

# Peptidmønstre i urin hos barn med mildere former for autisme

## Sammendrag

**Bakgrunn.** Autisme er en alvorlig utviklingsforstyrrelse og representerer trolig en heterogen gruppe. Studier har vist at det er økte mengder av peptider i urin hos mennesker med autismspekterforstyrrelser. Dette kan skyldes utvalget som har vært studert. Barn med autisme uten mental retardasjon (også kalt høytfungerende autisme) og med mild mental retardasjon kan representere en mer homogen del av autismspekteret. Hensikten i denne studien er å sammenlikne peptidmønstre i urin fra en slik gruppe pasienter med peptidmønstre i urin hos friske kontrollpersoner. Dette har ikke vært gjort tidligere.

**Materiale og metode.** Morgenurin fra pasienter og fra barn uten diagnose ble samlert ned umiddelbart for å hindre bakterievekst og enzymatisk nedbryting. Peptider fra urinen ble senere analysert ved bruk av fasereversert høytrykksvæskrokromatografi (high pressure liquid chromatography, HPLC).

**Resultat.** Det var ingen signifikant forskjell i utskillelse av peptider mellom autismsgruppen og kontrollgrupper. Det kom frem en klar negativ aldersavhengighet, med fallende verdier med økende alder. Tre i autismsgruppen (17 %) og én i den familiære kontrollgruppen (5 %) hadde spesielt høye verdier av totalpeptider i urin. Ingen i kontrollgruppen av ikke-familiære skolebarn hadde tilsvarende verdier.

**Fortolkning.** Denne studien viser at mildere former av autisme ikke kan identifiseres fra urinprofil.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på [www.tidsskriftet.no](http://www.tidsskriftet.no)

**Oppgitte interessekonflikter:** Ingen

### Eili Sponheim

[eili.sponheim@medisin.uio.no](mailto:eili.sponheim@medisin.uio.no)

### Anne Margrethe Myhre

Senter for psykisk helse – barn og unge  
Kvinne-Barn-Divisjonen  
Ullevål universitetssykehus  
Sogn senter for barne- og ungdomspsykiatri  
Postboks 26 Vinderen  
0319 Oslo

### Karl Ludvig Reichelt

Pediatrik forskningsinstitutt  
Rikshospitalet

### Odd O. Aalen

Institutt for medisinske basalfag  
Universitetet i Oslo

Autisme er en alvorlig utviklingsforstyrrelse med livslang varighet. Tilstanden innebærer svekket evne til sosial interaksjon, svekket evne til å forstå og ta del i verbal og ikke-verbal kommunikasjon samt snever og repetitiv atferd. Flere gutter enn jenter får en slik diagnose. Syndromet kommer til syne i tidlig barnealder, og symptomene oppfattes som uttrykk for en primær nevrobiologisk dysfunksjon i et eller flere enn uidentifiserte systemer i hjernen. Genetiske komponenter spiller sannsynligvis en vesentlig rolle, men etiologien er ennå ikke klarlagt (1). Typisk barneautisme forekommer hos 1–2 av 1 000, men atypiske varianter affiserer et større antall. Vi regner med at 6/1 000 har avvik innen det vi nå kaller autismspekterforstyrrelser som en samlebetegnelse (2, 3).

Alvorlighetsgrad og intellektuell fungering hos mennesker med autismspekterforstyrrelser varierer fra alvorlig psykisk utviklingshemning til evnemessig god funksjon. Alvorlige grader av mental retardasjon er ofte forbundet med medisinsk tilleggsdiagnose, og i slike populasjoner forsvinner den skjeve kjønnsfordelingen (3–5). I enkelte studier av mennesker med autisme er det påvist at opptil 90 % har medisinske avvik eller medisinsk tilleggsdiagnose (6, 7). Når det korrigeres for mental retardasjon, er det argumentert for at bare tuberøs sklerose er assosiert med autisme (8). Aspergers syndrom representerer en lettere variant i spekteret med mindre kognitive og kommunikative avvik. I denne gruppen er det en stor overvekt av gutter. Det er argumentert for at autisme med og uten alvorlig mental retardasjon kan representere ulike etiologi og at autisme uten alvorlig mental retardasjon er en primær og sterkere genetisk betinget form enn autisme med alvorlig retardasjon

(1). For å kunne studere det som særmerker autisme, er det i senere år oftest tatt utgangspunkt i den delen av spekteret som representerer autisme uten moderat eller alvorlig retardasjon.

