

Est-ce que les peptides découverts dans les urines de patients autistes peuvent expliquer la pathophysiologie de l'autisme ?

Reichelt K-L MD. PhD and Knivsberg A-M*PhD.

Institute of Pediatric Research, Univ. of Oslo, Rikshospitalet , N-0027 Oslo;

*Centre for Reading Research, N-4091 Stavanger , Norway.

Correspondance : KL Reichelt MD PhD. Inst. of Pediatric Res. Univ of Oslo.

Rikshospitalet ,N-0027 ,Oslo ,Norway.

Fax: + 47 23 07 27 80 Phone + 47 23 07 29 85. E mail : K.L.Reichelt@klinmed.uio.no

Titre : Peptides et autisme

Mots clé : Peptide, autisme, exorphines, captage de la sérotonine, peptidase

Résumé :Objectif : des peptides à action opioïde dérivés des protéines alimentaires (exorphines) ont été trouvés dans les urines de patients autistes. Cet exposé fondé sur nos travaux est présenté pour essayer de montrer que des exorphines pourraient expliquer de nombreux signes et symptômes faisant partie des troubles autistiques.

Conclusion : les données présentées forment la base d'un modèle de l'autisme dans lequel nous suggérons que des exorphines et des modulateurs du recaptage de la sérotonine sont des éléments clé dans le développement de l'autisme. Ceci pourrait être du à une déficience génétique concernant au moins deux ou plusieurs peptidases ou des protéines régulant l'activité de ces peptidases.

Introduction

Plusieurs laboratoires ont trouvé une augmentation des peptides urinaires (Fig 1 - 3) dans l'autisme(tableau 1) et certains de ces peptides sont des exorphines(Reichelt et al 1991; Shattock et al 1990;Israngkun et al 1986; Cade et al 1999; Shanahan et al 2000).

Leur structure précise a été obtenue par fragmentation et spectrométrie de masse (Shanahan et al 2000). La présence de rares exorphines contenant des acides aminés de la série D a été aussi confirmée par la même équipe. Par ailleurs une augmentation de substances opioïdes a été trouvée dans le sérum et le liquide cérébro-spinal (LCR) (Gillberg et al 1985; leBoyer et al 1994),certaines d'entre elles étant des casomorphines d'origine bovine(Reichelt et al 1991; Cade et al 1999; Shanahan et al 2000). Le moment semble venu de confronter ces données avec les symptômes de l'autisme, et d'essayer d'expliquer les symptômes et les signes de l'autisme tels qu'ils sont énumérés dans le Tableau 2.

1. Indifférence sociale :

Le symptôme cardinal des syndromes autistiques est l'indifférence sociale et l'attitude distante. Panksepp a démontré que les opioïdes inhibent les liens sociaux(Panksepp et al 1978), et a trouvé que des opioïdes comme la casomorphine, provoquent une indifférence sociale et une disparition des appels de détresse chez les animaux nouveau-nés(Panksepp et al 1978). Les casomorphines trouvées dans les urines de patients autistes, aussi bien que les gliadinomorphines, glutenmorphines, deltorphines et dermorphines (Shanahan et al 2000, Reichelt

et Reichelt 1997; Reichelt et al non publié) pourraient ainsi expliquer l'indifférence sociale comme un effet chronique d'un excès d'opioïdes.

L' injection dans les ventricules cérébraux d'opioïdes isolés des urines (Hole et al 1979), et de casomorphine 1-7 en injection IV à des rats, induisent des effets immédiats typiques et similaires (Sun and Cade 1999), allant d'un comportement moteur explosif, une analgésie à une catatonie plus tardive. De tels changements aigus sont aussi constatés lorsque des drogues opioïdes sont utilisées, et pourraient expliquer les périodes d'hyperactivité, d'agressivité et les comportements émotionnels bizarres.

De plus, les exorphines passent la barrière hémato-encéphalique (BHE)(Ermish et al 1983; Nyberg et al 1989), et sont extrêmement psychogènes comme il a été constaté lors de psychose post-partum(Lindstrøm et al 1984).

L'exposition de la BHE aux opioïdes pendant le début de la croissance chez les rats, altère de façon permanente la perméabilité de ces membranes aux opioïdes (Banks et al 1996).

Il a été montré que les exorphines ont une relation dose-effet qui peut se représenter selon une courbe en forme de cloche (Reichelt et Reichelt 1997), et ceci pourrait bien expliquer la variété des réponses à la naloxone ou à la naltrexone, allant de bonne à un effet nul voire même une aggravation (Capbell et al 1996).

2. Manque d'accoutumance :

Si la conductance cutanée palmaire est mesurée chez des enfants autistes, elle fluctue au repos beaucoup plus que chez les enfants témoins, et la plupart montrent une réaction exagérée à une stimulation auditive avec une très faible accoutumance (Bernal et Miller 1970).

Ceci indique une augmentation de l'éveil sensoriel et autonome du système nerveux central (SNC) et/ ou une réaction d'inhibition insuffisante (manque d'habituation) (Mednick et al 1974). Le manque d'habituation pourrait causer l'évitement de nouveaux stimuli et ainsi une forte préférence pour la monotonie et les rituels (Mednik et al 1974).

La sérotonine (5HT) est un candidat possible pour cette réaction d'inhibition et cette habituation.

Nous avons trouvé à partir des urines de personnes autistes, un peptide (pyroGlu-Trp-GlyNH₂) qui augmente le captage de la sérotonine dans les plaquettes sanguines (Pedersen et al 1999) et dans les synapses du SNC (en préparation).

L'augmentation de la sérotonine plaquettaire est un élément souvent rapporté dans l'autisme (Rogeness et al 1992). PyroGlu-Trp-GlyNH₂ augmente aussi le captage de la sérotonine dans les cellules CHO (Chinese Hamster Ovary) dans lesquelles on a introduit le gène du transporteur humain de la sérotonine (Kelle et al 1997).

