

медицински третман**ИМУНОЛОШКИ ПРИСТАП ВО
ДИЈАГНОСТИКАТА НА АУТИЗМОТ***Мирко Ж. СПИРОСКИ*

Медицински факултет
Институт за имунобиологија и хумана
генетика

Резиме

Покрај невробихејвиоралните симптоми, до денес постојано се документираат промени во невротрансмитерите и во имуниот систем кај лицата со аутизам. Меѓусебната комуникација меѓу двата најголеми адаптивни система во човековиот организам, централниот нервен систем (ЦНС) и имуниот систем се одржува низ повеќекратни патишта и се остварува со невротрансмитери, хормони, цитокини, хемокини и нивните рецептори. Доказите за комуникација меѓу нервниот и имуниот систем произлегуваат од универзалниот концепт за невроимунолошка регулација на хомеостазата. Во овој труд се предлагаат неколку можни објаснувања за тоа како нарушувањата во секој од овие системи може да влијае врз невроимуната комуникација и да доведе до нарушувања, како и имунодијагностичките панели што служат за препознавање на имунопатолошките промени кај лицата со аутизам во Република Македонија.

Клучни зборови: аутизам, невроимунологија, имунодијагностички панели, Република Македонија

Адреса за кореспонденција:

Мирко Ж. СПИРОСКИ
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“
Медицински факултет
Институт за имунобиологија и хумана генетика
50 Дивизија бр. 6, 1109 Скопје, ПП 60, Р. Македонија
mspiroski@yahoo.com

medical treatment**IMMUNOLOGICAL APPROACH TO THE
DIAGNOSIS OF AUTISM***Mirko Zh. SPIROSKI*

Faculty of Medicine
Institute of Immunobiology and Human Genetics

Abstract

To date, neurotransmitter and immune abnormalities in autism are the only consistently documented findings other than neurobehavioral symptoms. Reciprocal communication between two major adaptive systems of human organism, the CNS and the immune system, is sustained via multiple pathways and is mediated by neurotransmitters, hormones, cytokines, chemokines, and corresponding cell receptors. Evidence for a dialogue between them has emerged as a universal concept of the neuroimmune regulation of homeostasis. In the paper we propose several plausible scenarios of how defects in either system may affect neuroimmune communications and lead to the pathology, as well as immunodiagnostic panels for recognition of immunopathological changes in people with autism in the Republic of Macedonia.

Key words: autism, neuroimmunology, immunodiagnostic panels, Republic of Macedonia

Corresponding Address:

Mirko Zh. SPIROSKI
“Ss Cyril and Methodius” University
Faculty of Medicine
Institute of Immunobiology and Human Genetics
50 Division No. 6, 1109 Skopje, PO Box 60, R. Macedonia
mspiroski@yahoo.com

Вовед

Покрај невробихејвиоралните симптоми, до денес постојано се документираат промени во невротрансмитерите и во имуниот систем кај лицата со аутизам. Меѓусебната комуникација меѓу двата најголеми адаптивни система во човековиот организам, **централниот нервен систем (ЦНС) и имуниот систем** се одржува низ повеќекратни патишта и се остварува со **невротрансмитери, хормони, цитокини, хемокини и нивните рецептори** (1). Доказите за комуникација меѓу нервниот и имуниот систем произлегуваат од универзалниот концепт за **невроимунолошка регулација на хомеостазата**.

Во овој труд ќе бидат опишани неколку можни механизми и како нарушувањата на секој од тие механизми што може да ја **нарушат невроимуната комуникација и да доведат до патолошка состојба**.

Примарно и мунолошко нарушување го најага ЦНС

Централниот нервен систем имунолошки се следи преку специјализирана, прилагодена форма. ЦНС не е целосно исклучен од циркулацијата - противтелата, како и имуните клетки може да поминат низ ендотелната крвно-мозочна бариера и да се движат низ мозочното ткиво. Вродениот имун систем во ЦНС го сочинуваат стационарни клетки во мозочниот паренхим (микроглија и астроглија) и во крвосадниот меѓупростор. Познато е дека микроглијалните клетки имаат особини на противген обработувачки клетки, како што е прикажувањето молекули од главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТСК) и костимулаторни молекули (2). Нивната имунорегулаторна функција се остварува преку прикажување противгени врз Т-Ли и поларизација на Т-Ли кон цитокинскиот одговор (Тпо1 наспроти Тпо2 лимфоцити). Оттука микроглијалните клетки имаат способност да го почнат имуниот одговор кон надворешни противгени или кон внатрешните дегенеративни процеси во ЦНС.

