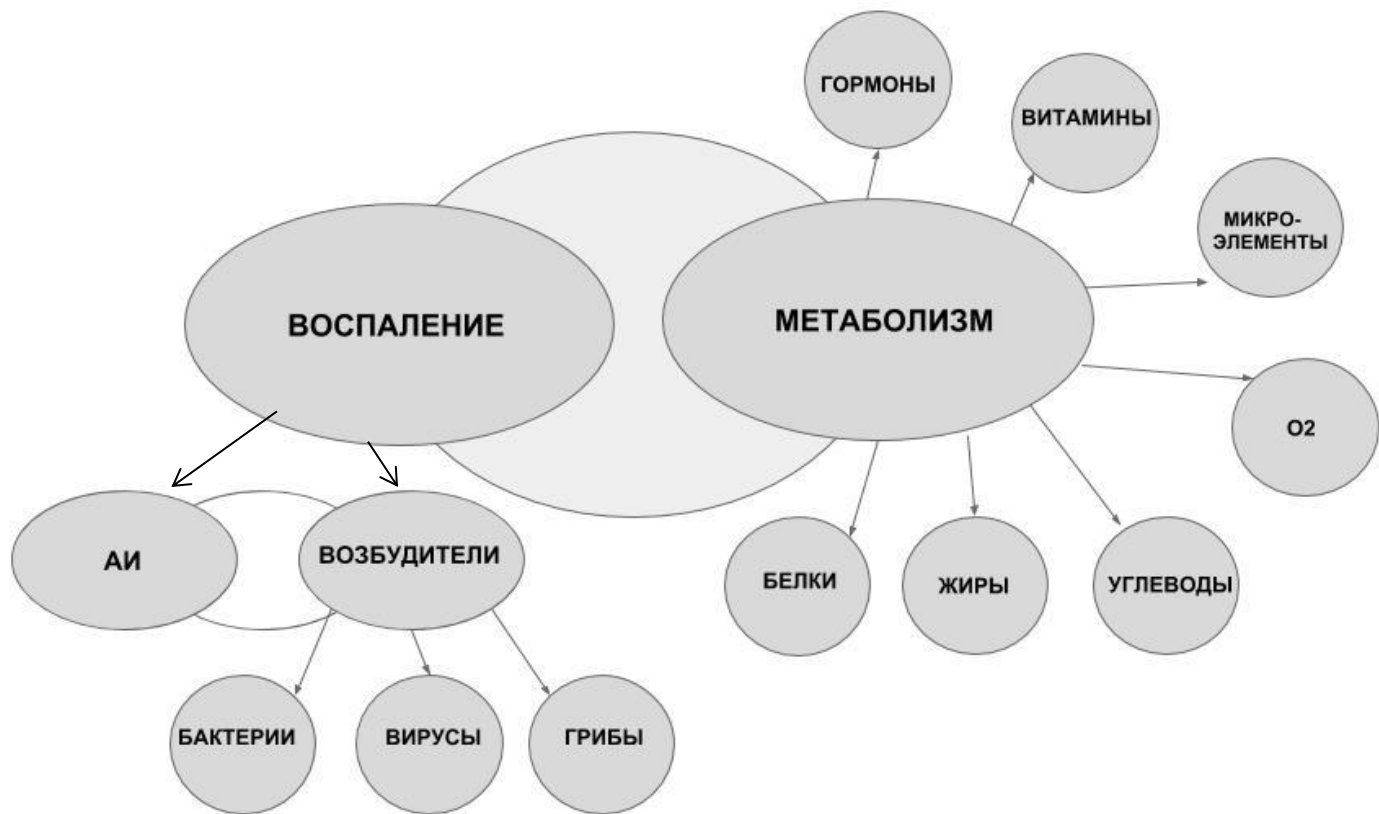


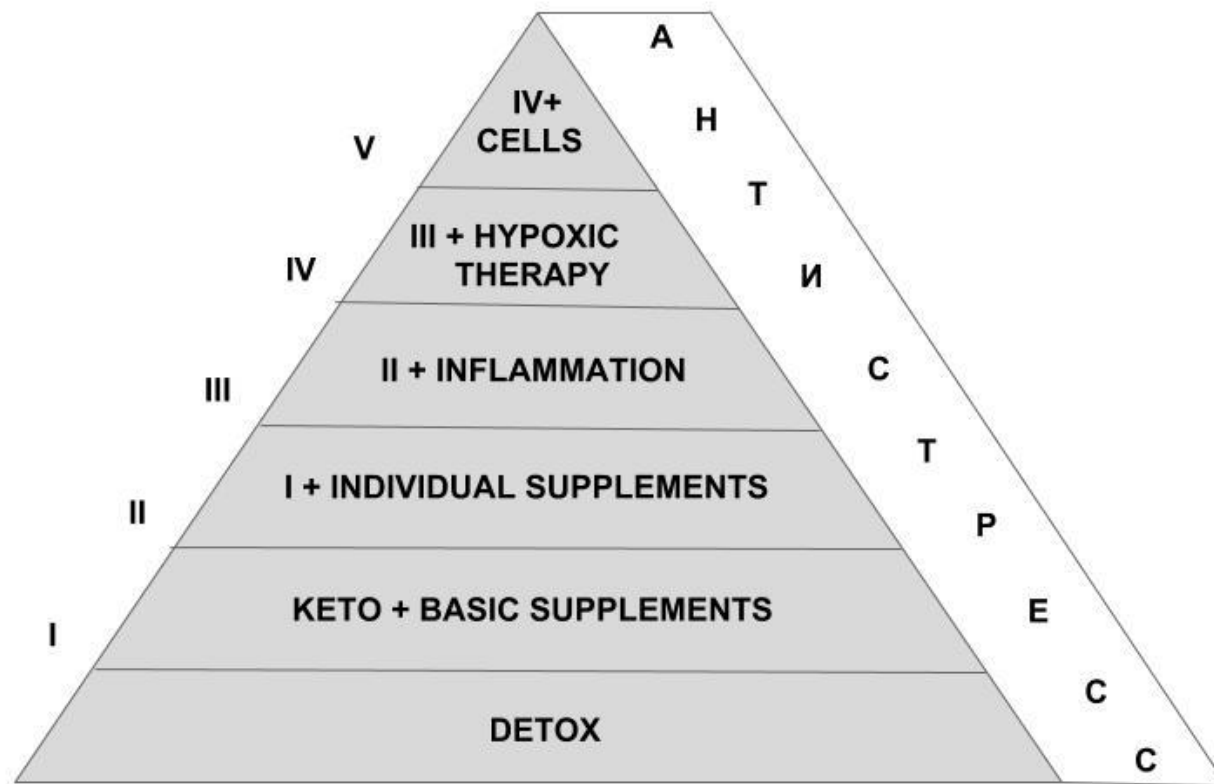


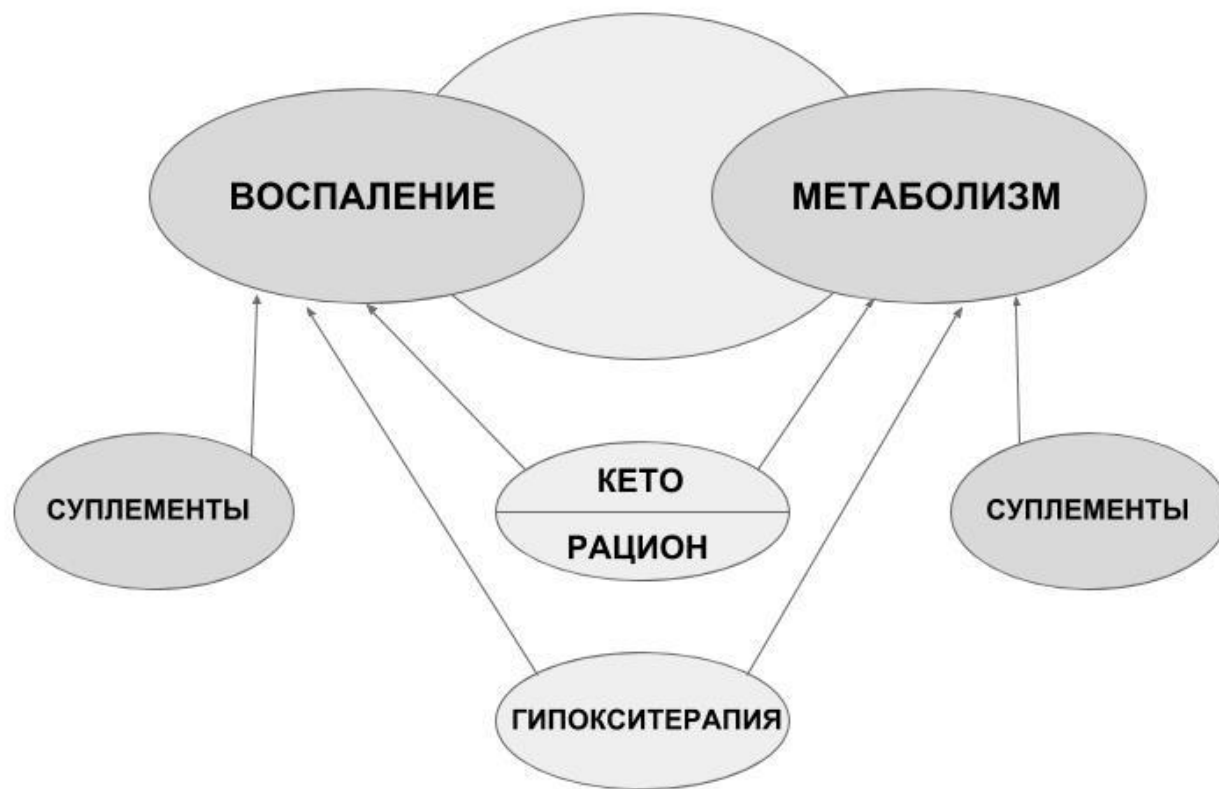
ПланетаМед
в ЭПИцентре неврологии

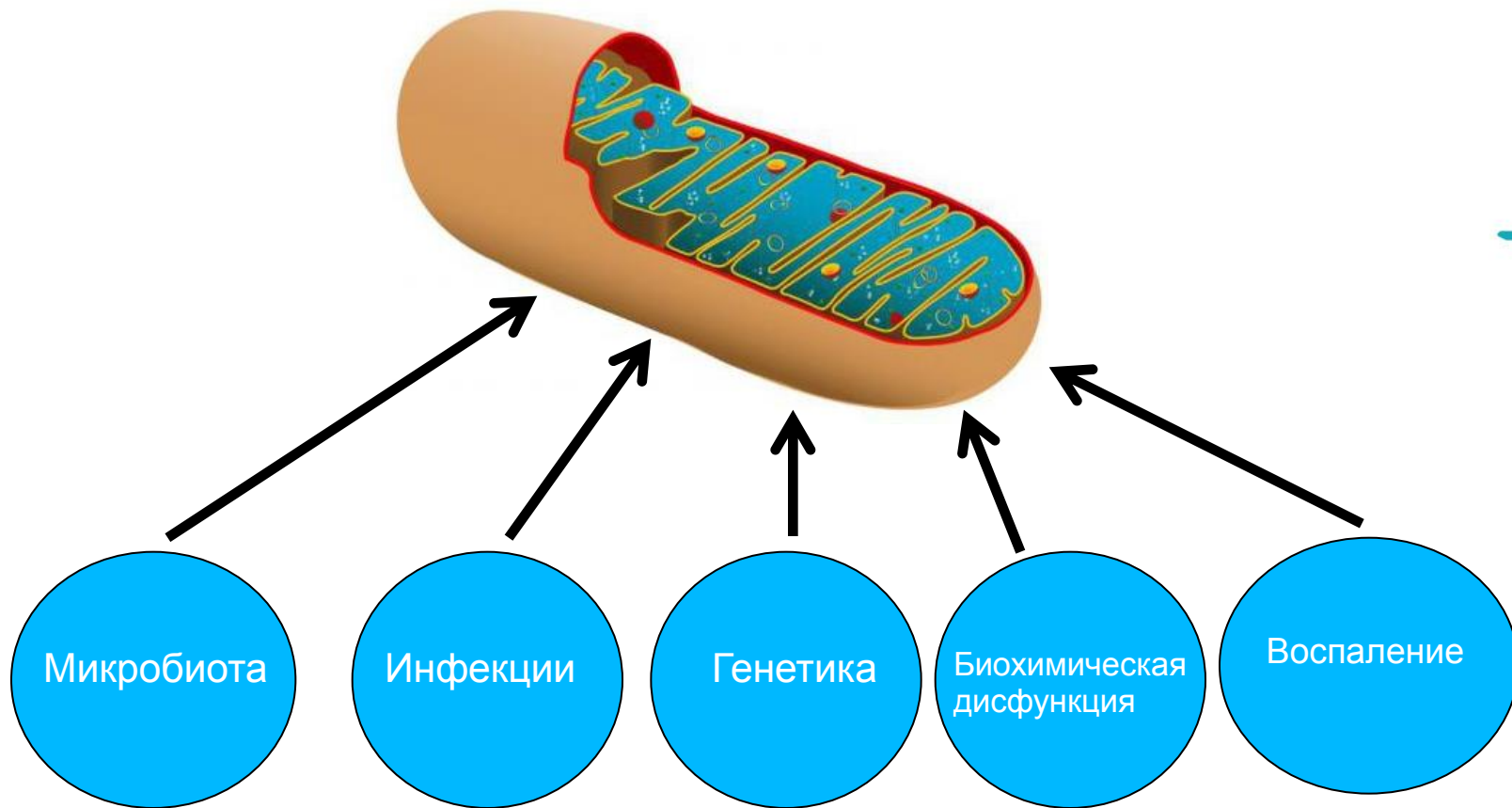
РОЛЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ В ГЕНЕЗЕ НАРУШЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РАССТРОЙСТВОМ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

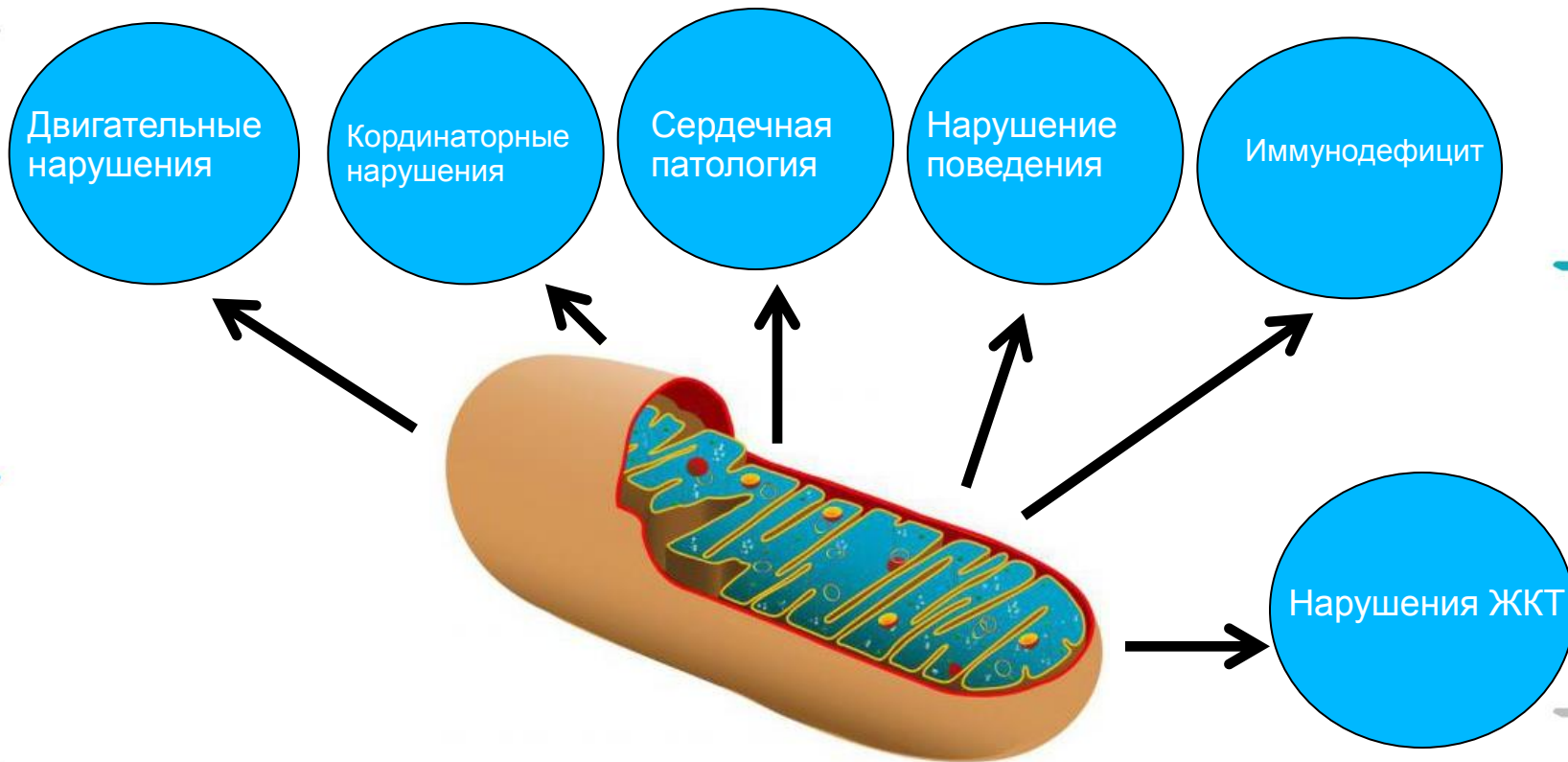
д.м.н. Генералов В.О.





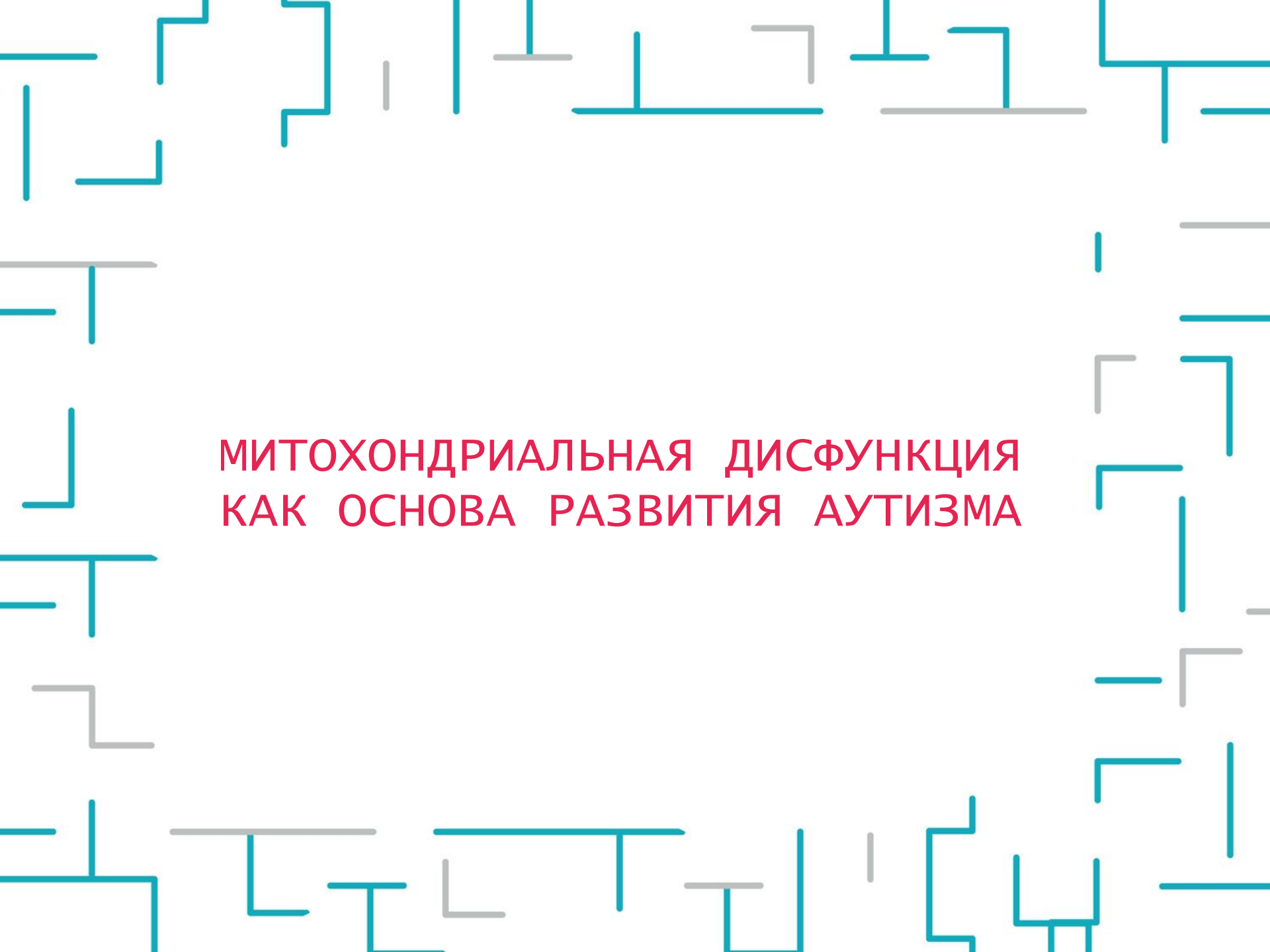






Все данные нарушения в различных комбинациях отмечаются при РАС.