Les plaquettes sont un modèle pharmacologique très utilisé pour l'étude du captage de la sérotonine au niveau synaptique. Il est bien connu que des états hypo-sérotoninergiques comme lors de syndrome carcinoïde, provoquent des réponses sensorielles excessives et aussi un manque d'habituation, des problèmes de sommeil et un comportement de type impulsif.

Il est raisonnable de penser que ce manque d'habituation et cette réaction exagérée aux stimuli sensoriels peut causer une réaction de retrait par rapport à ces stimuli et l'insistance pour la monotonie (Mednik et al 1974).

3 et 4. Comportement répétitif et stéréotypé :

Ces comportements sont aussi sous la dépendance du manque de réaction d'inhibition (habituation), que l'on a vue plus haut. Cependant, une augmentation des exorphines, ce qui inhibe

le captage de la dopamine dans les synaptosomes, provoque une hyper-fonction dopaminergique in vivo (Hole et al 1979). Un hyper-fonctionnement dopaminergique, causé par une stimulation par les amphétamines chez l'animal, est caractérisé principalement par des stéréotypies.

Cette hyper-activité dopaminergique pourrait, de plus, être accentuée par une diminution simultanée de l'activité sérotoninergique, car c'est le rapport entre dopamine et sérotonine qui semble important (Rogeness et al 1992) dans différentes aires cérébrales.

Le manque d'habituation est démontrée par les modifications des potentiels évoqués auditifs au niveau du tronc cérébral (Rosenblum et al 1980) et la diminution du nystagmus post-giratoire dans l'autisme infantile précoce (Ritvo et al 1969). Ceci pourrait expliquer pourquoi de nombreux enfants autistes sont fascinés sans fin par des mouvements giratoires et montrent une grande habilité à faire tourner de nombreux objets et si possible eux-mêmes.

5. Augmentation de l'incidence de l'épilepsie avec l'âge :

Chez les enfants ordinaires la fréquence des crises d'épilepsie diminue avec l'âge. Chez les enfants autistes on voit au contraire une augmentation de l'épilepsie et des anomalies à l'EEG, et à l'âge de 20 ans environ 1/4 à 1/3 des patients montrent des modifications de l'EEG et/ou de l'épilepsie (Dekin et Macmahon 1979).

La fréquence de l'épilepsie est augmentée dans la maladie coeliaque (Gobbi et al 1992; Chapman et al 1978), et une augmentation de la sécrétion de peptides urinaires dont des peptides opioïdes a été retrouvée dans la maladie coeliaque (Reichelt et al 1998).

Dans un groupe d'enfants avec des troubles autistiques et présentant un sécrétion urinaire de peptides nous avons constaté une diminution inattendue des crises d'épilepsie lors d'un régime alimentaire strict, suivie par une réduction du traitement médicamenteux (Reichelt et al 1990). Une rechute désastreuse (status epilepticus) survint sur un des ces enfants quand le régime fut interrompu. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les exorphines et d'autres opioïdes ont des propriétés convulsivantes (Siggins et al 1986) et modifient aussi le phénomène d'embrasement. Il a été, de plus, rapporté que l'exposition au gluten d'enfants coeliaques de moins de 7 ans après un régime sans gluten d'un an, induisait des anomalies durables de l'EEG chez 72% de ces enfants (Paul et al 1985).

Etant donné les effets démontrés des exorphines sur le SNC soulignés plus tôt, il est raisonnable de penser que les exorphines pourraient expliquer à la fois les tendances à l'épilepsie et les anomalies trouvées à l'EEG. Des données non publiées indiquent que la casomorphine 1-4 amide est d'un intérêt particulier pour l'épilepsie dans l'autisme (en cours d'étude).

6. Modifications trophiques :

Ces modifications ne sont pas très nettes, mais avec les techniques d'imagerie IRM, on peut mesurer une réduction de la taille du tronc cérébral et particulièrement une diminution du volume cérébelleux (Hashimoto et al 1992; Courchesne et al 1994). On a rapporté aussi une diminution

de volume du corps calleux (Egaas et al 1995). Toutefois, environ 6-12% montrent une hypertrophie (Piven et al 1996). De plus, une diminution de volume des aires pariétales a été retrouvé dans 70-80% des cas et une augmentation du cortex pariétal dans 10% des cas. Les opioïdes inhibent la maturation cérébrale (Zagon et McLaughlin 1987), et ceci concerne spécialement la maturation des dendrites et des axones (Hauser et al 1989). Bien que la sélection

par apoptose se fasse de façon continue (la prolifération l'emporte sur l'apoptose habituellement durant les 5 premières années de la vie), les effets des opioïdes seraient principalement de type inhibiteur.

Toutefois, lors de la vaste sélection (une phase pendant laquelle la disparition de synapses et de cellules prédomine) qui survient à la puberté, 30% du réseau neuronal est supprimé (Feinberg 1982/83). Les opioïdes inhibent la sélection (Tenconi et al 1991), et cette inhibition se traduit par une augmentation de volume.

Le fait que dans l'ataxie liée au gluten on retrouve principalement des modifications au niveau cérébelleux (Hadjivassiliou et al 1998) est à rapprocher des modifications cérébelleuses retrouvées de façon dominante dans l'autisme (Courchesne et al 1994). Dans l'ataxie myoclonique progressive de la maladie coeliaque on retrouve des lésions cérébelleuses (Bathia et al 1995) et les lésions cérébelleuses ont été bien établies dans la maladie coeliaque (Kinney et al 1982).

