

Camel Milk as a Potential Therapy as an Antioxidant in Autism Spectrum Disorder (ASD)

自閉症スペクトラム障害 (ASD) における抗酸化剤としての潜在的療法としてのラクダミルク

要旨

広範な研究は、酸化ストレスが自閉症スペクトラム障害 (ASD) を含むいくつかの神経学的疾患の病理学において重要な役割を果たすことを証明しました。これらの研究は、GSH と抗酸化酵素が自閉症において病態生理学的役割を果たすことを提唱しました。さらに、ラクダミルクは自閉症において潜在的な治療効果を有することが明らかになってきた。本研究の目的は、ELISA 法を用いて、ラクダミルク摂取の前後 2 週間後のグルタチオン、スーパーオキシドジスムターゼ、およびミエロペルオキシダーゼの血漿中濃度を測定することにより、自閉症児の酸化ストレスバイオマーカーに対するラクダミルク摂取の影響を評価することである。ラクダミルク摂取後、測定されたすべてのパラメータは有意な増加を示した ($P < 0.5$)。これらの結果は、ラクダミルクが抗酸化酵素と非酵素的抗酸化剤分子レベルの変化によって酸化ストレスを減少させるのに重要な役割を果たすことができることを示唆する。

はじめに

自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、3 歳より前に発症する重度の神経発達障害です[1、2]。それは、社会的志向、コミュニケーション、および反復行動における障害によって特徴付けられます[3、4]。行動障害に加えて、ASD は自己免疫疾患の高い有病率[5]、[6]、胃腸疾患および嚥下障害[7]、および精神遅滞[8]と関連しています。

自閉症の有病率はここ数十年で増加しています。米国における ASD の発生率は、2008 年には 88 人の子供のうち 1 人に増加しました[9]。サウジアラビアにおける自閉症スペクトラム障害の有病率は 6 : 1000 と推定されています[10]。罹患率の増加は公衆衛生への影響に大きな影響を及ぼし、潜在的な病因学的要因についての徹底的な研究を刺激しています。

病因と病理学はあまり理解されていないが、自閉症に影響を与えるとされるさまざまな要因、例えば免疫要因、環境要因、神経化学的要因、遺伝的要因[3、10、11]、酸化ストレス[10-13]。

広範な研究は、酸化ストレスがアルツハイマー病[14]、ダウン症候群[15]、パーキンソン病[16]、統合失調症[17]、双極性障害[18]、自閉症[10、14]などのいくつかの神経学的疾患の病理において重要な役割を果たすことを示している。

酸化ストレスは、活性酸素種（ROS）レベルが細胞の抗酸化能力を超えると発生します。それは脳損傷、脳卒中、および神経変性疾患のメディエータとして作用します[19-21]。したがって、ROS 産生の制御は生理的細胞機能に必要である。細胞内のROSは、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）、カタラーゼ、およびグルタチオンペルオキシダーゼ（GSH - Px）酵素を含む抗酸化防御機構によって中和される。中枢性（脳内）および末梢性（血漿中）の両方でのROSの産生の増加は、自閉症の病理およびアポトーシスをもたらす脳細胞数の減少をもたらす[14、22]。

いくつかの研究は、自閉症の発症に対する酸化ストレスの寄与を示唆しています。これらの研究は、GSH-Px、MPO、およびSODなどの抗酸化酵素、セルロプラスミンおよびトランスフェリンなどの抗酸化タンパク質、ならびにGSHなどの解毒代謝産物、抗酸化栄養ビタミンおよびミネラルの変化を実証した[10、11、13、23]。 -26]。

ラクダミルクは、食物アレルギー、1型糖尿病[27、28]、B型肝炎[29]、自閉症[30]、および他の自己免疫疾患[31]などの多くの疾患において潜在的な治療効果を持つことが明らかになっています。それは他の反すう動物の乳とは異なる独特の成分を持っています。牛乳よりも脂肪、コレステロール、ラクトースが少なく、牛乳に比べてミネラル（カルシウム、鉄、マグネシウム、銅、亜鉛、カリウム）やビタミンA、B2、E、Cが多く含まれています[32、33]。牛乳中のアレルギーの主な原因であるベータラクトグロブリンとベータカゼインは含まれていません[34]。さらに、ラクダミルクには、さまざまな保護タンパク質、主に抗菌、抗ウイルス、および免疫学的特性を発揮する酵素が含まれています[35、36]。これらには、免疫グロブリン、リゾチーム、ラクトフェリン、ラクトペルオキシダーゼ、N-アセチル-β-グルコサミニダーゼ（NAGase）、およびペプチドグリカン認識タンパク質（PGRP）[34]が含まれ、これらは食物アレルギーの予防および免疫システムの回復に重要です[31]。ラクダミルクは、その小さいサイズのナノボディに加えて、その炎症抑制タンパク質、および低アレルギー性の特性のために、食物アレルギーの治療においてその潜在的な効果を証明した。ラクダミルクナノボディは、単一ドメインとして、感染および免疫において多くの有望かつ治療的効力を示す[37]。

本研究の目的は、グルタチオン、スーパーオキシドジスムターゼ、およびミエロペルオキシダーゼの血漿中濃度を測定することによって、自閉症の子供の酸化ストレスバイオマーカーに対するラクダミルク消費の影響を評価することでした。