The background features a repeating pattern of abstract, geometric shapes in teal and grey. These shapes are composed of horizontal and vertical lines of varying lengths, some forming L-shapes or T-shapes, scattered across the white background.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ КАК ОСНОВА РАЗВИТИЯ АУТИЗМА

В силу того, что РАС имеет разнородные проявления и связан с множеством возможных этиологических факторов (генетических, экологических), РАС остается клиническим синдромом, но не специфическим этиологически определенным расстройством.



Заметная неоднородность РАС сделала проблемой поиск нейробиологических механизмов и поиск адекватных средств для пострадавших людей. В настоящее время упор в лечении делается в основном на коморбидные проявления, такие как эпилептические приступы, психические нарушения, гиперактивность, нарушения сна и проблемы с пищеварением, но не на основные симптомы.

(DiCicco-Bloom et al., 2006; Lai et al., 2014; Llaneza et al., 2010)



Исходя из гипотезы, что сочетание различных факторов, таких как наследственность и воздействие окружающей среды, способствует развитию РАС, была выдвинута гипотеза, что эти разнородные влияния вызывают сходные нарушения развития, путем модулирования исходного узла, нарушение которого приводит к РАС. В качестве такого узла рассматривается работа митохондрий, играющая ключевую функцию во множестве клеточных биохимических механизмов.



Так помимо известной роли митохондрии, как «электрической станции клетки», митохондрии также играют важную роль в клеточном обмене веществ, внутриклеточной кальциевой сигнальной системе, генерации активных форм кислорода и апоптоза (Murphy, 2009; Palmieri et al., 2010; Suen et al., 2008), а также в регуляции врожденного и адаптивного иммунитета (Weinberg et al., 2015).



Кроме того, митохондрии известны влиянием на многие из тех же эндогенных и экзогенных факторов риска, связанных с аутизмом, таких как метаболизм токсинов, препаратов, иммунной активации и нарушение обмена веществ (Frye and Rossignol, 2011).



Понимание роли митохондриальной дисфункции при РАС может помочь в понимании данного сложного расстройства.

Митохондрии играют важную роль в работе нервной системы. Работа мозга требует обеспечения большим количеством энергии, так как он потребляет около 20% поступающего кислорода, а значит, и калорий (Raichle и Gusnard, 2002).



Это обусловлено тем, что нейрону требуется большое количество аденозинтрифосфата (АТФ) для поддержания ионных градиентов через клеточные мембраны, необходимых для формирования возбудимости мембраны для нейротрансмиссии и пластичности (Harris et al., 2012).



Митохондрии участвуют в различных аспектах работы нервной ткани, такие как пролиферация, дифференциация, и созревание нейронных стволовых клеток; формирование дендритных шипов; синаптической пластичности; процессах определения судьбы клетки по пути выживания или смерти (Kimura and Murakami, 2014; Mattson et al., 2008; Xavier et al., 2015).



Не удивительно, что сейчас существует большое количество клинических, генетических и биохимических исследований человека и животных моделей, обосновывающих роль митохондриальной дисфункции в **ЭТИОЛОГИИ РАС** (Frye and Rossignol, 2011; Haas, 2010; Legido et al., 2013).



Клинические данные указывают на участие митохондриальных нарушений при РАС. Распространенность митохондриальных заболеваний среди пациентов с РАС оценивается примерно в 5%, то есть в 500 раз выше, чем в популяции ($\approx 0.01\%$). Распространенность аномальных значений биомаркеров, связанных с митохондриальной функцией среди пациентов с РАС, может быть даже выше, предполагая, что у 30% детей с РАС могут отмечаться признаки нарушений работы митохондрий.



Почти у трети детей с РАС зафиксированы подъемы в плазме лактата и/или аномальное отношение лактата к пирувату. А концентрации других митохондриальных биомаркеров (пируват, карнитин и убихинон) значительно отличаются у пациентов с РАС и контрольной группы.

(Dhillon et al., 2011; Frye and Rossignol, 2011; Haas, 2010; Legido et al., 2013; Rossignol and Frye, 2012)



ИССЛЕДОВАНИЯ, ПОКАЗЫВАЮЩИЕ СВЯЗЬ МЕЖДУ РАС И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ (MASINO S. 2016)

Reference	Cases	Evidence of mitochondrial dysfunction
<i>Studies in ASD patients*</i>		
Al-Mosalem et al., 2009	30	Increased plasma lactate levels and activity of creatine kinase
Boccutto et al., 2013	87	Decreased tryptophan metabolism in lymphoblastoid cell lines
Celestino-Soper et al., 2012	909	The deficiency of the trimethyllysine hydroxylase epsilon, which encodes the first enzyme in carnitine biosynthesis, was more frequent in probands from male-male multiplex ASD families
Chen et al., 2015	78	Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood cells was elevated
Cohen et al., 1976	25	Increased serum creatine phosphokinase levels
Correia et al., 2006	241	Increased plasma lactate levels and lactate/pyruvate ratio, but not associated with the variation at the SLC25A12 gene
Filipek et al., 2004	100	Reduced levels of carnitine and pyruvate, increased levels of alanine and ammonia in serum
Frye et al., 2013	213	Abnormal acyl-carnitine panels and glutathione metabolism in blood samples
Glessner et al., 2009	859	Copy number variations in genes involved in the ubiquitin degradation were implicated in susceptibility for ASD
Goh et al., 2014	75	Lactate doublets detected by brain magnetic resonance spectroscopic imaging were present at a higher rate
Kent et al., 2006	129	The 3243A>G mitochondrial DNA mutation was concluded to be a rare cause of isolated Asperger syndrome
Kim et al., 2011	Multiple	Polymorphism in a mitochondrial aspartate/glutamate carrier gene (SLC25A12)
Silverman et al., 2008	families	is found to be associated with restricted repetitive behavior in autism
Kuwabara et al., 2013	25	higher plasma levels of arginine and taurine, and lower levels of 5-oxoproline and lactic acid
Laszlo et al., 1994	30	Increased serum lactate and pyruvate levels
Maestrini et al., 2010	127	Gene encodes an inner mitochondrial membrane protease-like protein (<i>IMMP2L</i>) was implicated in susceptibility for ASD



ИССЛЕДОВАНИЯ, ПОКАЗЫВАЮЩИЕ СВЯЗЬ МЕЖДУ РАС И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ (MASINO S. 2016)

Moreno et al., 1992	60	Increased lactate and pyruvate levels
Oliveira et al., 2005	69	20% of ASD patients showed hyperlactacidemia, while 7% were classified with definite mitochondrial respiratory chain disorder
Poling et al., 2006	159	Increase blood aspartate aminotransferase and creatine kinase levels
Rose et al., 2012	43	Primary immune cells in the blood have a more oxidized intracellular and extracellular microenvironment and a deficit in glutathione-mediated redox/antioxidant capacity
Rose et al., 2014	25	Mitochondrial dysfunction observed in a subset of autism lymphoblastoid cell lines
Ramoz et al., 2004	Multiple families	Polymorphism in a mitochondrial aspartate/glutamate carrier gene (SLC25A12) is found to be associated with autism
Segurado et al., 2005		
Turunen et al., 2008		
Tang et al., 2013	45	Mitochondrial function and intracellular redox status were compromised in the pyramidal neurons of the temporal cortex
<i>Studies in animal models</i>		
Ahn et al., 2014		Mitochondrial dysfunction in a rat model of ASD using prenatal VPA exposure
Jin et al., 2015		Mecp2, whose mutations cause Rett syndrome, was observed to regulate mitochondrial bioenergetics through a glutamine transporter in microglia.
Kriaucionis et al., 2006		Mitochondrial abnormalities observed in Mecp2-null mouse, a model of Rett syndrome.
Macfabe et al., 2012		Mitochondrial dysfunction observed in a rat ASD model in which propionic acid, an enteric bacterial fermentation product, is infused intracerebroventricularly



ИССЛЕДОВАНИЯ, ПОКАЗЫВАЮЩИЕ СВЯЗЬ МЕЖДУ РАС И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ (MASINO S. 2016)

Reference	Cases	Evidence of mitochondrial dysfunction
Naviaux et al., 2013 Naviaux et al., 2014 Naviaux et al., 2015		Antipurinergic therapy improves the autism-like features in the maternal immune activation mouse model and the Fragile X mouse model
Park et al., 2014		Dietary therapy with triheptanoin enhanced mitochondrial substrate use and improved metabolism and behaviors of Mecp2-null mouse model of Rett syndrome
Sakurai et al., 2010		Loss of a mitochondrial aspartate-glutamate carrier gene results in hypomyelination. Myelin deficits in slice cultures from KO mice are reversed by administration of pyruvate
Su et al., 2011		Mitochondrial dysfunction observed in hippocampal neurons of the UBE3A deficient mouse model for Angelman syndrome
Zhao et al., 2010		ASD-like features observed in neuronal glucose transporter isoform 3 deficient mice

* Only studies reporting more than 25 subjects are included in this table



Наличие коморбидных РАС патологий также свидетельствует об участии митохондриальной дисфункции в патогенезе РАС. Одна из наиболее значимых сопутствующих патологий является эпилепсия. Так, распространенность эпилепсии в популяции РАС от 5% до 38%, что значительно выше чем распространенность в общей популяции детей (1%–2%).


(Frye, 2015)



При этом у пациентов с подтвержденной митохондриальной дисфункцией судорожные приступы встречаются в 35–60% случаев (Rahman, 2012)

Сходным образом, гастроэнтерологическая дисфункция, часто коморбидная с РАС, также часто отмечается при митохондриальной дисфункции (Frye et al., 2015).



