных диетологических подходов на динамику показателей пищевой гиперчувствительности, баланс цитокинов и психофизиологические параметры у детей с расстройствами аутистического спектра, проживающими в г. Томске.

МЕТОДЫ

На базе поликлинического отделения ООО «Центр семейной медицины» было проведено проспективное когортное исследование 89 детей, проживающих в г. Томске, разделённых на две группы. Основная группа – 69 детей с диагностированными РАС различной степени тяжести. Группа сравнения была представлена 20 соматически здоровыми детьми. Средний возраст детей составил 7 ± 2 года.

Критерием включения в основную группу служило наличие диагностированного РАС. Критериями исключения были наличие инфекционных процессов, острых и хронических заболеваний в стадии обострения и мотивированные отказы от соблюдения диеты.

Критерии включения в группу сравнения: 1) нормальное физическое и психическое развитие; 2) отсутствие избытка или дефицита массы тела (ИМТ в пределах возрастной нормы); 3) отсутствие клинических признаков аллергии, иммунодефицитов, аутоиммунных состояний, дисфункции ЖКТ. Критерием исключения было наличие острых инфекционных процессов и хронических процессов в стадии обострения. Критерии подбора в группу сравнения обусловлены гипотезой иммунопатологического патогенеза РАС, связи нарушения ПТ и развития системного воспаления. Соответствие перечисленным критериям косвенно указывает на особое внимание на анамнез заболеваний или функциональных особенностей желудочно-кишечного тракта, начиная с младенческого возраста.

От родителей детей было получено информированное согласие на проведение комплексных исследований и обработку персональных данных. В качестве исследуемого материала использовалась кровь, взятая из подкожных вен области локтевого сгиба. Исследуемые параметры: концентрация sIgG к пищевым антигенам, IL4, IL6, IL10, IFN γ , IgG и IgA к *C. albicans*. На основании полученных результатов анализов детям с РАС назначалась элиминационная диета с исключением причинных ПАГ. Продолжительность соблюдения диеты составила 6 месяцев. Ежемесячно проводились консультация врача и оценка приверженности диете. По истечении 6 месяцев повторно производили забор крови и анализ исследуемых показателей.

Для оценки изменений выраженности проявлений РАС в основной группе родители на основании собственных наблюдений дважды заполняли специальную анкету – АТЕС (Autism Treatment Evaluation Scale) – в начале исследования и через 6 месяцев. Тест АТЕС позволяет оценить физический и психический статус по следующим четырём критериям: речевая функция и коммуникативность, способность к социальному взаимодействию, сенсорные и когнитивные способности, поведенческие паттерны. В каждом блоке вопросов определялись

баллы, которые суммировались следующим образом: 0–30 баллов – соответствие отсутствию расстройств, 31–40 баллов – соответствие лёгкой степени аутизма, 41–60 баллов – средней степени аутизма, 61–178 – тяжёлой степени аутизма. Данный тест не является диагностическим, а позволяет оценить динамику заболевания и эффективность проводимого лечения.

Результаты теста детей в группе сравнения составили 0–10 баллов.

Оценка специфической IgG-зависимой гиперчувствительности к 111 ПАГ, объединённых по сходным антигенным структурам в 8 кластеров, проводилась с использованием многокомпонентного ИФА по методике Immunohealth™. Методика позволяет определить индивидуальный критерий «норма – аномалия» [9] и сформировать принципы персонализированной элиминационной диеты с выведением из рациона ПАГ, которые вызывают в физической модели аномальные отклики (концентрация sIgG к данному ПАГ выше показателя индивидуальной реакции, соответствующей ответу «норма»).

Оценка концентрации цитокинов в сыворотке крови (IL4, IL6, IL10, IFN γ) была произведена с применением наборов реагентов фирмы Вектор-Бест (Россия).