Il n'est pas surprenant que les symptômes, les aptitudes, la morphologie des EEG soient si variées dans les syndromes autistiques si on tient compte de certains faits : la variété des substances

opioïdes (comme on le voit pour les casomorphines), leur différents taux possibles ainsi que la relation dose/effet de type "courbe en cloche" (Reichelt et al 1991; Reichelt et Reichelt 1997). L'injection IV de casomorphine 1-7 induit une immunoréactivité vis à vis de l'antigène Fos dans le cerveau du rat (Sun et al 1999), ce qui fait le lien entre l'opioïde et l'effet trophique. Les études post-mortem indiquent, de plus, une perturbation des effectifs cellulaires et des relations dans le "neuropil" (Bauman 1991; Ritvo et al 1986) et c'est ce que l'on pouvait attendre de l'examen de cerveaux exposés à l'action d'opioïdes. Les dommages occasionnés aux cellules dépendent de façon critique de leur phase de croissance et leur état.

Une diminution de la sérotonine fonctionnelle dans la fente synaptique à cause de l'augmentation du captage pourrait de même interférer avec la maintenance et la formation de synapses (Chen et

al 1980), et le blocage de la disponibilité en sérotonine au niveau cortical par la para-chlorophénylalanine pourrait ainsi réduire la densité synaptique d'au moins 30%.

7- Variation du niveau d'analgésie :

Les enfants autistes peuvent se blesser eux-mêmes délibérément ou lors d'accidents, sans ressentir apparemment beaucoup de douleur (Frith 1988). Cette analgésie varie d'un jour à l'autre et au cours d'une même journée.

Le niveau d'exorphines dépendrait de l'apport alimentaire et en conséquence celui-ci varie sur une période de 24 heures et d'un jour à l'autre. Le comportement d'automutilation est un des signes les plus fréquents améliorés par les antagonistes des opiacés (Campbell et al 1996), renforçant la possibilité d'un rôle des exorphines dans ces troubles.

La fluctuation continue du niveau des exorphines dépend de l'alimentation et pourrait probablement prévenir une modification permanente du nombre et de la sensibilité des récepteurs aussi dans le système dopaminergique, malgré une hyperactivité dopaminergique par moments.

8. Problèmes de langage :

Les enfants avec des troubles autistiques montrent des déficits du langage allant du mutisme à un langage facile mais manquant souvent de prosodie. Des anomalies grammaticales comme l'inversion pronominales sont bien connues et beaucoup tendent à utiliser un langage répétitif.

Pour comprendre une série de mots il est nécessaire de les garder dans la mémoire de travail, et le mécanisme responsable du traitement d'un mot doit être suffisamment inhibé pour laisser la place pour le mot suivant.

Du fait du manque d'habitude les mots ont tendance à se chevaucher et être pris pour un ensemble absurde de sons ou de mots. Des patients que nous avons traité par un régime, nous ont dit que c'était exactement ainsi avec les phrases. Elles ressemblaient à des séries de sons qui se chevauchaient et en conséquence n'avaient pratiquement pas de sens.

9. Formes précoces et retardées d'autisme :

Nous absorbons tous des peptides (Gardner 1994) et des protéines (Gardner 1994, Husby et al 1984) au niveau de l'intestin et l'inhibition des peptidases augmente le captage des peptides (Mahe et al 1984). Ainsi des protéines d'origine alimentaire ont été retrouvées dans le lait maternel (Kilshaw and Cant 1984; Axelsson et al 1986).

Les nourrissons allaités ingèrent aussi des casomorphines humaines dans le lait maternel normal. Il est donc concevable qu'un manque de peptidases ou une inhibition de ces peptidases puisse causer des problèmes avant la naissance et de façon plus nette après la naissance dans les cas d'autisme précoce.

Des problèmes de perméabilité intestinale anormale pourraient être en relation avec des formes d'autisme ou de TED plus tardives en entraînant une surcharge post-prandiale de peptides. Une étude récente sur l'hyperplasie iléale lympho-nodulaire chez des enfants TED (Wakefield et al 2000), serait en faveur d'un tel mécanisme.

Les données publiées initialement ont été largement étendues avec essentiellement les mêmes résultats. Des lésions intestinales hautes en relation avec l'autisme ont aussi été rapportées (Horvath et al 1999), et une augmentation de la perméabilité intestinale pour des molécules de faible poids moléculaire est connue dans l'autisme (D'Eufemia et al 1996).

Il a été suggéré que dans ce dernier cas, ceci pourrait être dû à une sulfatation insuffisante des aminoglycanes dans l'intestin (Waring RH and Ngong 1993), mais des défauts de certaines peptidases ou leur inhibition augmentent aussi le captage intestinal de peptides (Mahe et al 1989).

Un autisme tardif pourrait aussi être causé par l'introduction d'aliments contenant du gluten à partir de six mois et au-delà.

Du fait que la peptidurie est habituellement causée par une diminution de l'activité de peptidases (Watanabe et al 1993), nous proposons que la prédisposition génétique pourrait probablement concerner des peptidases ou des protéines contrôlant des peptidases (Persico et al 2000), et que ceci pourrait être le défaut final commun aux syndromes autistiques.

Un manque complet d'enzyme entraînerait une forme précoce ou néo-natale, tandis qu'une augmentation de la perméabilité intestinale pour une raison quelconque, combinée à un niveau réduit d'activité des peptidases entraînerait des formes tardives.

10. Génétique :

Les preuves d'une prédisposition génétique à l'autisme ont été bien documentées (Bailey et al 1995), mais les gènes concernés par ce trouble sont difficiles à isoler.

Nous avons trouvé, ainsi que d'autres, que les enfants autistes peuvent avoir des exorphines de différente longueur de chaîne dans leurs urines (Reichelt et Reichelt 1997). Ceci pourrait indiquer que différentes peptidases dont l'activité se recouvre partiellement ont un fonctionnement déficient dans différentes familles.

La plupart des peptides sont trouvés sous forme de "familles" de différentes longueurs de chaîne.