The background features a repeating pattern of abstract, geometric shapes in teal and grey. These shapes are composed of horizontal and vertical lines of varying lengths, some forming L-shapes or T-shapes, scattered across the white background.

МИКРОБИОТА, НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ И МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ

Население микробиоты кишечника состоит из 500–1000 видов живых существ, представляющих 7000–40 000 бактериальных штаммов, охватывающих 1800 родов.

Forsythe and Kunze, 2013
Gilbert et al., 2013



Кишечная микробиота синтезирует различные важные витамины и кофакторы, такие как фолат и витамин В₁₂, влияющие на метилирование ДНК и гистонового белка (Le Galliard et al., 2008 ; LeBlanc et al., 2013).

Бактерии также метаболизируют сложные липиды, белки и углеводы (Hooper et al., 2002 ; Saulnier et al., 2008 ; Dai et al., 2012).



Бактериальные ферментативные процессы приводят к образованию различных короткоцепочечных жирных кислот (SCFA), таких как уксусная, пропионовая и масляная кислота (ВА) (Hooper et al., 2002).

Бактериальные SCFA могут служить источником топлива для энтероцитов, выстилающих кишечную систему; однако эти химические вещества также могут изменять межклеточные пространства между клетками, что приводит к «протеканию» кишечника, что позволяет большему количеству метаболитов и бактерий проходить через эпителиальный барьер, что может привести к пагубным неврологическим эффектам.



Song et al. (2004) исследовали 15 пациентов с РАС и обнаружили увеличение в стуле *Clostridium bo1teaе* и кластеры I и XI.

Finegold et al. (2002) исследовали 13 пациентов с РАС и обнаружили в стуле 9 видов *Clostridium*, отсутствовавших в образцах группы контроля, из них 3 уникальных вида.

Parracho et al. (2005) исследовали 58 пациентов с РАС и обнаружили в стуле увеличение количества *C. histolyticum* (кластеры *Clostrium* I и II).



Finegold et al. (2010) исследовали 33 пациента с РАС и обнаружили в стуле:

Увеличение

DeIsufovibrio , *Bacteroides*, *Alkaliflexus* , *Acetanaerobacterium* и *Parabacteroides*

Уменьшение:

Clostridium , *Weissella* , *Turcibacter* , *Anaerofilum*,
Pseudoramibacter , *Ruminococcus* и *Streptococcus*



Томова et al. (2015) исследовали 10 пациентов с РАС и обнаружили значительное снижение отношения Bacteroidetes/Firmicutes, уменьшение количества Lactobacillus spp. DeIsulfovibrio spp. Были увеличены в группе РАС, отмечалась корреляция с тяжестью аутизма.

Добавление пробиотиков (Dophilus, которая содержит три штамма Lactobacillus (60%), два штамма Bifidumbacteria (25%), и один штамм Streptococcus (15%) 3 раза в день в течение 4 месяцев) исправляло дисбаланс соотношения Bacteroidetes/Firmicutes, подавляло *DeIsulfovibrio* spp и увеличивало количество *Bifidobacterium* spp.



wang et al. (2013) исследовали 23 пациента с РАС и обнаружили увеличение количества фекальных *Sutterella* spp и *Ruminococcus*.

williams et al. (2012) исследовали 15 пациентов с РАС и обнаружили увеличение количества фекальных *Sutterella* spp. (*wadsworthensis* и *stercoicanis*)

De Angelis et al. (2013) исследовали 10 пациентов с РАС и обнаружили увеличение количества фекальных родов *Bacteroidetes*, особенно видов *Alistipes* и *Akkermansia*, уменьшение видов *Sutterellaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Eubacteriaceae* и *Bifidobacterium*.



Существуют ассоциации между бактериальными метаболитами в фекалиях или моче и поведенческими нарушениями в ASD, включая детей, получающих антибиотики и пробиотическое лечение. Adams et al. (2011) сообщили о сильной положительной корреляции гастроинтестинальными нарушениями и выраженностью РАС.

У лиц, получавших пробиотическое лечение, отмечались снижение уровня фекальных SCFA (особенно ацетат, пропионат и валерат).



Другое исследование показало, что фекальные SCFAs были значительно выше у детей с РАС. Уксусная, масляная, изобутирная, валериановая и изовалериановая кислоты были увеличены в стуле детей с РАС, тогда как капроновая кислота была уменьшена. У пациентов с АСД были большие концентрации аммиака в стуле, чем в контрольной группе (Wang et al., 2012). Уровень глутамата и таурина были увеличены у детей с РАС. Нарушения в образцах бактериальных метаболитов диметиламина, гиппурата и фенилацетилглутамина также были выявлены у пациентов с РАС (Yar et al., 2010).



SCFAs оказывают прямое действие на митохондрии, приводя к уменьшению их плотности в тканях, приводя к нарушению структуры мтДНК.

А. Maczurek., 2011



В отдельном исследовании было проведено наблюдение за 11 детьми с РАС, с использованием плохо абсорбирующегося перорального антибиотика ванкомицина. Лечение улучшило поведенческие характеристики этих детей; однако положительные эффекты были временными, и клинические признаки повторялись после прекращения приема антибиотика (Sandler et al., 2000).



Помимо изменения бактериальной флоры у пациентов с РАС отмечается значительное увеличение количества грибковой флоры, в первую очередь *Candida* (Kantarcioglu 2016, Iovene 2017).



В целом, в большом количестве исследований отмечается увеличение уровня короткоцепочечных жирных кислот (особенно пропионовой кислоты) в стуле пациентов с РАС.

wang et al., 2012, De Angelis et al., 2013,
Adams et al., 2011



Короткоцепочечные жирные кислоты (SCFA), особенно пропионовая могут проникать через ГЭБ и приводить к высвобождению нейротрансмиттеров, стимулировать секрецию провоспалительных цитокинов (Kazlauskas et al., 2015) и модулировать экспрессию генов воспаления (Nankova et al., 2014).



Внутрижелудочковое введение пропионовой кислоты у мышей приводит к нарушению социального взаимодействия, стереотипиям, увеличению оксидативного стресса, активации микроглии, приводящей к нейровоспалению.

(MacFabe et al., 2007; Schultz et al., 2008)



Отмечается увеличение проницаемости
кишечника у пациентов с РАС

(D'Eufemia et al., 1996; de Magistris et al., 2010)

значимо более высокие уровни в плазме
белка модулятора кишечной проницаемости
зонулина у пациентов с РАС, коррелирующие
с тяжестью заболевания (Esnafoglu et al., 2017)



Развитие и поведение ребенка зависит в том числе от особенностей микробиоты матери и особенностей иммунной активации, модулирующих физиологию, развитие нервной системы ребенка и поведение.

(Sharon et al., 2016).



Все это приводит к активации воспалительного процесса с проникновением через ГЭБ антител, активации провоспалительных цитокинов, активации микроглии и астроцитов.



В астроцитах пациентов с РАС отмечается увеличение уровня провоспалительных цитокинов в сравнении с группами контроля. При этом комбинирование астроцитов группы контроля с РАС-морфологичными нейронами приводило к улучшению морфологии последних и улучшению синаптогенеза. При этом комбинирование астроцитов полученных из мозга при РАС с нейронами группы контроля приводило к формированию РАС-подобного фенотипа последних.

(Russo et al., 2017).



В околоплодных водах детей с РАС отмечено повышение уровня провоспалительных цитокинов (Abdallah et al., 2011), а когортные исследования показывают превышение уровня антител, способных проникать через ГЭБ, в 4 раза у матерей детей с РАС в сравнении с контрольными группами (Brimberg et al., 2013). Данные антитела могут проникать через плаценту в течение гестации и связываться с протеинами мозга, оказывая влияние на механизмы развития ЦНС (Fox-Edminston, Van de Water, 2015).



В мозге пациентов с РАС отмечена патологическая активация микроглии, приводящая к локальным воспалительным процессам в мозге и нарушению формирования нормальных синаптических соединений.

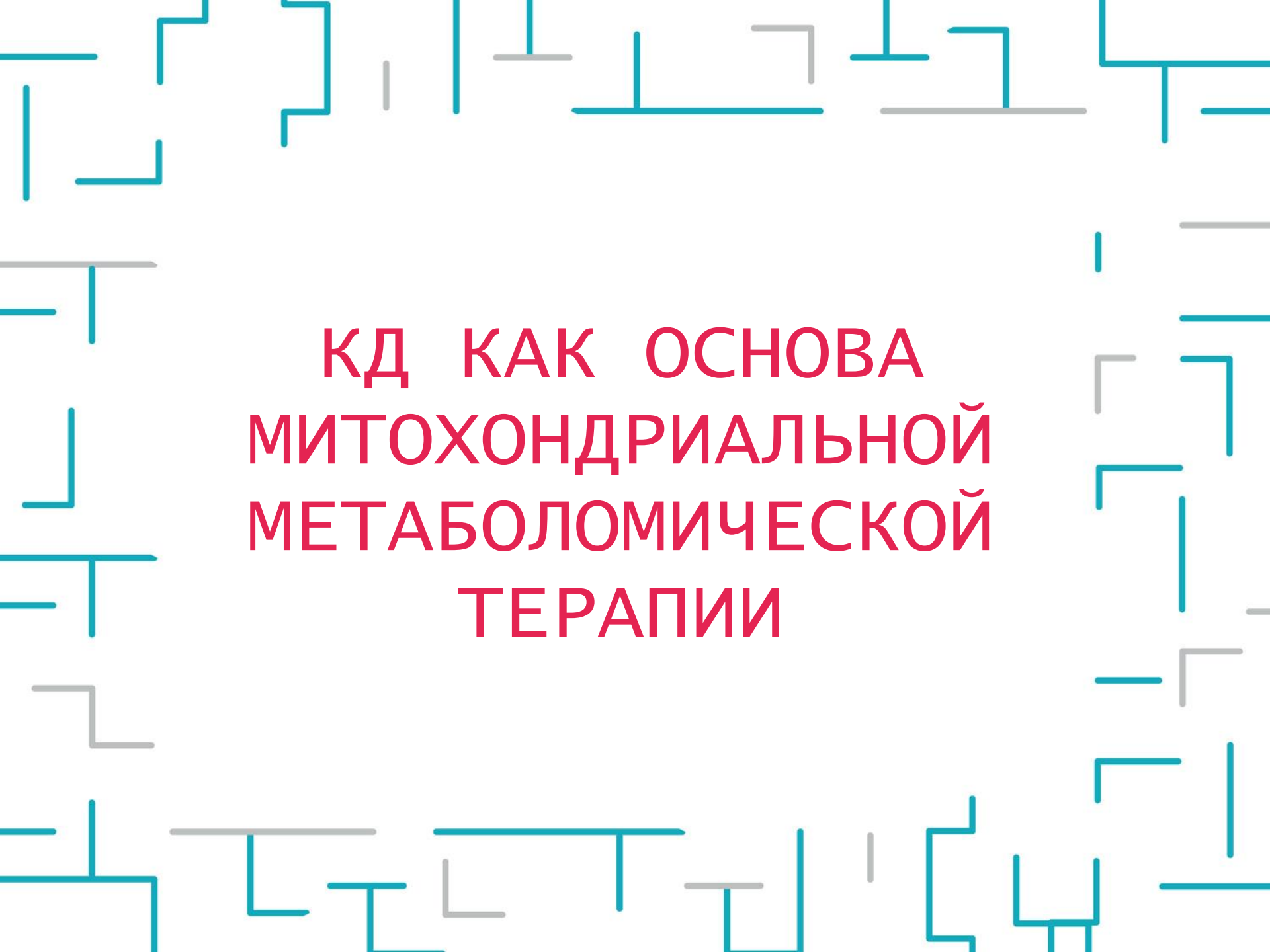
(Patel et al., 2016).