Flere tidligere studier har påvist større konsentrasjoner av peptider i urin hos barn med autismsdiagnose enn hos friske kontrollpersoner hvor det kun finnes i små mengder. I tillegg er det beskrevet relativt karakteristiske peptidmønstre hos de samme barna (9–11). Ved hjelp av sensitive metoder kan peptidene bestemmes kvalitativt og kvantitativt. Det har spesielt vært fokusert på eksomorfinene kasomorfin, gliadorfin og tryptofanmetabolitten IAG (indolyl-3-acryloyl-glycine). Dette er inkomplette nedbrytningsprodukter fra kasein (ostestoff i melk) og gluten (i mel). IAG er knyttet til nedbrytningen av tryptofan i tarm. Funnene har ikke alltid sammenfalt med klinisk diagnose.

Kurativ behandling av autisme er ikke kjent. Dagens behandling er i hovedsak rettet inn mot å øke barnets kommunikative ferdigheter. Mange behandlingsmetoder har vært prøvd, blant annet diett basert på peptidanalyser av urin (12–16). Diagnosen autisme stilles i dag på grunnlag av visse atferdskriterier. Det vil alltid ligge en viss grad av subjektivitet i en slik diagnostisering. Det ville derfor være av stor betydning om diagnosen kunne underbygges med biokjemiske markører.

Målet for studien var å undersøke om peptidmønstre i urin fra barn med mildere former av autisme avviker fra peptidmønstre i urin hos friske kontrollpersoner.

## Materiale og metode

Pasienter og kontrollpersoner var i alderen opp til pubertert. Søskene ble inkludert om de var noe eldre. Ingen ble behandlet for annen sykdom. Alle spiste vanlig mat. Innsamlingen foregikk i sommerhalvåret (tab 1).

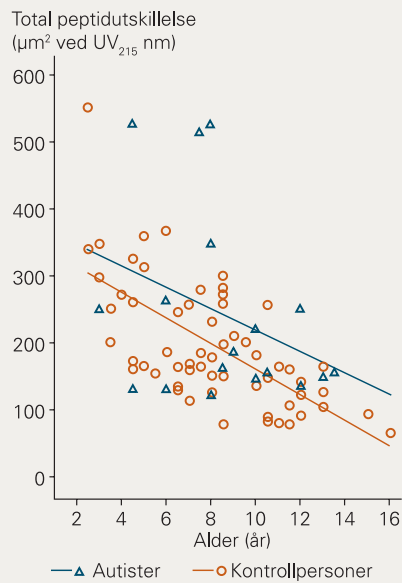
Barn som hadde vært innlagt ved Sogn senter for barne- og ungdomspsykiatri i Oslo



## Hovedbudskap

- Peptider i urin kan ikke brukes som markør for å identifisere barn med mildere former av autisme
- Hos et mindretall av barn med mild form av autisme fant vi forhøyede verdier av peptider i urinen

**Figur 1**



Peptidutskillelse i urin hos høytfungerende autistiske barn og hos friske barn

i perioden 1995–2001 ble identifisert via pasientregisteret (n = 18, gjennomsnittlig alder 8,6 år). Med unntak av to pasienter kom alle fra Helse Øst eller Helse Sør. 30 av 31 forespurte svarte på henvendelsen, og 77,4 % takket ja til å delta i studien.

Barn med diagnose i kategoriene barne-

autisme (F 84.0) uten mental retardasjon (n = 6, gjennomsnittsalder 7,7 år), barneautisme og mild mental retardasjon (n = 5, gjennomsnittsalder 7,7 år) og Aspergers syndrom (F 84.5, n = 7, gjennomsnittsalder 9,9 år) ble inkludert. Diagnose var bekreftet ved Autism Diagnostic Interview (ADI-R) (17), Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS) (18), evnetester, utviklingstester og i konsensus blant teammedarbeiderne som hadde møtt barnet i ulike situasjoner under oppholdet. Eksklusjonskriterier var ytre tegn på begynnende puberteten (med unntak av søsken), mental retardasjon (med unntak av mild grad), annen kjent somatisk eller psykiatrisk sykdom eller bruk av medikamenter.