Статистический анализ

Анализ результатов исследования выполнен с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics 23.0.0.0 (США). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро – Уилка (при $n < 50$) или критерий Колмогорова – Смирнова (при $n > 50$). При описании нормально распределённого количественного признака использовали среднее значение (M), стандартное отклонение (σ) или стандартную ошибку (m), 95% доверительный интервал (95% ДИ). При описании количественного признака, распределение которого отличалось от нормального, использовали медиану, значения нижнего и верхнего квартилей (равнозначно 25% и 75% перцентилем). При описании качественного признака указывали абсолютную величину для каждого значения, а также процентную долю в структуре всей совокупности. Анализ выявленных отклонений между независимыми данными проводили с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей в случаях нормального распределения и U-критерия Манна – Уитни при отсутствии признаков нормального распределения. Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками при нормальном распределении использовался парный t-критерий Стьюдента, при отличном от нормального – W-критерий Уилкоксона. Качественные данные оценивали с использованием критерия Фишера и, при необходимости, критерия χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность Йейтса. Оценка риска (Odds Ratio) произведена по методу Д. Альтмана. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена. Значения коэффициента корреляции r интерпретировались также в соответствии со шкалой Чеддока. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По итогам проведённых исследований было установлено, что у детей с РАС значительно чаще выявляется IgG-опосредованная гиперчувствительность к антигенам

продуктов молочного происхождения, а именно в 60 из 69 случаев (86 %), в группе сравнения – 50 %. Различия показателей оценены с использованием критерия Фишера и статистически значимы ($p \leq 0,05$). В количественном выражении медиана уровня суммарного sIgG к молочным продуктам составила 1630,5 МЕ с интерквартильным размахом (ИКР) от 1058 до 2429 МЕ в группе с РАС до диеты и 1016 МЕ – через 6 месяцев (ИКР 647 до 1939 МЕ, критерий Уилкоксона $W = -3,674, p < 0,001$). Подробные данные об уровнях групп и частных sIgG представлены в таблице 1.

В группе детей с РАС значения изучаемого цитокинового профиля получены отличные от таковых в группе сравнения. В основной группе выявлено снижение концентраций IL4 – $15,2 \pm 1,4$ пг/мл против $16,4 \pm 1,6$ пг/мл в группе сравнения ($p < 0,005$), IL6 – $17,1 \pm 1,3$ пг/мл, и $19,7 \pm 6,3$ пг/мл соответственно ($p < 0,05$). Повышение соотношения коэффициентов IFN γ /IL4 – 0,97 (ИКР 0,87–1,07) в группе с РАС относительно 0,83 (ИКР 0,73–0,94) в группе сравнения, схожим образом повышено соотношение IFN γ /IL10 – 0,81 (ИКР 0,072–0,95) и 0,75 (ИКР 0,65–0,9). Изменения коэффициентов статистически значимы (критерий Манна – Уитни $U = 135, p = 0,001$ для IFN γ /IL4; $U = 200,5, p = 0,025$ – для IFN γ /IL10).

Обнаружена положительная взаимосвязь между концентрацией sIgG к антигенам грибов рода *S. albicans* (коэффициент корреляции Спирмена $\rho = 0,470, p = 0,032$) и продуктами молочного ($\rho = 0,399, p = 0,034$), зернового кластера ($\rho = 0,379, p = 0,044$), концентрацией IFN γ в сыворотке крови у детей с РАС.

При анализе было выявлено, что у детей с РАС множественная гиперчувствительность к пАГ зерновых встречается чаще по отношению к группе сравнения. У 45 из 69 или 65 % детей с РАС были отмечены одновременно повышенные значения sIgG к антигенным структурам трёх и более зерновых продуктов. В контрольной группе подобное явление наблюдалось в 4 из 20 случаев и составило 20 %.

Частота встречаемости диагностической гиперчувствительности в группе детей с РАС к антигенам пшеницы составила 77 %, глютена – 49 %, ржи – 48 %, перловой крупы – 48 % и овса – 44 %. Сенсibilизация к данным антигенам у детей с РАС фиксировалась значительно чаще, чем у детей группы сравнения, полученные данные значимы (во всех случаях $p < 0,05$).