КОМПЛЕКСНАЯ ТЕРАПИЯ РАС

- Коррекция рациона (безглютеновая и безказеиновая, АИП, кетогенная диета, другие элиминационные рационы)
- Коррекция микробиоты
- Противовоспалительная терапия
- Митохондриальная супплементация
- Интервальная гипоксигиперокситерапия
- Детоксикационные программы



The background features a repeating pattern of abstract geometric shapes, primarily L-shaped and T-shaped lines, in teal and grey colors. These shapes are scattered across the white background, creating a modern, technical aesthetic.

КД КАК ОСНОВА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕТАБОЛОМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Кетогенная диета является нормокалорийной.

При этом она является элиминационной:

- строгое ограничение углеводов
- элиминация глютена
- возможная элиминация лектина
- возможная элиминация пектина
- возможная элиминация казеина
- коррекция исходя из индивидуальной пищевой переносимости



КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТОВ КД

- Контроль уровня кетоновых тел
- Контроль маркеров воспаления
- Контроль поведения
- Контроль коморбидной патологии



Режимы кетогенной диеты различны: от низкоуглеводной диеты с низким гликемическим индексом до строгих режимов с соотношением 5:1.

LCHF

5:1



Режимы элиминации при кетогенной диете различны: от веганской диеты до «диеты хищника».

Веган-кето

ZeroCarb



С учетом частого скудного набора продуктов пациентами с РАС для расширения рациона к работе обязательно привлекается поведенческий терапевт.



ЭФФЕКТЫ КД

1. Увеличение плотности и качества митохондрий
2. Прямой противовоспалительный эффект
3. Нейропротективный эффект
4. Влияние на ГЭБ
5. Влияние на микробиоту



ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Снижение активности проапоптотических факторов и ингибирования воспалительных медиаторов, таких как интерлейкины и ФНО-альфа.

(Maalouf et al., 2009).



ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Прямое ингибирование бета-гидроксibuтиратом NLRP3 (NOD-, LRR-, содержащий пириновый домен 3) агрегацию инфламасом, отвечающих за активацию каспаз-1 и высвобождение провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18.



ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Ограничение калорий может увеличить экспрессию противовоспалительных генов белковых медиаторов, таких как NFκB ингибитор альфа (Nfkb1a), тканевой ингибитор металлопротеиназ-3 (Timp3), рецепторов активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARs), и наоборот блокирует провоспалительные гены, такие как TNF-α, IL-6, COX-2, iNOS, VCAM-1, and ICAM-1

Higami, Y., Barger, J.L., Page, G.P., Allison, D.B., Smith, S.R., Prolla, T.A., and Weindruch, R. (2006). Energy restriction lowers the expression of genes linked to inflammation, the cytoskeleton, the extracellular matrix, and angiogenesis in mouse adipose tissue. *J Nutr* 136, 343– 352.

Jung, K.J., Lee, E.K., Kim, J.Y., Zou, Y., Sung, B., Heo, H.S., Kim, M.K., Lee, J., Kim, N.D., Yu, B.P., et al. (2009). Effect of short term calorie restriction on pro-inflammatory NF-κB and AP-1 in aged rat kidney. *Inflamm Res* 58, 143– 150.



ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Было показано, что КД модулирует уровень аденозина. Астроцитарная аденозинкиназа (ААК) является ферментом, ответственным за фосфорилирование аденозина и очистку от аденозина внеклеточного пространства. Выделение ААК уменьшается при КД, тем самым увеличивая внеклеточный уровень аденозина и активацию ингибирующего аденозина A1 рецептора (A1AR).

Masino, S.A., Li, T., Theofilas, P., Sandau, U.S., Ruskin, D.N., Fredholm, B.B., Geiger, J.D., Aronica, E., and Boison, D. (2011). A ketogenic diet suppresses seizures in mice through adenosine A(1) receptors. *J Clin Invest* 121, 2679– 2683.



МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ

Кетоновые тела, а также полиненасыщенные жирные кислоты, такие как арахидоновая кислота, докозагексаеновая кислота, эйкозопентаеновая кислота могут сами регулировать возбудимость нейрональной мембраны

(1) напрямую блокируя вольтаж-зависимые натриевые и калиевые каналы (Vreugdenhil et al., 1996);

(2) влияя на синтез, деградацию и обратный захват возбуждающих и тормозных нейромедиаторов (Yudkoff et al., 2001; Juge et al., 2010)

(3) уменьшая воспаление через активацию рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератом (Najjar et al., 2012).



МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ

Влияние на АТФ-сенситивные калиевые каналы. Бета-оксибутират увеличивает вероятность открытия данного калиевого канала, что снижает клеточное возбуждение и предотвращает патологическое возбуждение нейронов.

Другой механизм осуществляется через аденозин, образующийся из АТФ, за счет активации ингибиторных аденозиновых А₁ рецепторов. Кетогенная диета увеличивает уровень АТФ и, как следствие, аденозина, оказывающего ингибирование клеточного возбуждения (Masino et al., 2009).



МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ

Также было показано, что кетоновые тела облегчают нейропротективные механизмы за счет увеличения уровня АТФ и уменьшения перекисного окисления липидов (Kim et al., 2007) за счет усиления NADH-окисления и ингибирования белка митохондриальной проницаемости (Kim et al., 2015).



ВЛИЯНИЕ НА ГЭБ

1. Увеличение качества плотных контактов
2. Увеличение пролиферации эндотелиоцитов ГЭБ



Основными биохимическими изменениями на фоне КД является увеличение в выработки организмом в печени кетонов за счет бета-окисления жирных кислот и снижения уровня глюкозы в крови (Stafstrom and Rho, 2012). Специфические полиненасыщенные жирные кислоты, такие как арахидоновая кислота, докозагексаеновая кислота и эйкозапентаеновая кислота могут сами регулировать возбудимость нейронной мембраны (Voskuyl and Vreugdenhil, 2001), уменьшать воспаление (Cullingford, 2008; Jeong et al. 2011), уменьшать производство активных форм кислорода (АФК) митохондриями (Kim and Rho, 2008).



Прием полиненасыщенных жирных кислот также может оказывать положительное терапевтическое влияние при РАС. Сами кетоновые тела обладают нейропротекторными свойствами путем улучшения биоэнергетики, в том числе за счет повышения уровня АТФ и сокращения выработки АФК путем NADH-окисления и ингибирования белка митохондриальной проницаемости (Kim et al., 2007; Kim et al., 2015). Кроме того, доказано влияние КД на стимуляцию биогенеза митохондрий (Ahoja-Erkkila et al., 2010; Bough et al., 2006).



Второй основной биохимический эффект КД это снижение гликолиза. В дополнение к подавлению судорог, она также улучшает митохондриальную функции и уменьшает оксидативный стресс, снижает активность про-апоптотических факторов, и тормозит воспалительные медиаторы, такие как интерлейкины и фактора некроза опухоли альфа (Maalouf et al., 2009).



Помимо повышения биоэнергетики и митохондриальной функции, было показано влияние КД на модуляцию метаболизма γ -аминомасляной кислоты (GABA) и ацетилхолина, то есть двух основных нейротрансмиттеров центральной нервной системы (Napoli et al., 2014), а также пуринов (такие как АТФ и аденозин), которые играют роль плейотропных нейронных модуляторов (Masino et al., 2010; Masino et al., 2009). Кроме того, КД также способна регулировать энергетически-чувствительные пути, такие как инсулиноподобный фактор роста и мишень рапамицина млекопитающих (Napoli et al., 2014).



На основе исследований, доказывающих что КД оказывает многочисленные нейропротективные эффекты путем модуляции митохондрий и метаболических путей, объяснимо, почему КД эффективна у пациентов с аутизмом.



Evangelíou и коллеги провели пилотное проспективное исследование детей, страдающих аутизмом в возрасте от 4 до 10 лет на КД.

Из 18 пациентов у большинства пациентов отмечено улучшение по данным Шкалы Детского Аутизма (CARS). Значительное (>12 единиц снижения) отмечено у 2 пациентов, среднее (>8–12 единиц снижения) зафиксировано у восьми пациентов. Небольшое (2–8 единиц снижения) у остальных восьми пациентов.

(Evangelíou et al., 2003)



В отдельном исследовании Herbert и Buckley сообщается об истории 12-летнего ребенка с аутизмом и эпилепсией, находившемся на безглютеновой и безказеиновой КД.

На фоне диеты отмечено уменьшение показателя CARS с 49 до 17, отражая переход от аутизма к неаутистическому состоянию.