Introduction

To date, neurotransmitter and immune abnormalities in autism are the only consistently documented findings other than neurobehavioral symptoms. Reciprocal communication between two major adaptive systems of the organism, **the CNS and the immune system**, is sustained via multiple pathways and is mediated by **neurotransmitters, hormones, cytokines, chemokines, and corresponding cell receptors** (1). Evidence for a dialogue between them has emerged as a universal concept of the **neuroimmune regulation of homeostasis**.

In this paper we will describe several plausible scenarios of how defects in either system may **affect neuroimmune communications and lead to the pathology**.

Primary Immune Dysfunction Targeting the CNS

The CNS is subject to immune surveillance, though in a specialized, adapted form. The CNS is not completely secluded from circulating immune factors: antibodies as well as immune cells can pass through the endothelial blood-brain barrier and migrate through brain tissues. The innate CNS immune system is represented by resident cells within the brain parenchyma (microglia and astroglia) and at the vascular interface. Microglial cells are known to have features of Antigen-presenting cells (APC), such as an expression of Major Histocompatibility Complex (MHC) and costimulatory molecules (2). Their immunoregulatory functions feature antigen presentation to T cells and polarization of T-cell cytokine responses (Th1 versus Th2). Thus, microglia cells have the potential to initiate immune responses to exogenous antigens or endogenous degenerative processes within the CNS.

Примарното имунолошко нарушување е докажано во неколку заболувања, вклучувајќи ги мултиплата склероза (МС), мијастенија гравис и синдромот на Гилян-Баре (Guillain-Barre). Исто така се најдени невробихејвиорални нарушувања во автоимуни глумци кои спонтано развиваат системско лупусовидно автоимуно заболување, придружено со последователни промени во поведението (3).

Денешното знаење на невроимуната патологија во ЦНС, главно, е добиено од испитувањата на мултиплата склероза и нејзиниот животински модел, експериментниот автоимун енцефаломиелит. Мултиплата склероза се карактеризира со прогресивна или повторувачка невродегенерација од автоимуно потекло (4). Во развојот на заболувањето мозочното ткиво го напаѓаат имуните фактори од крвотекот и стационарните имунокомпетентни клетки. Тоа се искажува со карактеристични оштетувања на Т-Ли субпопулации, со појава на противмиелински противтела во цереброспиналната течност и со локален имун одговор во мозокот преку активирање на микроглијалните клетки. Како последица на тоа, во мозокот на болните од мултипла склероза се гледаат невродегенеративни оштетувања, кои се состојат од демиелинизирачки подрачја со расфрлани воспалителни инфилтрати што содржат Т-Ли од крвотекот, Б-Ли кои лачат противтела кон миелинските молекули и голем број макрофаги. Во акутната фаза на мултиплата склероза се забележува активна системска лимфоцитна миграција кон ЦНС, додека хроничната фаза се карактеризира со активирани микроглијални клетки, насобирање на макрофаги и повеќе Т-Ли.

Наодите на противмозочни автопротивтела кај лицата со аутизам, заедно со честиот наод на автоимуно заболувања во нивните фамилии, сугерира вклучување на автоимунитетот барем во една подгрупа од лицата со аутизам. Меѓутоа, клиничката слика на аутизмот не се совпаѓа со онаа од класичната автоимуна патологија на ЦНС.

A causative role of primary immune dysfunction is confirmed for a number of disorders including multiple sclerosis (MS), myasthenia gravis, and Guillain-Barre's syndrome. Neurobehavioral impairments are also found in autoimmune mice spontaneously developing a systemic, lupus-like autoimmune disease; disease progression is accompanied by a cascade of behavioral changes (3).

The current understanding of the CNS neuroimmune pathology has emerged mainly from studies of MS and its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis. MS is characterized by progressive or remitting-relapsing neurodegeneration of autoimmune origin (4). In the course of the disorder, brain tissues are targeted by both blood-borne immune factors and by resident immunocompetent cells. This is manifested by characteristic T cell subset alterations, the appearance of anti-myelin auto-antibodies in the CSF, and a local immune response within the brain via the activation of microglia. The resulting neurodegenerative damage typically seen in the brain of MS patients comprises demyelinated areas with patchy inflammatory infiltrates containing blood-derived T cells, B cells secreting anti-myelin component antibodies, and a large number of macrophages. The acute phase of MS features active systemic lymphocyte migration into the CNS, while the chronic course is characterized by activated microglia and an accumulation of macrophages with a paucity of T cells.

Evidence of anti-brain auto-antibodies found in autistic patients together with a clustering of autoimmune diseases in their families suggests the involvement of autoimmunity at least in a subset of autism. However, the clinical features of autism do not fit the scenario of classical autoimmune CNS pathology.

Спротивно од мултиплата склероза, каде што присуството на противмиелински авто-противтела во ЦНС е здружено со демиелинизација, кај лицата со аутизам не е најдена демиелинизација било невроанатомски било со магнетна резонанца (5, 6). Дополнително не се најдени ни глиоза ни докази за воспалителни промени или претходни аноксични напади. Тоа укажува на отсуство на воспаление и/или активација на микроглијалните клетки во мозокот од лицата со аутизам. Мерењето воспалителни обележувачи во цереброспиналната течност од лица со аутизам не дало докази за воспаление (7, 8).

Може да заклучиме дека ако имуното нарушување е примарната причина за аутизмот, тогаш тоа е атипично автоимунно заболување. Ако автоимунитетот или другите имуни нарушувања учествуваат во специфичните промени во мозокот од лица со аутизам, се очекува дека овие промени се случиле пред или во тек на невробихејвиоралните појави. Овие промени може да се споредат со паранеопластичните невролошки заболувања. Паранеопластичните невролошки заболувања се автоимунни состојби што се јавуваат во тек на туморигенезата кога малигните клетки почнуваат да прикажуваат противгени кои нормално се само врз невроните (онконеурални противгени) (9). Поради тоа, противтуморскиот имунитет во пациентите со паранеопластични невролошки заболувања предизвикуваат тешка невронска дегенерација на речиси секоја група неврони, вклучувајќи ги и оние од лимбичкиот систем, малиот мозок, ретината, мозочното стебло и 'рбетниот мозок. Кај пациентите со паранеопластични невролошки заболувања имуниот систем напаѓа само еден онконеурален противген, кој дава специфични невролошки симптоми. Во почетокот противонконеуралните противтела влегуваат во ЦНС со дифузија, а потоа ги напаѓаат критичните функционални епитопи (делови од молекулата), уништувајќи ја функцијата на противгенот (10).

In contrast to MS, where the presence of anti-myelin auto-antibodies in the CNS is associated with demyelination, no signs of autism-related demyelination have been found either on magnetic resonance imaging or neuroanatomically (5, 6). In addition, neither gliosis nor evidence of inflammatory changes or previous anoxic insult was observed indicating the absence of persistent inflammation and/or activation of microglia in the autistic brain. Screening for inflammation markers in the CSF of children with autism also found no evidence of inflammation (7, 8).

We can conclude that, if immune dysregulation is a primary cause of autism, it is an atypical immune disease. If autoimmunity or other immune abnormalities do account for specific dysfunction in the autistic brain, these phenomena are expected to precede and/or occur at the time of neurobehavioral onset. In this regard, the putative mechanism of autoimmune pathology with an atypical scenario may resemble paraneoplastic neurologic disorders (PNDs). PNDs are autoimmune conditions arising in the course of tumorigenesis when malignant cells begin to express antigens that are normally present only on neurons (onconeural antigens) (9). Thus, the anti-tumor immunity in PND patients causes severe neuronal degeneration whereby almost any group of neurons can be potentially damaged, including those of limbic system, cerebellum, retina, brainstem and spinal cord. In each PND case, the immune system targets normally only one onconeural antigen, giving rise to a discrete set of neurological symptoms. Initially, anti-onconeural antibodies may gain access to the CNS by passive diffusion, and then target critical functional epitopes disrupting the function of the antigen (10).