Barn fra en barneskole i samme region ble bedt, via helsesøster, om å delta (kontrollpersoner). Det ble supplert med barn fra barnehager i samme område. Barna fulgte vanlig utvikling på skolen og i barnehagen og det var ikke bekymring knyttet til deres atferd. Barna hadde ingen kjent medisinsk sykdom og brukte ikke medikamenter (n = 43, gjennomsnittlig alder 7,6 år). Familiære sykdommer var ikke kartlagt.

Søsken til barn i pasientgruppen ble brukt som kontrollgruppe. Disse fulgte normalutvikling og var oppfattet som friske og brukte ikke medisiner (n = 19, gjennomsnittsalder 8,9 år).

Morgenurin fra pasienter og barn uten diagnose ble fryst ned umiddelbart for å hindre bakterievekst. Peptider fra urinen ble

senere analysert ved bruk av fasereversert høytrykksvæskeskromatografi (high pressure liquid chromatography, HPLC).

Studien var godkjent av regional etisk komité. Deltakelse ble basert på skriftlig samtykke av foreldrene som hadde mottatt skriftlig orientering om studien. Det er ingen økonomiske interesser knyttet til studien.

**Resultater**

Det var overvekt av gutter i alle grupper bortsett fra i søskengruppen (tab 1). Alle barn med diagnose ble slått sammen til en gruppe kalt autismspekterforstyrrelse. Sammenlikninger ble gjort både mellom gruppene autismspekterforstyrrelse og to kontrollgrupper (søsken og skolebarn), og mellom autismspekterforstyrrelsegruppen og den sammenslåtte kontrollgruppen.

Søskengruppen skilte seg ut ved at den hadde en annen kjønnsfordeling med flere jenter enn gutter, og aldersgjennomsnittet var noe høyere enn i skolebarngruppen og gruppen med autismspekterforstyrrelser. De med høyest alder i søskengruppen var jenter.

Det var ingen signifikant forskjell i utskillelse av peptider (totalt eller for enkeltpeptider) mellom gruppen med autismspekterforstyrrelser og de to kontrollgruppene (tab 2). Det kom frem en klar negativ aldersavhengighet, der verdiene falt med økende alder for totalpeptider i kontrollgruppen (R = -0,669; p = 0,01) og for IAG i både autismspekterforstyrrelsegruppen og kontrollgruppen (hhv. R = -0,538; p = 0,05 og R = -0,552; p = 0,01) (fig 1, fig 2). I gruppen med autismspekterforstyrrelser var det ikke signifikant negativ korrelasjon mellom total peptidutskillelse og alder.

Fire av barna hadde spesielt høye verdier av totalpeptider i urin. Tre av disse var i autismspekteret (17 %) og én i søskengruppen (5 %). De tre med diagnose fordelte seg på alle gruppene i autismspekteret, alle var gutter og de hadde ulik alder. I søskengruppen gjaldt dette en jente på 2,5 år. To av de samme, hhv. en gutt med autismediagnose og søster av denne gutten, hadde også spesielt høye verdier for IAG (fig 1, fig 2).

**Diskusjon**

Hensikten med studien var å måle peptidutskillelse i urin fra en mest mulig homogen gruppe barn med autismediagnose og å sammenlikne med peptidutskillelse i kontrollgrupper av friske barn. Vi fant ingen signifikant forskjell mellom gruppene for utskillelse i urin verken av totalpeptider eller av IAG. Utskillelse av peptider var fallende med økende alder, noe som er i tråd med tidligere funn (upublisert data), men i pasientgruppen var denne tendensen ikke signifikant for totalpeptider. Dette kan forklares av at pasientgruppen var liten. Tre i denne gruppen hadde spesielt høye verdier og skilte seg klart ut fra de andre. Disse tre representerte 17 % av barna i autismspektergruppen. En av disse hadde