Des opioïdes avec des longueurs de chaîne différentes auraient des effets biologiques très semblables.

Ainsi la di-amino peptidase IV pourrait être une de ces enzymes impliquées (Shaw communication personnelle), parce que les casomorphines commencent avec Tyr-Pro (Y-P), et la di-amino peptidase IV est aussi connue comme étant une protéine porteuse de l'adénosine déaminase.

Cette déaminase pourrait être impliquée dans certains cas d'autisme infantile (Persico et al 2000).

Une autre enzyme pourrait être la Tyr et Pro-aminopeptidase. Pour les peptides isolés, voir tableau 3. Leur isolement a été largement décrit (Reichelt et al 1991, Shanahan et al 2000). Un parallèle à notre modèle est le syndrome de Fölling. Même si la phényl-cétonurie est une maladie génétique, elle n'aurait jamais pu se manifester dans un environnement protéique contenant très peu de phényl-alanine.

Nous pensons qu'une capacité enzymatique limitée (peptidases) pourrait devenir manifeste seulement si elle est soumise à une surcharge d'origine alimentaire en peptides et/ou en protéines causée par une absorption augmentée.

Une diminution de la capacité à dégrader les peptides pourrait ainsi expliquer des données récemment publiées concernant l'augmentation de neuropeptides et de neurotrophine dans le sang de nouveaux-nés autistes (Nelson et al 2001). Du fait que les peptides en général sont de bons inhibiteurs de peptidases (LaBella et al 1985) ceci pourrait donner un sens à cette observation d'une augmentation de peptides.

11. Modifications immunitaires :

La régulation du système immunitaire par les neuropeptides, a été passée en revue par Singh (1995). Les exorphines réagiraient avec les récepteurs opioïdes sur les cellules immuno-compétentes, et un effet de la naltrexone (antagoniste des opioïdes) sur les lymphocytes CD4/CD8 a été trouvé dans l'autisme (Scifo et al 1996).

Une série de peptides immunomodulateurs sont aussi formés à partir de la caséine (Migliore-Samouet et Jollet 1988). Ainsi une diminution de la réactivité lymphocytaire chez les enfants autistes (Stubbs et al 1977) pourrait aisément s'expliquer par une augmentation des opioïdes et des exorphines en particulier.

Une augmentation de la fréquence d'anticorps de type IgA contre la gliadine, le gluten et la caséine, dans le sérum, a été trouvée (Reichelt et al 1990, Reichelt et al 1991; Lucarelli et al 1995 ; Cade et al 2000), habituellement sans augmentation des anticorps anti-endomysium. Ces modifications immunitaires reflètent une augmentation de l'absorption protéique chez environ le tiers des enfants autistes et indique encore une étiologie alimentaire.

Il est aussi intéressant de noter que les anticorps IgA dirigés contre la gliadine et le gluten ont une très forte affinité pour les structures des vaisseaux sanguins cérébraux (Pratesi et al 1998) et pourraient perturber la perméabilité de ces vaisseaux.

12. Troubles du sommeil :

Ceux-ci sont communs dans la première enfance chez les enfants autistes. Des coliques et des cris avec un apparent manque de fatigue malgré de courtes siestes sont fréquemment rapportés.

Le retrait du lait de vache de l'alimentation de la femme allaitante ou de l'alimentation de l'enfant s'il en consomme, a un effet très positif sur ces états (Kahn et al 1987).

Des anticorps anti-beta-lactoglobuline ont été retrouvés chez des enfants qui présentaient des

difficultés de l'endormissement (Kahn et al 1987). Si les opioïdes sont impliqués et étant donné le rapport particulier entre leur dose et leur effet (courbe en cloche), on peut s'attendre à tout type de problème intestinal ou de sommeil surtout que l'on sait que l'enkephaline est un médiateur au niveau des cellules ganglionnaires de la muqueuse.

Par conséquent notre hypothèse supposant que les exorphines sont des éléments-clé dans le développement de l'autisme, est renforcée aussi par ces données à propos des enfants qui ne dorment pas. Une baisse de la sérotonine au niveau de la fente synaptique pourrait aussi renforcer cet état.

13. Augmentation de l'incidence chez les immigrants de certains pays :

Les immigrants venant de pays en voie de développement et s'installant en Europe de l'Ouest ont un taux de syndromes autistiques supérieur (Gillberg et Gillberg 1996). Généralement ces familles se déplacent d'une zone où l'on consomme peu de blé et peu de laitages vers une zone avec une consommation extrêmement élevée de blé et de laitages. Ces aliments sont aussi ceux qui coûtent le moins cher en Europe de l'Ouest et aux USA. Si notre modèle est correct il fallait s'attendre à de telles données.

14. Effet du régime sans gluten et /ou sans caséine.

Il a été difficile de conduire des expériences diététiques contrôlée en double aveugle, parce que le groupe contrôle a tendance à arrêter l'expérience après plusieurs semaines sans changement.

Toutefois, des tests ont été faits avant et après l'intervention sans savoir quel enfant était sous régime (Reichelt et al 1990, Reichelt et al 1991, Lucarelli et al 1995, Knivsberg et al 1995, Whiteley et al 1999, Cade et al 2000).

Il a été avancé qu'une partie des modifications observées pouvaient être dues à un effet placebo. On devrait tenir compte du fait que la période d'observation dans l'une de ces études durait quatre ans (Knivsberg et al 1995) (Tableau 4). Il n'a pas été observé d'effet placebo d'une telle durée.

D'autres études ont été faites : une enquête familiale par questionnaire (Rimland 1988) et aussi une petite étude sociologique (Shattock 1995), de même que de nombreuses observations anecdotiques mais toutes similaires. Tous ces éléments concordent sur un point : le régime apporte une amélioration du processus pathologique.