Во исто време „се покануваат“ активирани противген-специфични Т-Ли во мозокот од резидентните противген-обработувачки клетки што прикажуваат онконеврални противгени. Процесот е придружен со воспалителна каскада со локално создавање цитокини. Тоа ја зголемува пропустливоста на крвно-мозочната бариера што овозможува понатамошно навлегување на активирани Т-Ли.

Карактеристичниот сет бихејвиорални симптоми во аутизмот сугерира дека може да се оштетат само специфични групи неврони. Ова се поддржува со отсуството на големи морфолошки нарушувања најдени во мозокот од лица со аутизам (5). Многу тесниот интервал на појавување на аутизмот сугерира дека недостигот се јавува во определен период од невrorазвојниот програм. Во овој смисол, патологијата кај аутизмот може да се разгледува како аберантен имун одговор кон развојно прикажаните противгени кај подложните индивидуи. Подоцна, привременото прикажување на противгените предизвикува повеќе преодно отколку постојано автоимуно заболување. Исто така, бидејќи недостигот на нормалниот невrorолошки развој се случува во антенаталниот или во раниот постнатален период од детскиот живот, сериозно треба да се анализира влијанието на мајчиниот организам врз развојот на аутизмот.

Дефектот во ЦНС секундарно доведува до имуни нарушувања

Во втората варијанта од невроимуната патогенеза на аутизмот се поставува како прво нарушувањето на ЦНС, кое подоцна предизвикува имун одговор. Овие имунолошки нарушувања подоцна може да придонесат за ширење на оштетувањата низ ЦНС или да останат како епифеномен. Сигналите од ЦНС, кон имуниот систем може потенцијално да се пренесат преку два патишта: симпатикусниот нервен систем (СНС) и хипоталамо-хипофизно-надбубрежна оиска (ХХНО).

In parallel, activated antigen-specific T-cells are “invited” into the brain by resident APC presenting onconeural antigens. The process is accompanied by an inflammatory cascade including the local production of cytokines. This, in turn, increases permeability of the blood-brain barrier and promotes further intake of activated T-cells.

The characteristic set of neurobehavioral symptoms in autism suggests that only specific groups of neurons may be affected. This is in line with the absence of gross morphological abnormalities found in autistic brains (5). Moreover, the very narrow interval of autism onset suggests that the failure occurs only within a certain period of the neurodevelopmental program. If this is the case, the autistic pathology may be viewed as an aberrant immune response to developmentally expressed antigens in susceptible individuals. Then the transient antigen expression would cause also a transient rather than persistent autoimmune process. Also, since the failure of normal neurodevelopment happens most likely during antenatal or early postnatal period of a child’s life, an influence of mother’s organism has to be seriously considered.

CNS Defect Leading Secondarily to Immune Abnormalities

The second scenario of neuroimmune pathogenesis in autism implies that an inherent CNS defect occurs first, triggering an immune response. These immune changes, in turn, may then contribute to further spread of CNS damage or remain an epiphenomenon. The signals from the CNS to the immune system may be potentially transmitted via two major pathways, the sympathetic nervous system (SNS) and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.