(Herbert and Buckley, 2013)



СРАВНЕНИЕ КД И БКБГ

45 пациентов в возрасте от 3 до 8 лет с РАС были поровну разделены на 3 группы:

1. На КД с соотношением 4:1
2. На БКБГ диете
3. Контрольная группа (не принимающие терапии)

El-Rashidy O. Ketogenic diet versus gluten free casein free diet in autistic children: a case-control study. *Metab Brain Dis.* 2017 Dec;32(6):1935-1941



СРАВНЕНИЕ КД И БКБГ

Table 2 CARS and ATEC scores of the patients in ketogenic group before and after receiving diet

Group I (ketogenic diet)		Pre diet	Post diet	<i>P</i> value
CARS	Mean ± SD	41.70 ± 5.52	33.70 ± 4.2	0.0001
ATEC	Mean ± SD	58 ± 16.32	44.0 ± 18.61	0.003
I speech	Mean ± SD	23.70 ± 6.72	17.90 ± 4.84	0.004
II social	Mean ± SD	18.50 ± 4.72	15.00 ± 4.90	0.034
III cognition	Mean ± SD	19.90 ± 5.88	14.10 ± 4.36	0.0001
IV behavior	Mean ± SD	12.50 ± 2.84	11.30 ± 2.45	0.211

CARS Childhood autism rating scale, *ATEC* Autism treatment evaluation checklist



СРАВНЕНИЕ КД И БКБГ

Table 4 Percent changes of CARS and ATEC among the three study groups

Study Group	Group I '(ketogenic)'	Group II 'GFCF'	Group III 'Control'
CARS			
Initial score	41.70 ± 5.52	39.17 ± 4.89	38.73 ± 5.52
Last score	33.70 ± 4.22	34.27 ± 3.28	38.93 ± 5.23
Percent change	-18.95%	-11.47%	0.70%
ATEC			
Initial score	58 ± 16.32	64.13 ± 17.77	62.82 ± 18.14
Last score	44.00 ± 18.61	42.13 ± 15.82	61.60 ± 16.17
Percent change	-21.52%	-18.49%	0.74%
ATEC subscales			
I. Speech			
Initial score	23.70 ± 6.72	21.20 ± 8.14	22.93 ± 11.54
Last score	17.90 ± 4.84	15.47 ± 3.78	23.00 ± 11.33
Percent change	-23.43%	-20.99%	0.79%
II. Sociability			
Initial score	18.50 ± 4.72	17.53 ± 4.41	17.87 ± 2.80
Last score	15.00 ± 4.90	16.73 ± 4.17	17.93 ± 2.43
Percent change	-17.96%	-0.46%	1.12%
III. Cognition			
Initial score	19.90 ± 5.88	18.33 ± 7.00	19.33 ± 6.77
Last score	14.10 ± 4.36	15.07 ± 5.41	19.40 ± 6.95
Percent change	-28.09%	-10.87%	0.11%
IV. Behavior			
Initial score	12.50 ± 2.84	16.53 ± 6.73	13.73 ± 4.17
Last score	11.30 ± 2.45	11.80 ± 4.78	13.72 ± 4.18
Percent change	-7.24%	-22.26%	0.00%

CARS Childhood autism rating scale, ATEC Autism treatment evaluation checklist



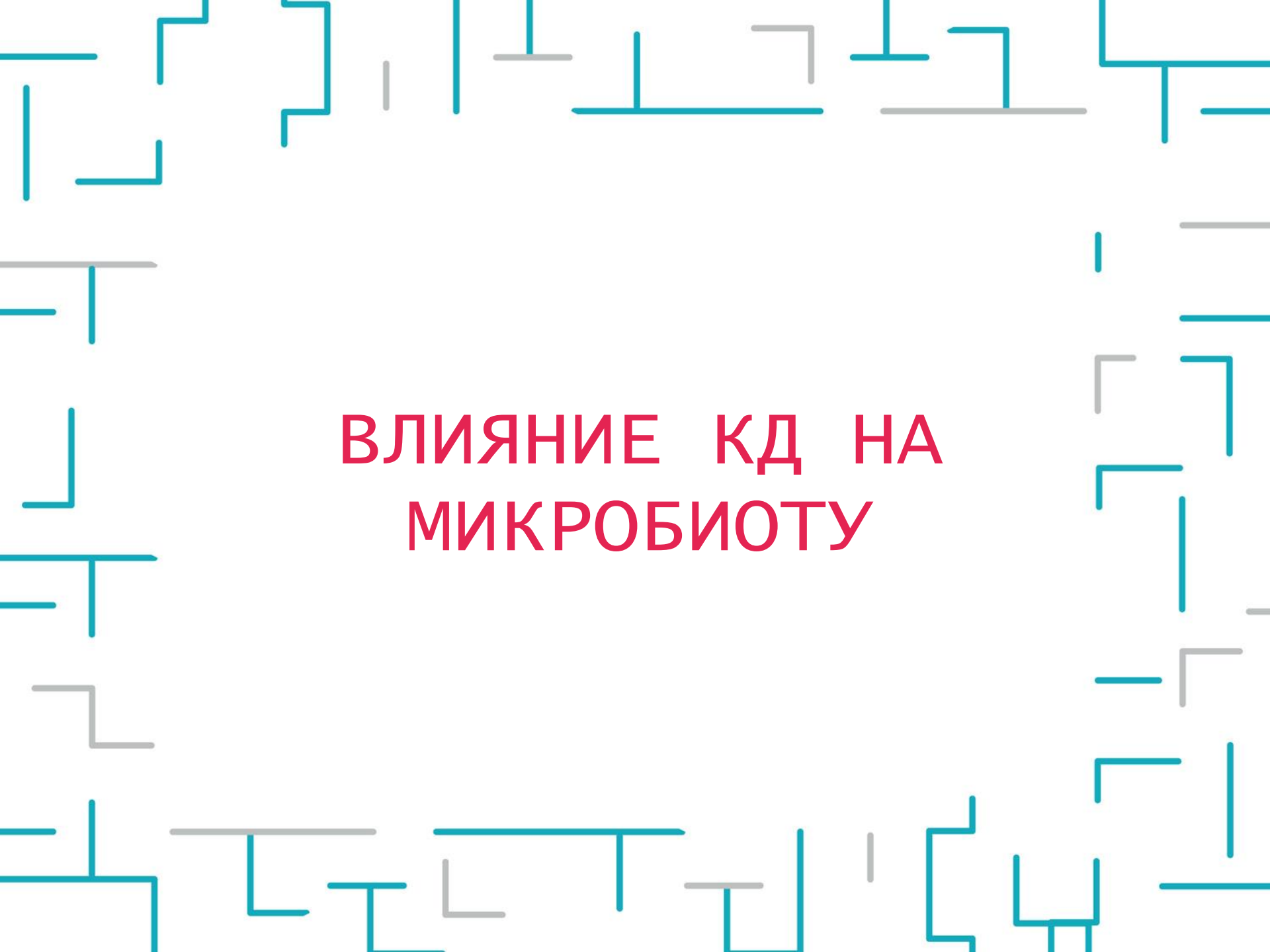
СРАВНЕНИЕ КД И БКБГ

Table 5 Autism scores difference between group I and group II

Mean Difference	Group I		Group II		<i>P</i> -value
	Mean	SD	Mean	SD	
CARS	-8	2.749	-5.03	3.903	0.06
A TEC	-18.2	14.574	-22	18.838	0.596
I speech	-5.8	4.686	-5.73	7.639	0.981
II sociability	-3.5	4.428	-0.8	4.916	0.176
III cognition	-5.8	2.781	-3.27	6.595	0.265
IV behavior	-1.2	2.821	-4.73	6.307	0.111

CARS Childhood autism rating scale, *A TEC* Autism treatment evaluation checklist



The background features a repeating pattern of abstract, geometric shapes in teal and grey. These shapes resemble stylized, interconnected lines and corners, creating a modern, architectural feel. The shapes are scattered across the white background, with some appearing as solid lines and others as faint, light grey outlines.

ВЛИЯНИЕ КД НА МИКРОБИОТУ

Newell et al. исследовали специальные линии мышей $Vtbr^{T+tf/j}$, сравнивая их с контрольной группой мышей линии C57BL/6 (B6).

Newell et al. Molecular Autism (2016) 7:37



BTBR $T+tf/j$ мимикрирует поведенческий фенотип, ассоциированный с РАС при отсутствии пароксизмальной активности на ЭЭГ.

Ruskin DN, Svedova J, Cote JL, Sandau U, Rho JM, Kawamura M, Boison D, Masino SA. Ketogenic diet improves core symptoms of autism in BTBR mice. PLoS One. 2013;8:e65021.



Мужские особи C57BL/6(B6) и BTRR ^{T+tf/j}
(n = 21 и 25, в возрасте 5 недель
были случайным образом выбраны для
реализации стандартного (СР, 13%
жира) или кетогенного рациона (КД,
75% жира) в течение 10-14 дней. После
этого мыши убивались дислокацией шеи.
Всем мышам в этот момент было 7
недель



У VTRV мышей отмечается поведенческий фенотип РАС, включающий в себя нарушение вокализации и социальных взаимоотношений.

McFarlane HG, Kusek GK, Yang M, Phoenix JL, Bolivar VJ, Crawley JN. Autismlike behavioral phenotypes in BTBR T + tf/J mice. *Genes Brain Behav.* 2008;7: 152–63



ОСНОВНЫЕ НАХОДКИ

У мышей ВТBR отмечалось нарушение состава микробиоты (кишечные и фекальные образцы) в сравнении с группой контроля, что подтверждает идею о связи нарушения микробиоты и РАС.



ОСНОВНЫЕ НАХОДКИ

КД имела антимикробиальный эффект в виде значительного снижения общего объема бактериальной нагрузки в кишечных и фекальных образцах.



ОСНОВНЫЕ НАХОДКИ

Специфически для ВТВР КД
противодействовала обычному для РАС
фенотипу с низким соотношением
фирмикуты/Бактероиды в кишечных и
фекальных образцах.



ОСНОВНЫЕ НАХОДКИ

КД предотвращала повышение *Akkermansia muciniphila* в кишечных и фекальных образцах.



Основные различия между группами C57BL/6(B6) и BTRR $T^{+tf/j}$ проявлялись в количестве *A. muciniphila*, *Methanobrevibacter* spp. и *Roseburia* spp. в кишечных образцах и *A. muciniphila*, *Enterobacteriaceae*, и *Lactobacillus* в фекальных образцах.



У мышей ВТВР отмечаются нарушения в виде уменьшения фирмикутов (*Clostridium coccoïdes*, *Clostridium leptum*, *Clostridium XI* и *I*, *Roseburia spp.* и *Lactobacillus spp.*) и увеличении *Bacteroidetes*.

De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, De Giacomo A, Serrazzanetti DI, Cristofori F, Guerzoni ME, Gobbetti M, Francavilla R. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One*. 2013;8:e76993.

Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, Youn E, Summanen PH, Granpeesheh D, Dixon D, Liu M, Molitoris DR, Green JA. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*. 2010;16:444-53.



По результатам исследования Newell et al. в группе ВТВР отмечалось уменьшение общего количества микробов в кишечных и фекальных образцах на 78% и 28% соответственно. Это объясняется гибелью микроорганизмов, питающихся преимущественно углеводами, количество которых при КД значительно снижено.

Janssen AWF, Kersten S. The role of the gut microbiota in metabolic health. FASEB J. 2015;29:3111–23



Table 2 Microbiota composition in cecal and fecal samples from B6 and BTBR mice following chow or ketogenic feeding

		B6		BTBR		
		Chow	Ketogenic	Chow	Ketogenic	
Cecal microbes (×1000)	<i>Akkermansia muciniphila</i>	1.1 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.04 ^b	1011 ± 153 ^c	0.2 ± 0.02 ^b	
	<i>Bacteroides/Prevotella</i> spp.	7028 ± 611 ^{ab}	5044 ± 1114 ^a	9233 ± 1211 ^b	709 ± 317 ^c	
	<i>Bifidobacterium</i> spp.	6132 ± 1071 ^a	17.6 ± 4.8 ^b	381 ± 95 ^c	5.6 ± 0.9 ^d	
	<i>Clostridium</i> cluster I	24.6 ± 2.2 ^a	9.3 ± 1.7 ^b	13.9 ± 1.7 ^c	6.2 ± 0.7 ^b	
	<i>Clostridium</i> cluster XI	1.4 ± 0.1 ^a	3.7 ± 0.8 ^b	1.0 ± 0.09 ^c	2.7 ± 0.3 ^b	
	<i>Clostridium coccoides</i>	53,223 ± 4428 ^a	17,128 ± 4253 ^b	46,568 ± 3885 ^a	11,157 ± 2451 ^b	
	<i>Clostridium leptum</i>	4959 ± 811 ^{ab}	2668 ± 690 ^{ac}	6150 ± 612 ^b	1570 ± 281 ^c	
	Enterobacteriaceae	257 ± 42 ^a	70 ± 12 ^b	77 ± 7.9 ^b	36 ± 4.7 ^c	
	Total Firmicutes	61,819 ± 4641 ^a	19,874 ± 4290 ^b	57,015 ± 4086 ^a	12,795 ± 2602 ^b	
	<i>Lactobacillus</i> spp.	3609 ± 1078 ^a	65 ± 31 ^b	4279 ± 790 ^a	59 ± 36 ^b	
	<i>Methanobrevibacter</i> spp.	2.6 ± 0.5 ^a	3.4 ± 0.2 ^b	10 ± 0.9 ^c	2.9 ± 0.4 ^{ab}	
	<i>Roseburia</i> spp.	2.4 ± 0.3 ^a	0.7 ± 0.08 ^b	3.3 ± 0.3 ^a	0.5 ± 0.1 ^b	
	Firmicutes/Bacteroidetes ratio	9.4 ± 1.0 ^a	4.6 ± 1.2 ^a	6.9 ± 0.7 ^a	32.5 ± 5.8 ^b	
	Fecal microbes (×1000)	<i>Akkermansia muciniphila</i>	0.2 ± 0.02 ^{ab}	0.3 ± 0.06 ^{ac}	1392 ± 223 ^d	0.2 ± 0.03 ^{bc}
		<i>Bacteroides/Prevotella</i> spp.	11,734 ± 1128 ^a	31,189 ± 6810 ^b	22,562 ± 3294 ^b	3654 ± 903 ^c
<i>Bifidobacterium</i> spp.		10,414 ± 999 ^a	120 ± 27 ^b	951 ± 229 ^c	22.6 ± 5.2 ^d	
<i>Clostridium</i> cluster I		5.6 ± 0.4 ^a	12.7 ± 2.0 ^{bc}	18.0 ± 2.7 ^{bd}	15.3 ± 2.4 ^{cd}	
<i>Clostridium</i> cluster XI		11.6 ± 1.1 ^{ab}	8.2 ± 1.4 ^{ac}	4.4 ± 1.3 ^d	10.6 ± 1.5 ^{bc}	
<i>Clostridium coccoides</i>		26,467 ± 4814 ^a	20,859 ± 3938 ^a	36,587 ± 4428 ^a	37,019 ± 7867 ^a	
<i>Clostridium leptum</i>		2879 ± 613 ^{ab}	3015 ± 594 ^a	3956 ± 364 ^{bc}	7245 ± 1508 ^c	
Enterobacteriaceae		253 ± 25 ^{ab}	633 ± 161 ^{ac}	116 ± 9.5 ^d	419 ± 112 ^{bc}	
Total Firmicutes		37,399 ± 5318 ^a	24,121 ± 3998 ^b	49,118 ± 4672 ^a	44,782 ± 7907 ^a	
<i>Lactobacillus</i> spp.		8031 ± 1573 ^a	225 ± 80 ^b	8548 ± 1535 ^a	492 ± 134 ^b	
<i>Methanobrevibacter</i> spp.		9.0 ± 0.7 ^a	0.7 ± 0.1 ^b	5.7 ± 1.9 ^c	0.8 ± 0.1 ^b	
<i>Roseburia</i> spp.		5.3 ± 0.6 ^a	1.3 ± 0.2 ^b	5.3 ± 0.9 ^a	0.9 ± 0.1 ^b	
Firmicutes/Bacteroidetes ratio		3.5 ± 0.7 ^a	1.2 ± 0.3 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	13 ± 1.8 ^b	



Таким образом, можно говорить о ремоделировании микробиоты за счет КД в модели РАС.



В исследование Xie G. et al. взяты 14 пациентов с эпилепсией (1.95 ± 3.10 лет, 11 мальчиков и 3 девочки), в соответствии со следующими критериями : приступы не менее 4 раз в неделю, после лечения ≥ 3 АЭП; не принимавших антибиотики 1 месяц и более; не имеющие известные генетические метаболические синдромы и системные заболевания.

Xie G. Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy. *World J Gastroenterol.* 2017 Sep 7;23(33):6164-6171



Контрольная группа: 30 здоровых пациентов (3 года и старше, 15 мальчиков, 15 девочек): не принимавших антибиотики 1 месяц и более, не имеющих приступы.



Пациентам с эпилепсией была
назначена КД.



После недели КД у 3 (21%) отмечено прекращение приступов, у 6 (43%) отмечено урежение приступов на 50-90%. у 5 (36%) существенное изменение частоты приступов не отмечено.



Показатели микробиоты пациентов после КД были в ближе к показателям здоровой группы больше чем показатели до диеты.

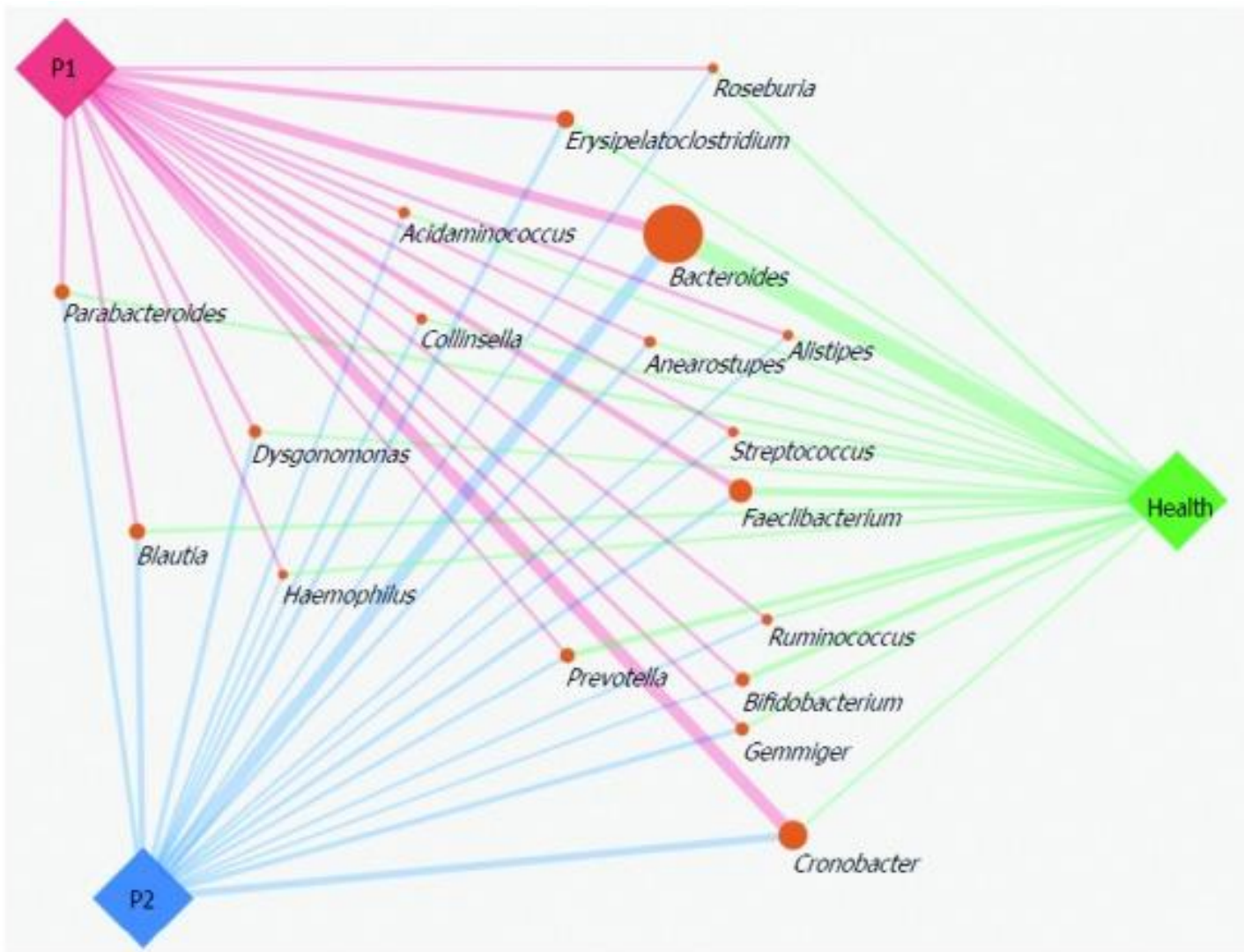


После КД отмечен рост *Bacteroides* на 24.42%. *Prevotella* также увеличились с 0.37% до 1.85% после КД. *Cronobacter* уменьшились с 23.3% до 10.44 %.