При изучении особенностей гиперчувствительности к антигенам продуктов молочного происхождения у детей с РАС диагностирована сенсibilизация к следу-

Таблица 1
 Описательные характеристики показателей sIgG у детей с РАС до и после элиминационной диеты и группы сравнения
 Table 1
 Descriptive characteristics of sIgG in children with ASD before and after elimination diet and in the comparison group

Показатель	Медиана	1 квартиль	3 квартиль	Стат. критерий	
Сумма sIgG, МЕ	До	5495,5	4375	7104,7	U = 480, p = 0,001* W = -3,505, p < 0,001**
	После	4591	3695	6085	
	Контроль	3689	2991,5	5617,7	
Сумма sIgG к АГ молочных продуктов, МЕ	До	1630,5	1058	2429	U = 588, p = 0,006* W = -3,674, p < 0,001**
	После	1116	647,8	1939,8	
	Контроль	724	275,5	1868,5	
sIgG к АГ казеина, МЕ	До	177,7	128,4	328	U = 193, p < 0,001*
	После	138	119,3	286,3	
	Контроль	146	153	281,8	
sIgG к АГ коровьего молока, МЕ	До	192,7	130,4	310,8	U = 487, p = 0,008*
	После	197,5	138,5	322	
	Контроль	207	136,5	326	
sIgG к АГ сливочного масла, МЕ	До	225	158,3	327,5	U = 302, p < 0,001* W = -2,485, p = 0,013**
	После	160,5	130	323	
	Контроль	168	127,3	359,5	
Сумм sIgG к АГ зерновых продуктов, МЕ	До	534	264,3	1027,5	U = 665, p = 0,013* W = -3,431, p = 0,001**
	После	283	129,5	627	
	Контроль	304	165	566	
sIgG к АГ глютена, МЕ	До	220	131,8	294,8	U = 665, p = 0,013* W = -2,134, p = 0,033**
	После	154	108,8	185,8	
	Контроль	174	148,5	228,8	
Сумма sIgG к АГ продуктов бобового кластера, МЕ	До	308	158	455	U = 560, p = 0,003* W = -5,733, p < 0,001**
	После	226	185	320	
	Контроль	343,5	264	426	

Примечание. * – сравнение группы детей с РАС до диеты с контрольной группой; ** – сравнение группы детей с РАС до и после диеты.

щему ряду антигенов: сливочного масла – 71 % (49 из 69), в контрольной группе – 40 % (8 из 20) ($p < 0,05$); творога – 71 % (49 из 69), контроль – 30 % (6 из 20) ($p = 0,003$); цельного коровьего молока – 81 % (56 из 69), контроль – у 11 из 20 или 55 % (критерий Фишера $F = 0,035$, $p < 0,005$); казеина – 68 % (47 из 69), контроль – 25 % (5 из 20) ($p < 0,001$).

Выявлены положительная взаимосвязь между суммарной концентрацией sIgG к антигенам молочных продуктов и количеством баллов АТЕС (коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,447$, $p < 0,001$) и взаимосвязь суммарного sIgG к продуктам, относящимся к семейству бобовых ($r = 0,289$, $p = 0,044$).

Анкетирование АТЕС показало, что дети с РАС с наиболее высокими баллами (более 100), отражающими тяжесть клинических проявлений, имели сенсбилизацию одновременно к пищевым антигенам пяти и более продуктов зернового кластера и к пяти и более продуктам молочного кластера, что встречалось в 79 % случаев.

По итогам первого этапа полученных результатов тестирования все дети получили рекомендации персонализированного питания с элиминацией причинных ПАГ на 6 месяцев с посещениями врача с целью изменения тактики пищевого рациона.

Повторное исследование IgG-опосредованной гиперчувствительности к ПАГ и оценка динамики заболевания с использованием теста АТЕС проводились по окончании элиминационной диеты для каждого ребёнка. Соблюдение персонализированной элиминационной диеты привело, по оценкам родителей, к улучшению клинических показаний соматического здоровья: купированию жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта, расширению пищевого рациона, восстановлению регулярности стула, снижению частоты простудных заболеваний, реабилитации состояния кожных покровов (снижение сухости и высыпаний на коже), частоты обострений ринитов, повышения способностей к обучению, изменениям в общении с родителями и сверстниками. Значения тестов АТЕС в начале исследования составляли от 31 до 145 баллов, среднее значение – $76,8 \pm 3,2$ (95% ДИ 47,5–68,4), что соответствует тяжёлой степени тяжести. После соблюдения элиминационной диеты значения составляли от 27 до 124 баллов, среднее значение – $57,9 \pm 5$ (95% ДИ 47,5–68,4), что соответствует средней степени аутизма, данные изменения статистически значимы ($p < 0,001$). Распределение детей по степеням тяжести до и после элиминационной диеты представлено в таблице 2.