Активација на кој било од овие патишта доведува до општи имуносупресивни и противвоспалителни дејства врз имуниот систем (1). Централниот нервен систем може да ги смени особините на имуните клетки додека тие патуваат низ мозочниот паренхим. Опишани се влијанија на оштетениот ЦНС врз имуниот систем во неколку студии, каде што оштетувањата на специфичните подрачја од мозокот или стресот предизвикуваат промени во имунолошката состојба на имуниот систем во периферијата (крвта) (11, 12). Вкрстениот разговор меѓу ЦНС и имуниот систем се остварува со употреба на општите цитокини и со невротрансмитерите. На пример, цитокините што ја регулираат хематолимфопоезата (создавањето имуни клетки во крвта) истовремено ја регулираат и морфогенезата (создавањето) и зреењето на клетките во нервната система (13). Ендокрините хормони и цитокините многу често служат како пренесувачи во патеките од ЦНС и го контролираат нивното создавање. На крајот, деноноќните ритмики (вклучувајќи ги и имуните одговори) што ја координираат физиологијата на организмот како целина, се случуваат во ЦНС. Нарушувањата на деноноќниот часовник ги менуваат симптомите на некои имуни заболувања, како што е астмата, ревматоидниот артрит и мултипла склерозата. Најдено е нарушување на деноноќниот часовник кај аутизмот и кај други патологии на ЦНС (Верникеова енцефалопатија, Алцхајмерова болест, локализиран хипоталамусни заболувања). Во испитувањата на аутизмот сите испитани лица покажувале нарушување во деноноќниот ритам на мелатонинот, сугерирајќи хипофункција во пинеалната жлезда (14).

Во заклучок, доколку имуните нарушувања настануваат секундарно кај лицата со аутизам, се очекува многу од различни одговори што варираат од лице до лице. Отсуството на јасно дефиниран облик на имунолошко нарушување кај лицата со аутизам оди во прилог на оваа хипотеза.

The activation of either pathway has, but is not limited to, general immunosuppressive and anti-inflammatory effects on the immune system (1). The CNS may also modify properties of immune cells as they pass through the brain parenchima. The projection of CNS injury on the immune system has been documented in a number of studies where lesions in specific regions of the brain or stress stimuli induced changes of immune status in the periphery (11, 12). Cross-talk between the CNS and the immune system is sustained through the use of common cytokines and neurotransmitters. For instance, cytokines regulating hematolymphopoiesis also regulate morphogenesis and maturation of nervous cells (13). The endocrine hormones and cytokines often serve as messengers in the CNS pathways that control their own production. Finally, circadian rhythms coordinating whole organism physiology, including the immune response, are generated within the CNS. Perturbations of the circadian clock are known to affect symptoms of some immune-mediated diseases, such as asthma, rheumatoid arthritis, and multiple sclerosis. Interestingly, the circadian clock was also found impaired in autism and in a number of brain pathologies (Wernicke's encephalopathy, Alzheimer's disease, localized hypothalamic disorders). In study conducted on autism, all examined patients demonstrated abnormal melatonin circadian rhythm, suggesting a pineal endocrine hypofunction (14).

In conclusion, if immune changes were secondary events in autism, one would expect to see a broad spectrum of responses, varying between individuals. The absence of defined patterns of immune alterations in autistic patients is consistent with this hypothesis.

Заедничкиѝе нарушувања меѓу нервни- оѝ и имуниоѝ систем

Заедничките нарушувања на ЦНС и на имуниот систем може да настанат поради истовремен недостиг само во овие два система од човековиот организам или поради примарна причина што е надвор од овие два система, а влијае и врз двата система. Невралните симптоми во аутизмот и другите первазивни развојни нарушувања остануваат незабележани во споредба со очигледната психијатриска слика. Повеќето автори објавуваат непрепознаени промени во црниот дроб и во дигестивниот систем кај лицата со аутизам. Најдена е нарушена црnodробна детоксификација (што ја надминува максималната толеранција кај возрасни) кај сите 20 деца со дијагноза на аутизам (15). Најдена е нарушена пропуштливост на цревата кај 9 од 21 лице со аутизам, но кај ниедно од 40 контроли, што сугерира дека има нарушување во цревната мукоза (16). Понатамошните студии открија хронични гастроинтестинални нарушувања како рекурентен наод кај лицата со аутизам (17). Ние најдовме значително зголемени концентрации на ИгГ4 кај децата со аутизам од двата пола, зголемени концентрации на ИгГ1 кај машките деца со аутизам и зголемени вредности на ИгГ и ИгГ1 кај женските деца со аутизам во споредба со нивните здрави браќа, односно сестри (18). Во најновиот труд ги изнесовме резултатите од специфичните противтела кај децата со аутизам во Република Македонија и најдовме дека ИгА, ИгГ и ИгЕ специфичните противтела во плазма за алфа-лакталбумин (f76), бета-лактглобулин (f77), казеин (f78), глутен (f79), и глијадин (f98), како и вкупниот ИгЕ се значително зголемени (19). Најновите епидемиолошки испитувања покажаа дека кај 18.8% од лицата со аутизам се најдени симптоми за гастроинтестинални нарушувања (20).