КД уменьшала *Erysipelatoclostridium* (с 8.67% до 4.89%) при наличии их только у 0.64% здоровых пациентов.

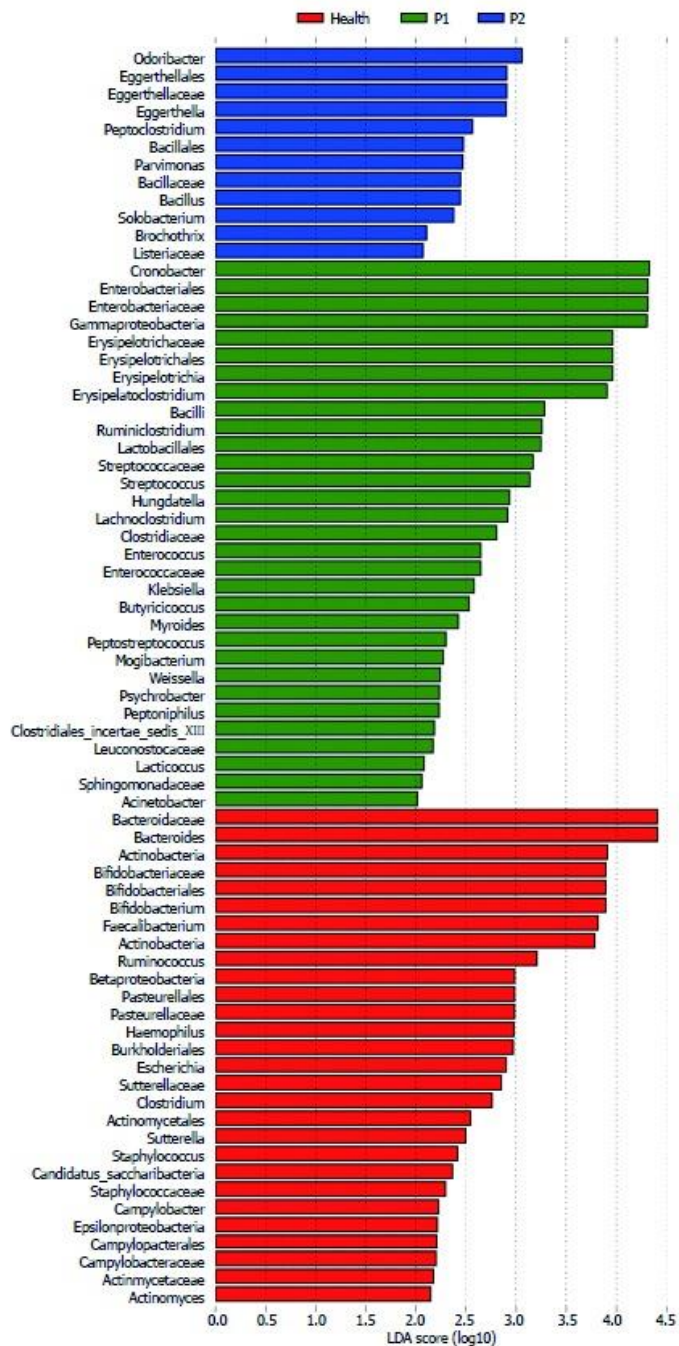
Streptococcus, *Alistipes*, *Ruminiclostridium*, *Barnesiella* и *Enterococcus* так же снижались.





P1 – группа до КД, P2 – группа после диеты





В исследовании Swidsinski A. et al. пациентов с рассеянным склерозом изменения в микробиоме во время кетогенной диеты были однозначны. За исключением *Akkermansia*, все группы бактерий демонстрируют более или менее заметное снижение, что приводит к снижению общих концентраций бактерий с 65 до 25×10^9 на мл на 2-й неделе.

Swidsinski A. Reduced Mass and Diversity of the Colonic Microbiome in Patients with Multiple Sclerosis and Their Improvement with Ketogenic Diet. Front Microbiol. 2017 Jun 28;8:1141



Общая бактериальная концентрация у пациентов с РС начала увеличиваться на 12-й неделе, достигнув значений, типичных для здоровых пациентов на 23/24-й неделе, значительно превышая бактериальную концентрацию у пациентов с РС до диеты и статистически не отличаясь от средней бактериальной концентрации у здоровых пациентов.



Colonic microbiome in healthy and MS patients prior to and during the ketogenic diet.

Week	Healthy	MS				t-test
	A	B	C	D	E	
	Mean ± SD concentrations	Initial Mean ± SD concentrations	2 Mean ± SD concentrations	12 Mean ± SD concentrations	23/24 Mean ± SD concentrations	
Diversity of microbiome as % of substantial bacterial groups (35) positive in each patient	75 ± 15	48 ± 19	35 ± 13	38 ± 6.9	51 ± 10.6	A/B,C,D,E P < 0.001; B/C P = 0.03–0.05; E/B P = 0.07; E/C P < 0.001; E/D P = 0.05
All bacterial groups x10 ⁹ bacteria/ml	85.4 ± 25.6	65 ± 23.1	25.1 ± 17.2	36.4 ± 16.8	83 ± 25.8	A/B,C,D P < 0.001; A/E P = 0.7; B/C,D P < 0.001; E/B P = 0.02; E/C,D P < 0.0001
ESSENTIAL						
All Essential bacteria (N = 3)	36.2 ± 14.7	24.6 ± 9.5	10.7 ± 8.4	16.1 ± 7.4	34.4 ± 10	A/B,C,D P < 0.001; A/E P = 0.4; B/C P = 0.001; B/D P = 0.7; E/B P = 0.05; E/C,D P < 0.001
Erec482 (<i>Eubacterium rectale</i> , <i>Clostridium coccooides</i> group)	11.7 ± 6.9	6.7 ± 5.8	6.1 ± 2.8	6.4 ± 5.3	10.7 ± 7.3	A/B,C,D P = 0.02–0.002; A/E P = 0.6; B/C P = 0.2; B/D P = 0.9; E/B,C,D P = 0.03–0.02
Bac303 (<i>Bacteroides</i>)	12.9 ± 5.3	9.1 ± 4.9	3.4 ± 3.1	4.2 ± 2.7	11.4 ± 6.2	A/B,C,D P < 0.001–0.006; A/E P = 0.3; B/C,D P = 0.001–0.002; E/B P = 0.09; E/C,D P < 0.001
Fprau (<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>)	11.6 ± 5.9	8.8 ± 5.1	2.7 ± 4.2	5.7 ± 4	12.2 ± 7.9	A/B P < 0.05; A/E P = 0.8; B/C,D P = 0.001; B/D P = 0.08; E/B P = 0.05; E/C,D P < 0.001–0.007
INDIVIDUAL PIONEER						
All Individual pioneer bacteria (N = 4)	7.8 ± 5	6.7 ± 5.3	2.5 ± 3.2	1.9 ± 3	2.7 ± 4.3	A/B P = 0.4; A/C,D P = 0.001–0.005; A/E P = 0.004; B/C P = 0.03; B/D P = 0.008; E/B P = 0.03; E/C,D P = 0.5–0.2
Ebac1790 (<i>Enterobacteriaceae</i>)	0.25 ± 0.8	0.5 ± 1.4	0.4 ± 1.2	0.05 ± 0.2	0.15 ± 0.8	All P > 0.25
Bif153 (Genus <i>Bifidobacterium</i>)	7.1 ± 5.5	5.7 ± 4.9	2.1 ± 2.4	1.8 ± 3	2.1 ± 3	A/B P = 0.3; E/C,D P > 0.85; A/C,D P < 0.001; B/C,D P = 0.02–0.03; E/B P = 0.008; E/A P < 0.001
Clit135 (<i>Clostridium lituseburense</i> group including <i>C. difficile</i>)	0.5 ± 0.86	0.4 ± 1.2	0	0.03 ± 0.09	0.2 ± 0.6	All P > 0.1
Cdif198 (<i>Clostridium difficile</i>)	0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.2	0	0.001 ± 0.003	0.2 ± 0.6	All P > 0.3



Добавление в терапию пробиотиков значительно улучшает поведенческие функции у пациентов с РАС (Navarro et al., 2016; Slattery et al., 2016)



The background features a repeating pattern of abstract geometric shapes, including horizontal and vertical lines, L-shaped brackets, and T-shaped symbols. These shapes are rendered in two colors: a vibrant teal and a muted grey, set against a plain white background. The shapes are scattered across the entire page, creating a modern, technical aesthetic.

ИНТЕРВАЛЬНАЯ ГИПОКСИ- ГИПЕРОКСИТЕРАПИЯ

Этой методикой является процедура гипокси-гиперокситерапии, во время которой проводится последовательная смена дыхания воздушной смесью обедненной и обогащенной кислородом.

Гипоксическая смесь – 9–15% кислорода
Гипероксическая смесь – 30% кислорода



-
- Каждый этап занимает 2–4 минуты
 - общая длительность цикла 40 минут
 - Уровень содержания кислорода снижается до 14–8%
 - Степень гипоксии подбирается индивидуально (40 режимов тренировок)



Процедура гипоксии-гиперокситерапии позволяет сформировать пул «здоровых митохондрий», близких по качеству наиболее эффективным, минимально поврежденным копиям мтДНК (wild-type mtDNA)





СУППЛЕМЕНТАЦИЯ

- **Применение витамина Д под контролем концентрации** (Jia F. Core symptoms of autism improved after vitamin D supplementation. Pediatrics. 2015 Jan;135(1):e196-8)
- **Применение витамина В6, В9 и В12** (Kałużna-Czaplińska J. A focus on homocysteine in autism. Acta Biochim Pol. 2013;60(2):137-42)
- **Применение Омега3** (Parellada M. Randomized trial of omega-3 for autism spectrum disorders: Effect on cell membrane composition and behavior. Eur Neuropsychopharmacol. 2017 Dec;27(12):1319-1330)



ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

- Применение антибиотиков и пробиотиков
- Противовирусная терапия
- Противогрибковая терапия
- Иммуноглобулинотерапия



Нами созданы протоколы диагностики метаболических и воспалительных (иммунологических) нарушений по результатам которых проводится формирование протокола лечения



Таким образом смещение акцентов терапии РАС в сторону использования метаболической митохондриальной терапии позволяет подвести биологический базис под комплекс поведенческой реабилитации.







Vasily Generalov



Василий Генералов



ketoplaneta



VEEG.RU