Таблица 2
Распределение детей с РАС по степеням тяжести, согласно результатам теста АТЕС до и после элиминационной диеты

Table 2
Distribution of children with ASD by degrees of severity, according to the results of the ATEC test before and after the elimination diet

Степень тяжести РАС	До диеты (n = 69)	После диеты (n = 67)
Здоров (0–30)	0	9 (13,4 %)
Лёгкая степень (31–40)	5 (7 %)	13 (19,4 %)
Средняя степень (41–60)	14 (20 %)	12 (18 %)
Тяжёлая степень (61–178)	50 (73 %)	33 (49,2 %)

Индивидуальное снижение количества баллов для каждого ребёнка составило от 4 до 69, среднее значение – $31 \pm 3,7$ (95% ДИ 23,6–38,6), $p = 0,001$.

Клинические улучшения совпали со статистически значимым снижением суммарной концентрации специфических иммуноглобулинов. До диеты медиана суммарного sIgG составляла 5495,5 МЕ (ИКР 4375–7104,8), после диеты – 4591 (ИКР 3695–6085); в контрольной группе ранее – 3689 МЕ (ИКР 2991,5–5617,7). Разница между результатами «до» и «после», а также между группами статистически достоверна ($W = -3,505$, $p < 0,001$, $U = 480$, $p = 0,001$). Более показательное снижение индивидуального уровня sIgG, выраженное в процентах. Диапазон изменений составляет от –22 % до 203 %. В среднем суммарный sIgG снизился на 40,6 % (95% ДИ 21,3–60 %), $p = 0,001$.

Была выделена группа из 20 детей с РАС, мамы которых строго контролировали соблюдение принципов элиминационной диеты. В данной группе по прошествии 6 месяцев средний балл теста АТЕС составил $35 \pm 3,4$ (95% ДИ 28,7–46,3) балла, что соответствовало лёгкой степени аутизма. Индивидуальное снижение количества баллов для каждого ребёнка в данной группе составляло от 6 до 69, среднее значение – $41,3 \pm 4,5$ (95% ДИ 31,7–50,9), $p < 0,001$.

Статистически значимо уменьшилась концентрация sIgG к АГ *S. albicans* – с 425,5 МЕ (ИКР 282,5–568,5) до 278 МЕ (ИКР 199–515,5) мг/мл ($W = -3,481$, $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании у детей с РАС нами чаще диагностировалась IgG-опосредованная гиперчувствительность к пищевым антигенам группы продуктов молочного происхождения, группы зерновых продуктов, а также фасоли, винограда, тростникового сахара. По данным литературы, у детей с РАС чаще встречается гиперчувствительность к продуктам, содержащим глютен и казеин [2, 4, 7]. В нашем исследовании гиперчувствительность к казеину составила 68 %, а к глютену – 49 %.

У 84 % (58 из 69) детей с РАС выявлена гиперчувствительность к АГ бродильных продуктов, таких как дрожжи, сахар, солод, виноград. Это может благоприятствовать росту гриба рода *S. albicans* в кишечнике. Благодаря схожим АГ детерминантам гриба *S. albicans* и глютена, за счёт перекрёстной реакции к рецептору тканевой трансглутаминазы может повышаться иммунная агрессия на белки злаковых продуктов, провоцируя симптомы, сходные с целиакией: нарушение функции щитовидной железы, аллергии, дерматиты, кишечные синдромы и т. д. [4, 10]. В результате, вероятно формирование вторичной энтеропатии с нарушением переваривания злаковых продуктов, фруктов и овощей, усиление бродильных процессов в толстом кишечнике и нарушение расщепления клетчатки. Данный факт является благоприятным условием для дальнейшего роста гриба *S. albicans*, который через TLR2-рецепторы способен стимулировать синтез IFN γ – основного провоспалительного цитокина, который, в свою очередь, опосредует процессы повышения проницаемости стенок кишечника, транцитоза АГ и активацию адаптивного иммунитета.