Comme on pourrait s'y attendre, l'intervention diététique a un effet d'autant meilleur que l'enfant est jeune et que le problème est récent. Des témoignages spontanés mentionnant des symptômes de type abstinence ou de sevrage renforcent l'idée d'un effet probable du régime. Des exanthèmes, du prurit, une modification des pupilles, de la diarrhée et des problèmes de sommeil apparaissent transitoirement font partie de ces manifestations.

Modèles animaux :

On peut montrer les effets d'un excès de gluten dans la ration, notamment des modifications psychophysiologiques en utilisant des animaux qui habituellement ne mangent pas de gluten. En nourrissant des chats avec du gluten on provoque d'importantes modifications des monoamines, du profil d'acides aminés et de la dopamine beta-hydroxylase dans le cerveau de ces chats (Thibault et al 1988).

Ainsi le gluten peut manifestement avoir des effets sur le SNC.

Des rats nourris avec une ration enrichie en gluten et soumis à des épreuves de réflexes conditionnés montrent une sensibilité accrue à des stimuli redondants habituellement ignorés

(Harper et al 1997). Cette inaptitude à différencier des stimuli essentiels et non-essentiels est typique des états autistiques (Frith 1988).

Conclusion :

Notre modèle, relativement simple, est fondé sur les données exposées ci-dessus. On pense que le défaut génétique est à rechercher en premier lieu au niveau de deux ou de plusieurs peptidases ou de protéines régulant ces peptidases.

Une augmentation de la perméabilité intestinale et une augmentation de la quantité de peptides, qui peut aussi provenir d'un défaut de peptidases, dépasserait des capacités de dégradation protéique déjà limitées faisant passer l'individu d'un état limite à un état clinique caractérisé.

Nous pensons que les enzymes impliquées font partie de plusieurs familles d'enzymes (peptidases), parce que les opioïdes isolés dans les urines diffèrent d'un patient à l'autre par la longueur de leur chaîne.

Les exorphines et les autres peptides isolés peuvent expliquer une grande partie de la symptomatologie des syndromes autistiques avec les manifestations variées.

L'exposition d'animaux à des peptides très tôt dans leur développement peut avoir des effets à long terme, détectables au delà de trois mois chez le rat (Gschanes et al 1999). Ceci est probablement dû aux effets trophiques sur le cerveau, et tous les peptides devraient faire l'objet d'une attention soutenue. Ceci concerne aussi la sécrétine.

Références :

Axelsson I, Jacobsson I, Lindberg T & Bendeiksson B (1986) Bovine beta- lactoglobulin in human milk .Acta Paediat Scand, 75, 702-707

Bailey A, Le Coney A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M.(1995). Autism is a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. Psychological Med. 25: 63-77

Banks WA, Kastin AJ, Harrison LM & Zadina JE(1996). Perinatal treatment of rats with opiates affects the development of blood-brain barrier transport system PTS-1. Neuroendocrinol and Teratol. 18, 711-715

Bauman M.(1991)Microscopic neuroanatomic abnormalities in autism. Pediatrics , 87 (Suppl): 791-796

Bernal ME & Miller WH(1970) Electrodermal and cardiac responses of schizophrenic children to sensory stimuli. Psychophysiol. 7, 155-65.

Bhatia KP, Brown P, Gregory R, Lennox GG, Manji H, Thompson PD, Ellison DM & Marsden CD (1995). Progressive myoclonic ataxia associated with coeliac disease. The myoclonus is of cortical origin, but the pathology is in the cerebellum. Brain 118, 1087-1093

Bøhlen P, Castillo F, Ling R & Guillemin R.(1980)An efficient procedure for the separation of peptides from amino acids and salts. Int J peptide Prot Res. 16, 306-310

Cade RJ, Privette RM, Fregly M, Rowland N, Sun Z, Zele V, Wagemaker H, Edelman C(1999) . Autism and schizophrenia: Intestinal disorders. Nutritional Neuroscience, 2, 57-72

Campbell M, Schopler E, Cueva JE & Hallin A(1996). Treatment of Autistic Disorder J Am Acad Child Adolesc Psychiat. 35, 34-143

Chapman RWG, Laidlow JM, Colin-Jones D, Eade OE & Smith C L(1978). Increased prevalence of epilepsy in coeliac disease. Brit. Med J . 22 July, 250-251

Chen L, Hamaguchi K & Ogawa M.(1980) pCPA reduces both monoaminergic

afferents and non-monoaminergic synapses in the cerebral cortex. *Neuroscience Res* 19, 111-115.

Courchesne E, Townsend J & Saitoh, O(1994) The brain in infantile autism: Posterior fossa structures are abnormal. *Neurology*. 44, 214-23.

D'Eufemia P, Celli M, Finnochiario R, Pacifico L, Viozzi L, Zaccagnini M, Cardi E, Giardini O. (1996) Abnormal intestinal permeability in children with autism. *Acta Paediatr* 85, 1076-1079

Deykin EY& MacMahon N.(1979) The incidence of seizures among children with autistic symptoms . *Am J Psychiat*. 136, 1310-1312

Egaas B, Courchesne E & Saitoh (1995). Reduced size of corpus callosum in autism. *Archives Neurol*. 52, 794-801

Ermisch A, Brust P, Kretzchmar R & Buhle H-J.(1983) On the blood-brain barrier to peptides (3H) beta-casomorphin-5 uptake by eighteen brain regions in vivo. *J Neurochem*, 41, 1229-33

Feinberg I.(1982/1983) Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence? *J Psychiat Res*. 17, 319-334

Frith U.(1988) Autism: possible clues to the underlying pathology. In L Wing (Ed) *Aspects of Autism: Biological Research*. London: Gaskell, The National Autistic Society. pp19-30