Defects Shared between the Nervous and Immune Systems

Parallel changes that occur in both the CNS and the immune systems in the course of the disease may be due to a deficiency inherent only to these two systems or reflect a more complex systemic condition where the primary source of pathology is located elsewhere, but influence to these two systems. Non-neural symptoms in autism and other pervasive developmental disorders may remain unnoticed compared to the more obvious psychiatric features. Multiple reports have suggested unrecognized liver/gut involvement in autism. Abnormal liver detoxification profiles exceeding adult maximum tolerance were found in all of 20 children diagnosed with autism (15). Abnormal intestinal permeability suggesting gut mucosal damage was noted in 9 of the 21 autistic patients, but in none of the 40 controls (16). Further studies identified chronic gastrointestinal abnormalities as recurrent findings in autistic children (17). We found significantly increased concentrations of IgG4 in the children with autism of both male and female, increased concentrations of IgG1 in male children with autism, and increased concentrations of IgG and IgG1 in the female children with autism in comparison with their healthy brothers and sisters (18). In our recent paper we presented the results of the specific antibodies in the children with autism in the Republic of Macedonia and found that specific IgA, IgG, and IgE antibodies in the plasma against alpha-lactalbumin (f76), beta-lactoglobulin (f77), casein (f78), gluten (f79), and gliadin (f98), as well as total IgE are significantly increased (19). A recent epidemiological study has estimated 18.8% comorbidity of PDD with sub-clinical gastrointestinal symptoms (20).

Автоимуниот лимфопролиферативен синдром (АЛПС) е втор пример за системска состојба што може да се спореди со патологијата на аутизмот. Тоа е неодамна препознаено заболување со мутација на протеините од Фас-остварениот Т-Ли апоптотичен пат, кој доведува до општо нарушување на лимфоцитната хомеостаза и нормалната имунолошка толеранција (21). Во најновиот труд пациентите со мутација на умирачкиот домен од Фас-рецепторот и манифестациите на АЛПС (22) покажуваат брза развојна регресија со аутистички поведенија во исто време со појавата на АЛПС во 18-месечна возраст. Овие резултати укажуваат дека општото нарушување на автоимунитетот кај децата може да доведе до невробихејвиорални нарушувања слични на аутизмот.

Препораки за имунолошко испитување кај лица со аутизам

Испитување имуната функција кај лица со аутизам може да се изведе со: *Основен имунолошки комплети* и со *Дополнителен имунолошки комплети*.

Во *Основниот имунолошки комплети* спаѓаат следниве испитувања:

- Имуноглобулински класи (ИгГ, ИгМ, ИгА, ИгЕ);
- Алерголошки испитувања (серумски специфични алергени од храна: f76 alfa-lactalbumin, f77 beta-lactglobulin, f78 casein, f79 gluten, f98 gliadin);
- Имуногенетски испитувања (ХЛА-А, ХЛА-Б, ХЛА-Ц, ХЛА-ДРБ1, ХЛА-ДКУ)

Во *Дополнителниот имунолошки комплети* спаѓаат:

- Имуноглобулински поткласи (ИгГ1, ИгГ2, ИгГ3, ИгГ4);
- Автоантитела во серум кон миелин базичен протеин (МБП), неврон аксон филаментозен протеин (НАФП), глијален фибриларен киселински протеин (ГФКП);
- Одредување нивоата на ТНФ- α , гама-ИФН, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12;

Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) is another example of a systemic condition, which may be relevant to autistic pathology. It is a recently recognized disease where mutations in proteins from the Fas-mediated T-cell apoptosis pathway lead to the general breakdown of lymphocyte homeostasis and normal immunologic tolerance (21). In a recent report, a patient with a mutation in the death domain of the Fas receptor and ALPS manifestations (22) demonstrated rapid developmental regression with autistic behavior coincident with the onset of ALPS at 18 months of age. These results shows that general outbreak of autoimmunity in childhood may result in autistic-like neurobehavioral sequelae.