Полученные результаты показывают, что у детей с РАС концентрация IFN γ выше, а IL4 – ниже, чем у здоровых детей, что указывает на дисбаланс цитокинов и, вероятно, превалирование Th1-пути иммунного ответа с участием провоспалительного цитокина IFN γ . Имеются

факты, что провоспалительные цитокины оказывают негативное влияние на когнитивное поведение, а IL4, наоборот, положительно влияет на когнитивные функции [11, 12, 13]. Причём введённое нами соотношение IFN γ /IL4 и IFN γ /IL10 отражает дисбаланс провоспалительных цитокинов над противовоспалительными. Полученные данные подтверждают наличие корреляций между лабораторными показателями и отдельными видами продуктов (злаковые, молочные, бобовые) и их вклад в развитие симптомов, связанных с характеристиками основных психофизиологических показателей у детей с РАС (показатели теста АТЕС). Согласно имеющимся исследованиям, у 80 % детей с РАС повышена концентрация аутоантител к основному белку миелина в сыворотке крови. Это может явиться причиной нарушения процессов миелинизации нервных волокон, но при этом эти АТ не приводят к развитию рассеянного склероза. Аутоиммунная реакция на этот белок может быть запущена перекрёстными антигенами, такими как глиадин, казеин, соя [14], рядом инфекционных агентов и тяжёлыми металлами [15] и приводить к образованию ЦИК и аутоантител, способных проходить через ГЭБ и вызывать демиелинизацию [14].

Выявлена положительная взаимосвязь между динамикой изменения суммарной концентрации IgG к антигенам молочных продуктов и количеством баллов АТЕС. После соблюдения персонализированных элиминационных диет у детей с РАС отмечалось существенное снижение концентрации IgG к антигенам молочных продуктов, совпадающее со снижением баллов теста АТЕС.

Ограничения метода: зависимость эффективности методики от приверженности диете. Вопрос соблюдения персонализированной диеты в течение продолжительного промежутка времени ложится на плечи родителей и ближайшего окружения ребёнка. Комплаенс между врачом и представителями ребёнка, дисциплинированность и волевые качества родителей являются немаловажным фактором в эффективности лечения. Данная проблема выходит на первый план в случаях РАС, сопровождающихся нарушениями пищевого поведения, особенно, склонностью к однообразию. В дизайне исследования отсутствовала группа детей с РАС, которые не придерживались элиминационной диеты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого комплексного иммунологического, клинического и психологического исследований получены данные, позволяющие оценить индивидуальные особенности иммунных реакций пациентов с РАС на пищевые антигены к 111 продуктам, связанные с показателями IgG-опосредованной специфической гиперчувствительности и влиянием на высшую нервную деятельность.

Результаты данной работы подтверждают взаимосвязь между потребляемыми пищевыми АГ, изменениями в цитокиновом профиле и изменениями психоэмоционального статуса детей, оценённого в баллах с помощью теста АТЕС. У детей с РАС чаще наблюдается IgG-зависимая сенсibilизация к ПАГ молочных и зерновых продуктов, титры специфических иммуноглобулинов к ПАГ данных

пищевых кластеров коррелируют с количеством баллов, полученных при тестировании анкетой АТЕС.

Установленные особенности пищевой гиперчувствительности у детей с РАС имеют корреляционную связь с повышением сывороточной концентраций IFN γ и снижением концентраций IL4.

У детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей выявлены статистически значимые повышения соотношений IFN γ /IL4 и INF γ /IL10.

Выявлено, что диагностированная дрожжевая сенсibilизация к *S. albicans* оказывает негативное влияние на процессы специфической гиперреактивности к пищевым АГ, увеличивая спектр ПАГ.

Соблюдение детьми с РАС рекомендованной персонализированной элиминационной диеты в течение 6 месяцев приводит к улучшению показателей по всем разделам теста АТЕС.

Полученные данные позволяют дополнить имеющиеся представления о роли иммунной системы кишечника в патогенезе РАС, выявить изменения клинико-лабораторных данных, ассоциированных с нарушением пищевой толерантности к АГ пищевых белков различных продуктовых кластеров, а также оценить эффективность персонализированной элиминационной диеты в терапии пациентов с РАС.