Gardner, M.L.G (1994) Absorption of intact proteins and peptides. In LR Johnson (Ed) *Physiology of the Gastrointestinal tract*. 3rd edit. New York: Raven Press. pp1795-1820

Gillberg C, Terenius L & Lønnerholm G.(1985) Endorphin activity in childhood psychosis. *Arch Gen Psychiat*. 42, 780-783

Gillberg IC & Gillberg C.(1996) Autism in immigrants: A population-based study from Swedish rural and urban areas. *J Intell. Disability Res*. 40, 24-31

Gobbi G, Bouquet F, Gicco L, Lambertini A, Tassinari CA, Ventura L & Zaniboni, M.G(1992). Coeliac disease, epilepsy, and cerebral calcifications. *Lancet* 340, 439-443

Gschanes A & Windisch M(1999). Early postnatal treatment of peptide preparations influences spatial navigation of young and adult rats. *Behav Brain Res* 100, 161-166

Hadjivassiliou M, Grünewald RA, Chattopadhyay AK, Davies-Jones GAB, Gibson A, Jarratt JA, Kandler RH, Lobo A, Powell T & Smith CML.(1998) Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *Lancet*, 352, 1582-1585

Harper DN, Nisbet RH & Siegert RJ.(1997) Dietary gluten and learning to attend to redundant stimuli in rats. *Biol Psychiat*. 42, 1060-1066

Hashimoto T, Tayama M, Masahito, M, Sakorama N, Yoshimoto T & Murakawa K.(1992) Reduced brain stem size in children with autism. *Brain and Development*. 14, 94-97

Hausser KF, McLaughlin PJ & Zagon IS(1989). Endogenous opioid systems and the regulation of dendritic growth and spine formation. *J Compar Neurobiol*. 281, 13-22

Hole K, Bergslien AA, Jørgensen H, Berge O-G, Reichelt KL & Trygstad OE.(1979) A peptide containing fraction from schizophrenia which stimulates opiate receptors and inhibits dopamine uptake. *Neuroscience*, 4, 1139-1147.

Horvath K, Papadimitriou JC, Rabsztyrn A, Drachenberg C & Tildon JT.(1999) Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder. *J Pediatr*. 135, 559-563

Husby S, Jensenius JC & Cant, A.J.(1984) Passage of un-degraded dietary antigen into the blood of healthy adults. *Scand J Immunol*. 22, 83-92

Israngkun P, Newman HA, Patel ST, Duruibe VA & Abou-Issa, H.(1986) Potential biochemical markers for infantile autism. *Neurochem Pathol* 5, 51-70.

Kahn A, Rebuffat, E, Blum D, Casimir G, Duchateau J, Mozin J & Jost R.(1987) Difficulty in initiating sleep and maintaining sleep associated with cow's milk allergy in infants. *Sleep*, 10, 116-121

Keller J.(1997) Impact of autism-related peptides and 5-HT system manipulations on cortical development and plasticity. Ist Annual report for the EU project BMH4-CT96-0730. pp1-10

Kilshaw PJ & Cant AJ.(1984)The passage of maternal dietary protein into human breast milk. *Internat Arch Allergy Appl Immunol.* 75, 8-15

Kinney HC, Burger PC, Hurwitz BJ, Humans JC & Grant JP(1982). Degeneration of the central nervous system associated with celiac disease. *J Neurol Sci.* 53, 9-22

Knivsberg A-M, Reichelt KL, Nødland M & Høien T.(1995)Autistic syndromes and diet: a follow up study. *Scand J Educational Res.* 39, 223-236.

LaBella FS, Geiger JD & Glavin GB (1985) Administrated peptides inhibit the degradation of endogenous peptides, the dilemma of distinguishing direct from indirect effects . *Peptides* 6: 645-660

LeBoyer M, Bouard MP, Racasens C, Philippe A., Guilloud-Bataille M, Bondoux D, Tabuteau F, Dugas M, PankseppJ and Launay, J-M. (1994) Difference between plasma N-and C-terminally directed beta-endorphin immunoreactivity in infantile autism. *Am J Psychiat.* 15, 1797-1801

Lindstrøm LH, Nyberg F, Terenius L, Bauer K, Besev G, Gunne LM, Lyrenaa S, Willdeck-Lund G & Lundberg G B(1984) CSF and plasma beta-casomorphin-like opioid peptides in post-partum psychosis. *Am. J. Psychiat.* 141, 1059-1066

Lucarelli S, Frediani T, Zingoni AM, Ferruzzi F, Giardini O, Quintieri F, Barbato M, D'Eufemia P & Cardi E. (1995) Food allergy and infantile autism. *Panminerva Med.* 37, 137-141

Lucassen PLB, Assendelft WJJ, Gubbels JW, vanEik JTM, vanGeldra WJ & Knevitshing Neven A(1998). Effectiveness of treatments for infantile colic: a systematic review. *Brit Med J.* 316, 1563-1568

Mednick SA, Schulsinger F, Bell B, Venables PH & Christiansen KO(1974). Genetics, environment and psychopathology. North Holland Press.