Recommendations for Immunological Investigations of Persons with Autism

Immunological investigations of persons with autism can be evaluated with: *The Basic Immuno-Panel*, and *Additional Immuno-Panel*.

In *the Basic Immuno-Panel* are included following investigations:

- Immunoglobuline classes (IgG, IgM, IgA, IgE);
- Investigations of serum specific food allergenes (f76 alfa-lactalbumin, f77 beta-lactglobulin, f78 casein, f79 gluten, f98 gliadin);
- Immunogenetic investigations (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQ);

In *the Additional Immuno-Panel* are included following investigations:

- Immunoglobuline subclasses (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4);
- Determination of serum autoantibody level against myelin basic protein (MBP), neuron-axon filament protein (NAFP), and glial fibrillary acidic protein (GFAP);
- Determination of plasma level of TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-6, IL-12;

- Одредување ЦД4, ЦД8, ЦД26, ЦД69-маркерите.

Испитувањата треба да се направат кај децата со аутизам, кај нивните родители и кај браќата и сестрите.

Благодарност

Трудот е дел од проектите: „Серумски имуноглобулини и специфични алергени од храна кај лица со аутизам во Република Македонија” (#40221400/0) и “ХЛА-ДНК испитувања кај фамилии со аутизам во Република Македонија” (#40117101/0) финансирани од Министерство за наука и образование на Република Македонија. Особена благодарност им искажувам на родителите и децата со аутизам, на Заводот за рехабилитација на слух, говор и глас, Заводот за ментално здравје во Скопје, Специјалниот завод Демир Капија и на Институтот за дефектологија, Филозофски факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Скопје за соработката во овие проекти. Посебна благодарност им должам на проф. д-р Љупчо Ајдински, проф. д-р Драгослав Копачев, проф. д-р Ристо Петров и доц. д-р Владимир Трајковски од Институтот за дефектологија, Филозофски факултет, Скопје за соработката во дефинирање на истражувањата и при изработката на проектите. Специјална благодарност им искажувам и на Елена Захаријева за помошта при земање примероци од крв, обработка и нивно складирање, како и на асист. д-р Александар Петличковски, асист. д-р Ана Стрезова, и биотехнолог Оливија Ефинска-Младеновска за обработка на резултатите.

- Determination of CD4, CD8, CD26, CD69 markers.

Investigations should be done in the children with autism, their parents, and siblings (brothers and sisters).

Acknowledgement

This work was a part of the project "Serum Immunoglobulins and Specific Food Allergens in People with Autism in the Republic of Macedonia" (Grant No. 40221400/0), and "HLA-DNA investigations in the families with autism in the Republic of Macedonia" (Grant No. 40117101/0) sponsored by the Ministry of Education and Sciences of the Republic of Macedonia. I thank especially the parents and the children with autism, the medical staff of the Department for Rehabilitation of Hearing, Speech, and Voice, the Department for Mental Health in Skopje, Special Department in Demir Kapija, and the Institute of Special Education and Rehabilitation, Faculty of Philosophy, Ss Cyril and Methodij University in Skopje for their cooperation in these projects. I thank Prof. Dr. Ljupcho Ajdinski, Prof. Dr. Dragoslav Kopachev, Prof. Dr. Risto Petrov, and Assist. Prof. Dr. Vladimir Trajkovski from the Institute of Special Education and Rehabilitation, Faculty of Philosophy, Ss Cyril and Methodius University in Skopje for the cooperation in defining and conducting the projects. Special thanks go to Elena Zharieva for taking blood samples, handling and deposition, as well as to Assist. Dr. Aleksandar Petlichkovski, Assist. Dr. Ana Strezova, and biotechnologist Olivija Efinska-Mladenovska for analysis of samples.