Результаты данного исследования представляют теоретический и практический интерес, поскольку дополняют имеющиеся представления о взаимосвязи специфической пищевой гиперчувствительности с процессами инициации и поддержания иммунного воспаления, с психофизиологическим статусом у детей с РАС. Персонализированная элиминационная диета позволяет повысить возможности иммунореабилитации, коммуникативной компетентности и улучшить качество жизни детей с аутизмом.

Финансирование

Работа выполнена за счёт средств ООО «Центр семейной медицины» (Томск), благотворительного фонда «Созидание» (Москва), с участием АРДА «АУРА» (Томск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Christensen DL, Baio J, Braun KV, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. *Surveillance Summaries*. 2016; 65(3): 1-23. doi: 10.15585/mmwr.ss6503a1
2. de Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R, et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 729349. doi: 10.1155/2013/729349
3. Goines P, Van de Water J. The immune system's role in the biology of autism. *Curr Opin Neurol*. 2010; 23(2): 111-117. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283373514
4. Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NA. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends Microbiol*. 2014; 22(11): 614-622. doi: 10.1016/j.tim.2014.07.001
5. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013; 36: 67-81. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.006

6. Нетребко О.К. Аллергия или пищевая толерантность: два пути развития иммунной системы. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2010; 89(1): 122-128.

7. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28(2): 203-209.

8. Sudo N. Role of microbiome in regulating the HPA axis and its relevance to allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2012; 98: 163-175. doi: 10.1159/000336510

9. Розенштейн А.З., Розенштейн М.Ю., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Диагностика пищевой гиперчувствительности, опосредованной иммунопатологическими реакциями III типа. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(18): 150-152.

10. Corouge M, Loricant S, Fradin C, Salleron J, Damiens S, Moragues MD, et al. Humoral immunity links *Candida albicans* infection and celiac disease. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0121776. doi: 10.1371/journal.pone.0121776

11. Walter J, Honsek SD, Illes S, Wellen JM, Hartung HP, Rose CR, et al. A new role for interferon gamma in neural stem/precursor cell dysregulation. *Mol Neurodegener*. 2011; 6: 18. doi: 10.1186/1750-1326-6-18

12. Ye L, Huang Y, Zhao L, Li Y, Sun L, Zhou Y, et al. IL-1 β and TNF- α induce neurotoxicity through glutamate production: a potential role for neuronal glutaminase. *J Neurochem*. 2013; 125(6): 897-908. doi: 10.1111/jnc.12263

13. You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. *Behav Brain Res*. 2011; 225 (1): 135-141. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.006

14. Lionetti E, Leonardi S, Franzonello C, Mancardi M, Ruggieri M, Catassi C. Gluten psychosis: confirmation of a new clinical entity. *Nutrients*. 2015; 7(7): 5532-5539. doi: 10.3390/nu7075235

15. Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Лунина О.И. Пищевая гиперчувствительность и продукты из сырья животного происхождения. *Теория и практика переработки мяса*. 2017; 2(2): 23-36. doi: 10.21323/2414-438X-2017-2-2-23-36

REFERENCES

1. Christensen DL, Baio J, Braun KV, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. *Surveillance Summaries*. 2016; 65(3): 1-23. doi: 10.15585/mmwr.ss6503a1

2. de Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R, et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 729349. doi: 10.1155/2013/729349

3. Goines P, Van de Water J. The immune system's role in the biology of autism. *Curr Opin Neurol*. 2010; 23(2): 111-117. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283373514

4. Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NA. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends Microbiol*. 2014; 22(11): 614-622. doi: 10.1016/j.tim.2014.07.001

5. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013; 36: 67-81. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.006

6. Нетребко ОК. Allergy or food tolerance: two ways to develop the immune system. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2010; 89(1): 122-128. (In Russ.)

7. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28(2): 203-209.

8. Sudo N. Role of microbiome in regulating the HPA axis and its relevance to allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2012; 98: 163-175. doi: 10.1159/000336510

9. Rozenshtein AZ, Rozenshtein MY, Kondakov SE, Cherevko NA. Diagnostics of food hypersensitivity mediated by immunopathological reactions of type III. *Russian Journal of Immunology*. 2015; 9(18): 150-152. (In Russ.)