**Tabell 1** Beskrivelse av pasienter og kontrollpersoner

Gruppe	Antall	Gutt:Jente	Alder i år (SD)
Autismspekter	18	17:1	8,6 (3,0)
Barneautisme (F 84.0)	6	6:0	7,7 (3,8)
Barneautisme og mild mental retardasjon	5	4:1	7,7 (2,8)
Aspergers syndrom (F 84.5)	7	7:0	9,9 (2,2)
Kontrollpersoner	62	42:20	8,0 (3,3)
Skolebarn	43	34:9	7,6 (2,8)
Søsken	19	8:11	8,9 (4,0)

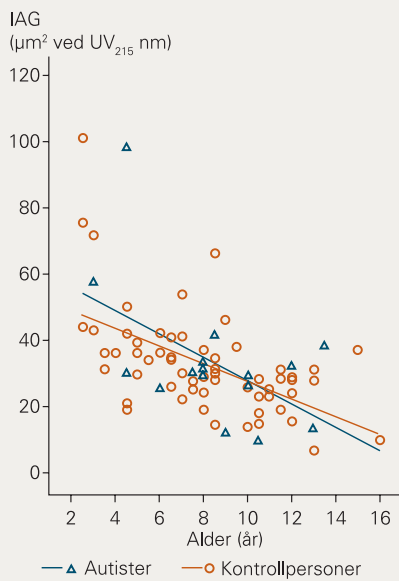
**Tabell 2** Peptidutskillelse i autismspektergruppen og to kontrollgrupper. Variansanalyse (ANOVA) med sammenlikningsgrupper og kjønn som faste effekter og alder som kovariat

Faktor	n	df	Totalpeptider <sup>1</sup>			Indolyl-3-acryloyl-glycine <sup>1</sup>		
			Gjennomsnitt (SD)	F	Signifikans	Gjennomsnitt (SD)	F	Signifikans
Gruppe								
ASD <sup>2</sup>	18		241 (142)			33 (20)		
Søsken	19		171 (114)			33 (21)		
Skolebarn	43	2,75	208 (82)	2,171	0,121	33 (13)	1,192	0,309
Kjønn								
Gutt	59		219 (104)			35 (15)		
Jente	21	1,75	172 (111)	0,127	0,723	27 (19)	2,891	0,093
Alder	80	1,75	207 (107)	32,129	0,000	33 (16)	30,813	0,000

<sup>1</sup> enhet: µm<sup>2</sup> ved UV<sub>215</sub> nm

<sup>2</sup> Autismspekterforstyrrelse

Figur 2



Utskillelse av IAG (indolyl-3-acryloyl-glycine) i urin hos høytfungerende autistiske barn og hos friske bar

også høye utskillelisesverdier av IAG. En i søskengruppen hadde også like høye verdier av både totalpeptider og IAG. Den ikke-familære kontrollgruppen i studien vår var stor, og det er derfor interessant at ingen i denne gruppen hadde tilsvarende høye verdier.

Den store overvekten av gutter i pasientpopulasjonen var ventet, fordi vi valgte barn i autismspekteret med relativt sterke kognitive funksjoner og liten sannsynlighet for medisinske tilleggslidelser. Pasientgruppen bestod av Aspergers syndrom, barneautisme uten mental retardasjon og barneautisme med mild mental retardasjon. Disse gruppene var små hver for seg og det kan derfor ikke trekkes sikre slutninger ved sammenlikning av hver av disse. Det er allmenn enighet om at disse tre undergruppene i autismspekteret bør ses under ett, og det er argumentert med at barneautisme med og uten alvorlig mental retardasjon er en bedre inndeling enn å skille ut Aspergers syndrom som egen kategori (19). Dette gir støtte for at vi har slått sammen de enkelte små gruppene til en større gruppe. Fortsatt var pasientgruppen liten, noe som er en svakhet med studien. Gruppen ble spesielt liten fordi vi satte strenge krav til diagnostikk og ekskluderte alle som hadde tilleggslidelser (unntatt mild mental retardasjon) eller som brukte noen form for medisin.

Mennesker med autismspekterforstyrrelser representerer en heterogen gruppe, og komorbiditet er regelen mer enn unntaket. Identifisering av undergrupper i autismspekteret kan være et viktig steg mot en mer spesifikk forståelse av årsakssammenhenger og kan åpne for mer spesifikke behandlingsopplegg.