Литература / References

1. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, & Vizi ES. *The sympathetic nerve-An integrative interface between two super-systems: The brain and the immune system.* Pharmacol. Rev. 2000; **52**, 595–638.
2. Becher B, Prat A, & Antel JP. *Brain-immune connection: Immuno-regulatory properties of CNS-resident cells.* Glia 2000; **29**, 293–304.
3. Sakic B, Szechtman H, & Denburg, JA. *Neurobehavioral alterations in autoimmune mice.* Neurosci. Biobehav. Rev. 1997; **21**, 327–340.
4. Bar-Or A, Oliveira EM, Anderson DE, & Hafler DA. *Molecular pathogenesis of multiple sclerosis.* J. Neuroimmunol. 1999; **100**, 252–259.
5. Bauman ML, & Kemper TL. *The Neurobiology of Autism* 1994; Johns Hopkins University Press, Baltimore.
6. Rumsey JM, & Ernst M. *Functional neuroimaging of autistic disorders.* Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev 2000; **6**, 171–179.
7. Zimmerman AW. *Commentary: Immunological treatments for autism: In search of reasons for promising approaches.* J. Autism Dev. Disord. 2000; **30**, 481-484.
8. Wakefield AJ, Anthony A, Murch SH, Thomson M, Mont-gomery SM, Davies S, O'Leary JJ, Berelowitz M, & Walker-Smith JA. *Enterocolitis in children with developmental disorders.* Am. J. Gastroenterol. 2000; **95**, 2285–2295.
9. Musunuru K, & Darnell RB. *Paraneoplastic neurologic disease antigens: rna-binding proteins and signaling proteins in neuronal degeneration.* Annu. Rev. Neurosci. 2001; **24**, 239–262.
10. Tan EM. *Autoantibodies in pathology and cell biology.* Cell 1991; **67**, 841–842.
11. Tilders FJ, Schmidt ED, Hoogedijk WJ, & Swaab DF. *Delayed effects of stress and immune activation.* Baillieres Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 1999; **13**, 523–540.
12. Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schoning B, Glockner F, Lanksch WR, Volk HD, & Docke WD. *Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury.* Nat. Med. 1998; **4**, 808–813.
13. Mehler MF, & Kessler JA. *Hematolymphopoietic and inflammatory cytokines in neural development.* Trends Neurosci. 1997; **20**, 357–365.
14. Kulman G, Lissoni P, Rovelli F, Roselli MG, Brivio F, & Sequeri P. *Evidence of pineal endocrine hypofunction in autistic children.* Neuroendocrinol. Lett. 2000; **21**, 31–34.
15. Edelson SB, & Cantor DS. *Autism: Xenobiotic influences.* Toxicol. Ind. Health 1998; **14**, 553–563.
16. Deufemia P, Celli M, Finocchiaro R, Pacifico L, Viozzi L, Zaccagnini M, Cardi E, & Giardini O. *Abnormal intestinal permeability in children with autism.* Acta Paediatrica 1996; **85**, 1076–1079.
17. Horvath K, Papadimitriou JC, Rabsztyrn A, Drachenberg C, & Tildon JT. *Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder.* J. Pediatr. 1999; **135**, 559–563.
18. Trajkovski V, Ajdinski L, Spiroski M. *Plasma concentration of immunoglobulin classes and subclasses in children with autism in the Republic of Macedonia: retrospective study.* Croat Med J 2004; Dec; **45** (6): 746-749.
19. Trajkovski V, Petlichkovski A, Efinanska-Mladenovska O, Trajkov D, Arsov T, Strezova A, Ajdinski Lj, Spiroski M. *Higher plasma concentration of food specific antibodies in persons with autism.* Croat Med J 2005 (in press).
20. Fombonne E, & Chakrabarti S. *No evidence for a new variant of measles-mumps-rubella-induced autism.* Pediatrics 2001; **108**, E58.
21. Jackson CE, & Puck JM. *Autoimmune lymphoproliferative syndrome, a disorder of apoptosis.* Curr. Opin. Pediatr. 1999; **11**: 521–527.
22. Shenoy S, Arnold S, & Chatila T. *Response to steroid therapy in autism secondary to autoimmune lymphoproliferative syndrome.* J. Pediatr. 2000; **136**, 682–687.