Mahe S, Tome D, Dumontier AM & Desjeux, JF.(1989) Absorption of intact morphiceptin by diisopropylfluorophosphate-treated rabbit ileum. *Peptides*, 10, 45-52

Migliore-Samour D & Jollet P.(1988) Casein, a prohormone with immunostimulating role in the newborns? *Experientia* , 44, 88-93

Nelson KB, Grether JK, Croen LA, Dambrosia JM, Dickens BF, Jelliffe LL, Hansen RL & Phillips TM. (2001) Neuropeptides and neurotrophins in neonatal blood of children with autism and mental retardation. *Ann Neurol* 49, 597-606

Nyberg F, Liberman R, Lindstøm LH, Lyrenaa S, Koch G & Terenius L. (1989) Immunoreactive beta-casomorphin-8 in cerebrospinal fluid from pregnant and lactating women: Correlation with plasma level. *J Clin Endocrinol Metab.* 68, 283-289

Panksepp J, Normansell L, Sivily S, Rossi J & Zolovick AJ. Casomorphins reduce separation distress in chickens. *Peptides* 1978; 5: 829-831

Paul K-D, Henker J, Todt A & Eysold R(1985). EEG-Befunde in Zoeliaki- kranken Kindern in Abhängigkeit von der Ernährung. *Z Klin Med.* 40, 439-443

Pedersen OS, Ying L & Reichelt KL(1999). Serotonin uptake stimulating peptide found in plasma of normal individuals and in some autistic urines. *Peptide Res.* 53, 641-646

- Persico AM, Militerni R, Brvaccio C, Schneider C, Melmed R, Trillo S, Montecchi F, Palermo MT, Pascucci T, Puglisi-Allegra S, Reichelt KL, Conciatori M, Baldi A & Keller F (2000) Adenosine deaminase alleles and autistic disorders: case-control and family-based association studies. *Am J Med Genetics*, 96, 784-790
- Piven J, Arndt S, Bailey J & Andreasen N (1996) Regional brain enlargement in Autism: A magnetic resonance imaging study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiat*. 35, 530-536
- Pratesi R, Gandolfi L, Friedman H, Farage L, DeCastro CAM & Catassi C. (1998) Serum IgA antibodies from patients with coeliac disease react strongly with human brain blood-vessel structures. *Scand J gastroenterol*. 33, 817-821
- Reichelt KL, Ekrem J & Scott H. (1990) Gluten, milk proteins and autism: dietary intervention effects on behavior and peptide secretion. *J Appl Nutrition* 42, 1-11
- Reichelt KL, Knivsberg A-M, Lind G & Nødland M. (1991) Probable etiology and possible treatment of childhood autism. *Brain Dysfunct* 4, 308-319
- Reichelt WH & Reichelt KL. (1997) The possible role of peptides derived from food proteins in diseases of the nervous system. In Gobbi G et al. (Eds) *Epilepsy and other Neurological Disorders in Coeliac Disease*. London: John Libbey & Comp. pp 225-235
- Reichelt KL, Pedersen OS, Liu Y, Knivsberg AM & Nødland, M (1997). Possible role of peptides, exorphines and serotonin uptake stimulating peptides in autism. In: *Living and learning with Autism* (Edit: The Autism Res Unit). Sunderland: University of Sunderland. pp 221-231.
- Reichelt WH, E J, Stensrud MB & Reichelt KL (1998). Peptide excretion in Celiac disease. *J Pediatric Gastroenterol and Nutr*. 26, 305-309
- Rimland B. (1988) Comparative effects of treatment on child's behaviour. *Autism Res Rev*. 2 supplement 34B.
- Ritvo ER, Ornitz EM, Eviatar A, Markham CH, Brown M & Mason A (1969). Decreased post-rotatory nystagmus in early infantile autism. *Neurology*, 19, 653-658
- Ritvo E, Freeman BJ, Scheibel AB, Duong T, Robinson H, Guthrie D & Ritvo A. (1986) Lower Purkinje cell counts in cerebella of four autistic subjects: Initial findings of the UCLA-NSAC autopsy research report. *Am J Psychiat*. 143:, 862-866
- Rogeness GA, Javors MA & Pliszka SR (1992). Neurochemistry and child and adolescent psychiatry. *J Am Acad Child Adolesc Psychiat*. 31, 765-781
- Rosenblum SM, Ariock JR, Krug DA, Stubbs EG, Young NB & Pelson RO. (1980) Auditory brainstem evoked responses in autistic children. *J Aut and Develop Dis* 10, 215-225
- Scifo R, Cioni M, Batticane N, Tirolo C, Testa N & Quattropiani MC. (1996) Opioid-immune interactions in autism: Behavioural and immunological assessment during a double-blind treatment with naltrexone. *Ann Inst Super Sanita* 32, 351-359
- Shanahan MR, Venturini AJ, Daiss JL & Friedman AE. (2000) Peptide diagnostic markers for human disorders. European Patent application. EP 0 969 015 A2 1-44:1-44.
- Shattock P, Kennedy A, Rowell F & Berney T (1990). Role of neuropeptides in autism and their relationship with classical neurotransmitters. *Brain Dysfunct* 3, 328-345
- Shattock R. (1995) Can dietary intervention be used successfully as a therapy for Autism? In *Psychological Perspectives in Autism*. (Edit: Aut Res unit) Sunderland: Sunderland Univ .pp 203-206
- Sigginnis GR, Henriksen SJ, Chavkin C & Gruol D (1986). Opioid peptides and epileptogenesis in the Limbic system: Cellular mechanisms. *Advances in Neurology*. 501-512
- Singh VK. (1995) Neuropeptides as native immune modulators. *Progress in Drug Res*. 45,

10-31

Stubbs EG, Crawford ML, Burger DR & Vandenbark AA.(1977) Depressed Lymphocyte Responsiveness in Autistic children. *J Autism and Childhood Schizophrenia*, 7, 49-55

Sun Z & Cade JR.(1999) A peptide found in schizophrenia and autism causes behavioral changes in rats. *Autism*, 3, 85-95

Sun Z, Cade RJ, Fregly MJ & Privette RM(1999). Beta-casomorphin induces Fos-like immunoreactivity in discrete brain regions relevant to schizophrenia and autism. *Autism* 3, 67-83

Tenconi B, DiGiulio AM, Donadoni ML, Montegazza P & Gorio A,(1991) Perinatal exposure to opiates alters reactive pruning and regeneration of serotonergic neurones. *Brain Dysfunct.* 4, 49-50

Thibault L, Coulon J-F, Roberg J, Craig KA, Meador-Woodruff JH, Goldman R, & Green JF.(1988) Changes in serum amino acids content and dopamine beta-hydroxylase activity and

brain neuro-transmitter interaction in cats fed casein with and without gluten. *J Clin Biochem Nutr.* 4, 209-221

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

Wakefield AJ, Anthony A, Murch SH, Thomson M, Montgomery SM, Davies S, O'Leary JJ, Berelowitz M & Walker-Smith JA(2000) Enterocolitis in Children with Developmental disorders. *Am J. Gastroenterol.* 95, 2285-2295.