Pasientene i denne studien representerer en relativt homogen gruppe i autismspekteret. I tidligere studier som har påvist forhøyede verdier for peptidutskillelse i urin, kan vi ikke se at det har vært gjort en tilsvarende klassifisering i undergrupper av pasienter. Man kan derfor ikke utelukke at pasientmaterialet i disse studiene er mer heterogent og at de økte verdiene av peptider i urin har sammenheng med, eller er knyttet til, ledsagende fenomener og ikke spesifikt til autismsediagnosen. På den annen side hadde 17% i vår pasientgruppe høye verdier for utskillelse av peptider. At vi ikke fant tilsvarende funn i den kontrollgruppen som bestod av barn uten familiær tilknytning til pasientgruppen, kan bety at det finnes undergrupper selv i en slik tilnærmet homogen gruppe som den vi har studert. Men høy verdi ble også påvist hos et søsken uten diagnose. Det vil si at høy utskillelse av totalpeptid ikke er ensbetydende med diagnosen autisme. Høy utskillelse er også påvist ved andre syndromer.

### Konklusjon

Denne studien gir ikke holdepunkt for at barn med mildere former av autisme kan identifiseres ut fra urinprofiler, men vi utelukker ikke at det er en sammenheng mellom andre undergrupper i autismspekteret og høye utskillelisesverdier av peptider i urin. Det er en liten gruppe som er studert, og flere studier trengs for å kunne trekke sikrere slutninger.

Manuskriptet ble godkjent 5.4. 2006.

### Litteratur

1. Nicolson R, Szatmari P. Genetic and neurodevelopmental influences in autistic disorder. *Can J Psychiatry* 2003; 48: 526–37.
2. Rutter M. Incidence of autism spectrum disorders: changes over time and their meaning. *Acta Paediatr* 2005; 94: 2–15.
3. Fombonne E. Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *J Autism Dev Disord* 2003; 33: 365–82.

4. Skjeldal OH, Sponheim E, Ganes T et al. Childhood autism: the need for physical investigations. *Brain Dev* 1998; 20: 227–33.
5. Volkmar FR, Szatmari P, Sparrow SS. Sex differences in pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1993; 23: 579–91.
6. Gillberg C, Coleman M. Autism and medical disorders: a review of the literature. *Dev Med Child Neurol* 1996; 38: 191–202.
7. Steffenburg S. Neuropsychiatric assessment of children with autism: a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 1991; 33: 495–511.
8. Fombonne E, Du MC, Cans C et al. Autism and associated medical disorders in a French epidemiological survey. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 1561–9.
9. Reichelt KL, Knivsberg AM. Can the pathophysiology of autism be explained by the nature of the discovered urine peptides? *Nutr Neurosci* 2003; 6: 19–28.
10. Reichelt WH, Knivsberg A-M, Nødland M et al. Urinary peptide levels and patterns in autistic children from seven countries, and the effect of dietary intervention after 4 years. *Dev Brain Dys* 2005; 10: 44–55.
11. Cade R, Privette M, Fregly M et al. Autism and chizophrenia: Intestinal disorders. *Nutr Neurosci* 2000; 3: 57–72.
12. Knivsberg A-M, Reichelt KL, Nødland M et al. Autistic syndromes and diet: a follow up study. *Scand J Educational Res* 2005; 39: 223–36.
13. Knivsberg AM, Reichelt KL, Høien T et al. A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutr Neurosci* 2002; 5: 251–61.
14. Lucarelli S, Frediani T, Zingoni AM et al. Food allergy and infantile autism. *Panminerva Med* 1995; 37: 137–41.
15. Millward C, Ferriter M, Calver S et al. Gluten- and casein-free diets for autistic spectrum disorder. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; CD003498.
16. Whiteley P, Rodgers J, Savery D et al. A gluten-free diet as an intervention for autism and associated spectrum disorders: Preliminary findings. *Autism* 1999; 3: 45–65.
17. Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1994; 24: 659–685.
18. Lord C, Risi S, Lambrecht L et al. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord* 2000; 30: 205–23.
19. Szatmari P, Merette C, Bryson SE et al. Quantifying dimensions in autism: a factor-analytic study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002; 41: 467–74.