10. Corouge M, Loricant S, Fradin C, Salleron J, Damiens S, Moragues MD, et al. Humoral immunity links *Candida albicans* infection and celiac disease. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0121776. doi: 10.1371/journal.pone.0121776

11. Walter J, Honsek SD, Illes S, Wellen JM, Hartung HP, Rose CR, et al. A new role for interferon gamma in neural stem/precursor cell dysregulation. *Mol Neurodegener*. 2011; 6: 18. doi: 10.1186/1750-1326-6-18

12. Ye L, Huang Y, Zhao L, Li Y, Sun L, Zhou Y, et al. IL-1 β and TNF- α induce neurotoxicity through glutamate production: a potential role for neuronal glutaminase. *J Neurochem*. 2013; 125(6): 897-908. doi: 10.1111/jnc.12263

13. You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. *Behav Brain Res*. 2011; 225 (1): 135-141. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.006

14. Lionetti E, Leonardi S, Franzonello C, Mancardi M, Ruggieri M, Catassi C. Gluten psychosis: confirmation of a new clinical entity. *Nutrients*. 2015; 7(7): 5532-5539. doi: 10.3390/nu7075235

15. Lisitsyn AB, Chernukha IM, Lunina OI. Food hypersensitivity and products made of raw materials of animal origin. *Theory and practice of meat processing*. 2017; 2(2): 23-36. (In Russ.) doi: 10.21323/2414-438X-2017-2-2-23-36

Сведения об авторах:

Худякова Мария Ивановна – ординатор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: khudiakovami@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6320-5017>

Черевко Наталья Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент кафедры аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: chna@0370.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1023-4137>

Скирневская Александра Владимировна – аспирант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: skirnevskaya.a@gmail.com

Кондаков Сергей Эмильевич – доктор химических наук, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», e-mail: ksekse@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5667-8262>

Розенштейн Марина Юзефовна – кандидат медицинских наук, нутрициолог, ООО «Иммунохелс Рус», e-mail: marina.rozenshteyn@gmail.com

Розенштейн Аркадий Зильманович – доктор физико-математических наук, ООО «Иммунохелс Рус», e-mail: arkrozen@gmail.com

Березовская Ксения Валерьевна – врач общей врачебной практики, врач-педиатр, Медицинское объединение ООО «Центр семейной медицины», e-mail: bkvv@0370.ru

Information about the authors:

Mariya I. Khudiakova – Attending Physician at the Department of Biochemistry and Molecular Biology, Siberian State Medical University, e-mail: khudiakovami@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6320-5017>

Natal'ya A. Cherevko – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Allergology and Immunology, Siberian State Medical University, e-mail: chna@0370.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1023-4137>

Aleksandra V. Skirnevskaya – Postgraduate at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, e-mail: skirnevskaya.a@gmail.com

Sergej E. Kondakov – Dr. Sc. (Chem., Biol.), Professor, Lomonosov Moscow State University, e-mail: ksekse@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5667-8262>

Marina J. Rosenstein – Cand. Sc. (Med.), Nutrition Scientist, ImmunoHealth-RUS, e-mail: marina.rozenshteyn@gmail.com

Arkadij Z. Rosenstein – Dr. Sc. (Physics and Math.), ImmunoHealth-RUS, e-mail: arkrozen@gmail.com

Kseniya V. Berezovskaya – General Practitioner, Pediatrician, OOO "Center of Family Medicine", e-mail: bkva@0370.ru

Вклад авторов

Худякова М.И. – анализ полученных данных, статистическая обработка результатов, написание статьи

Черевко Н.А. – проектирование, анализ полученных данных работы, набор материала, консультация пациентов, написание статьи

Скирневская А.В. – набор материала, оформление полученных первичных данных, написание статьи

Розенштейн М.Ю. – анализ полученных лабораторных данных для положений в написании статьи

Розенштейн А.З. – контроль и выполнения лабораторных исследований оценки ПГЧ, коррекция статьи

Кондаков С.Э. – исполнение исследования пищевой гиперчувствительности, обсуждение полученных данных, коррекция статьи

Березовская К.В. – консультация пациентов, клинический контроль

Статья получена: 30.10.2018. Статья принята: 21.08.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 30.10.2018. Accepted: 21.08.2019. Published: 26.10.2019.