Waring RH & Ngong JM.1993) Sulphate metabolism in allergy-induced autism: relevance to the disease etiology. In *Biological perspectives in Autism* (Edit: The Autism Res Unit, Sunderland Univ).pp 25-33

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

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

Zagon IS & McLaughlin PJ.(1987)Endogenous opioid systems regulate cell proliferation in the developing rat brain. *Brain Res.* 412, 68-72.

Acknowledgement: The Seim family foundation is thanked for critical support

TEXT TO FIGURES.

Fig 1: Shows the HPLC separation of peptides from a normal boy, based on the principles published (Bøhlen et al 1980). C₁₈ reverse phase column is used and absorption read at 215 and 280 nm giving us a purity index. That most of the material after hippuric acid is peptidic has been discussed extensively (Reichelt et al 1998), and is based on amino acid release by hydrolysis and also peptidase treatment followed by amino acid analysis.

Fig 2 : The urinary profile from a 5 year old boy with autism. Comparing this with fig 1 the difference is striking. Both runs are based on urine volumes equivalent to 250 nanomoles creatinin.

Fig 3: Another 5 year old boy with the same diagnosis and CARS(Childhood autism rating

scale) score as in fig 2. Notice the different pattern in spite of having the same diagnosis, sex and age. This indicates that different enzyme defects are probably present in different families, but with overlaps.

Table 1: The quantitative aspects of autism in prepubertal children found from 1995 to 1998 from 8 different countries in our lab.

Diagnosis	autism	normal
Age range	2- 14	3-14
N	315	143
Peptide level(mean)	720	346
SD	471	108
95% CI		
Lower value	560	329
Higher	773	365

The units are absorbance units in μm^2 under the UV 215 nm trace of the peaks eluting after hippuric acid, and based on urine volume equivalent to 250 nanomoles creatinin. Only patients that have been diagnosed by certified psychiatrists are included. Ratio of UV 215/ UV 280 was used to check of purity of individual peaks. Many drugs have high UV 280 nm peaks due to aromatic ring structures. The autistic children are different from controls with a $p= 0.001$. Samples from 8 different countries and MD's did not differ statistically indicating that diagnosis has become quite standardized through the use of DSM III to IV.

Table 2: Symptoms and signs to be explained

1. Social indifference
2. Poor habituation
3. Stereotypy and repetitive behaviour
4. Insist on sameness
5. Increasing epilepsy with age
6. Varying trophic changes
8. Language problems
9. Early and late onset subtype
10. Genetic basis
11. Immune changes
12. Sleep disturbances
13. Increased incidence in immigrants
- 14: Effect of diet.
7. Varying analgesia

Table 3: Different compounds found in autism and the frequency of appearance.

Cochromat. HPLC analysis	Aminoacid binding	Receptor binding	Antibody % hydrolysis	Freq.
IAG*	+	+		92
CM (b) 1-8*	+	+	+	85.7
CM 1-3	+	+		27.4
CM (b) 1-4*	+	+	+	41.7
CM 1-4 NH2*	+	+		28.5
CM 1-7*	+	+	+	23.7
Glu M A4*	+	+		66.6
Gli M*	+	+	+	30.9

The preliminary opioid receptor assay was carried out by Prof L Terenius, Stockhom and the immune-assays by prof Dr H Teschemacher from Giessen, who kindly provided us with

antibodies for later work. Only peaks that are statistically larger than in controls are included. CM = Casomorphin , GluM : Glutemorphin . Gli M : Gliadinomorphin. The mass spectra(MS) and the fragmentation (MS/MS) spectra have been identified for urinary componenets and published (5). We identified these by purification as described (1,9) , amino acid analysis after hydrolysis and sequencing (9). Antibody binding to antibodies against casomorphine 1-8 were used (1) as guideline for 1-8 and 1-7. Finally cochromatography with synthetic samples in at least two different HPLC systems was routinely used. Compounds run on MS are marked *.

Table 4: Examples of dietary intervention (1,71)

TEST	INITIAL	1 YEAR	4 YEARS	N	P
SCORE	d-score	d -score			
C-RAVEN:	6.8±2.8	+8.6±2.8	+8.6± 3.2	12	0.005
ITPA:	25.7±5.5	+2.7±2.5	+6.1±2.8	10	0.005
TAFJORD SCHEME:					
1.Social					
interaction	53.7±15.2	+12.1±5.9		14	0.005
2: Language					
	71.0± 15.2	+8.7±6.5		14	0.005
3: Structure					
ability	56.7±17.1	+9,1±5.4		14	0.001
4:Sensory /					
Motor	72.9±12.3	+ 7.2± 4.5		14	0-001
DIPAB:					
A: Social					
	8.5±3.3	-6.1±2.7		14	0.005
Isolation					
B: Bizarre					
traits	5.3±2.2	-5.3±1.22		14	0.005

Notice that Raven C reaches a maximum level after 1 year while Illinois test of psycholinguistic ability (ITPA) improves even more after 4 years, probably reflecting the more complex nature of advanced learning(language). DIPAB = Haracopos scheme: ” Diagnosis of Psychotic Behaviour in Children”). Peptide levels decreased and followed the decrease in symptoms. Tafjord is a Norwegian scheme for registering play, interaction, structural ability and sensory motor behaviour during play. For details see (71).