2、対象と方法

2.1、科目

本研究には、ASD 患者 60 人、特に 2～12 歳のアレルギーまたは食物不耐性のある人が含まれていた。臨床診断は、精神障害の診断および統計マニュアル、第 4 版、テキスト改訂 (DSM-IV) [2] で定義されている自閉症障害の基準に基づいています。被験者はキングサウド大学医学部の自閉症研究治療センターから募集された。

研究プロトコルは、キングサウド大学医学部の施設内審査委員会から倫理的承認を受けた。研究に参加する前に、書面によるインフォームドコンセントがすべての親/保護者から得られた。

2.2、研究デザイン

この研究は、二重盲検無作為化臨床試験 (RCT) でした。参加者を無作為に 3 つのグループに分けた。グループ I (n = 24) は生ラクダミルクを摂取した。グループ II (25 名) は煮沸ラクダミルクを摂取した。グループ III (n = 11) はプラセボとして牛乳を摂取した。すべてのグループは、研究の盲目を防ぐために同じ指示、乳の量、容器を受けた。

両親は、2 週間にわたり、子供の通常の毎日の食事に平均 500mL のラクダミルクを含めるように指示されました。親は子供たちの日課を続けるように求められました。研究期間を通じて、食事療法、サプリメント、薬物療法の追加または削除などの介入は許可されませんでした。グループ I は、下痢の危険を避けるために 1 日当たり 500 mL が消費されるまで、徐々に増加する少量から始めて冷たい乳を飲むように指示された。

2.3、小児自閉症評価尺度 (CARS)

小児自閉症評価尺度 (CARS) は症状の重症度の尺度として投与されました[11]。ウィングサブグループアンケート (WSQ) [12] は、親が子供の行動を評価する 13 の行動ドメイン (例えば、コミュニケーション、社会的アプローチ、遊び、模倣、運動行動、および変化への抵抗) を有するアンケートである。要約スコアは、各サブタイプ (すなわち、ルーフ、パッシブ、およびアクティブだが奇数) について計算され、最高の要約スコアがサブタイプを示すと見なされる。

2.4、採血

一晩絶食後、ラクダミルク摂取の前後 2 週間で自閉症児から 10mL の血液サンプルを EDTA チューブに採取し遠心した。血漿および赤血球を得て、さらなる分析まで (−80℃) で急速冷凍した。

2.5、方法

2.5.1、グルタチオンの測定

これは、製造業者の説明書に従って血漿グルタチオンレベルの測定に特異的な市販の ELISA キット (Wuhan Eiaab Science Inc.、中国) を使用することによって行われた。手短に言えば、マイクロタイタープレートに GSH に特異的な抗体でプレコートした。標準およびサンプルを、GSH に特異的なビオチン結合ポリクローナル抗体とともにウェルにピペットで入れた。次に、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) に結合したアビジンを加えてインキュベートした。基質溶液を添加し、そして GSH の量に比例して発色させた。発色を止め、色の濃さを測定した。

2.5.2、スーパーオキシドジスムターゼの測定

このアッセイは、血漿中のヒトスーパーオキシドジスムターゼの評価のために定量的サンドイッチ酵素免疫アッセイ技術を使用する (Wuhan Eiaab Science Inc.、China)。SOD に特異的なモノクローナル抗体はマイクロプレートにプレコートされています。標準およびサンプルをウェルにピペットで入れ、続いて SOD に特異的な二次抗体を加えた。次いで、基質溶液をウェルに添加し、そして最初の工程で結合した SOD の量に比例して発色させた。発色を止め、色の濃さを測定した。

2.5.3、ミエロペルオキシダーゼの測定

製造業者の説明書に従って、二重抗体サンドイッチ ELISA (GenWay biotech、USA) を用いて血漿ミエロペルオキシダーゼレベルを測定した。この方法は、酵素標識抗体複合体の形成とそれに続くミエロペルオキシダーゼ濃度に比例する色を発色させるための発色基質の添加に基づいている。

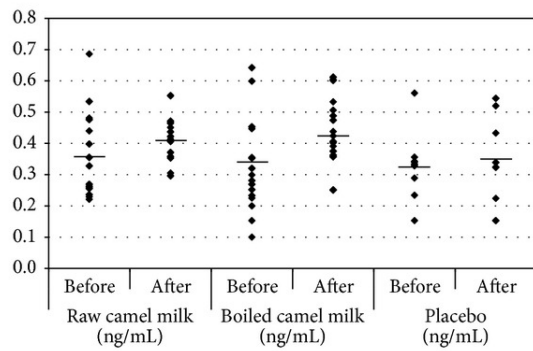
2.6、統計分析

データを分析し、平均値±SEM（平均値の標準誤差）として表した。ミルク療法の前後の各測定値における統計的差異は、P値を用いて決定され、そして $P < 0.5$ が有意と見なされた。バイオマーカー評価のための基本的な道具としての受信者動作特性（ROC）曲線は、同じコンピュータプログラムを使用して実施した。ROC曲線において、真陽性率（感度）は、パラメータの異なるカットオフ点についての偽陽性率（100特異性）の関数としてプロットされている。ROC曲線上の各点は、特定の決定閾値に対応する感度／特異性の対を表す。ROC曲線の下面積は、パラメータがラクダミルク治療を受けた被験者と未治療の自閉症被験者とをどの程度うまく区別できるかの尺度である。

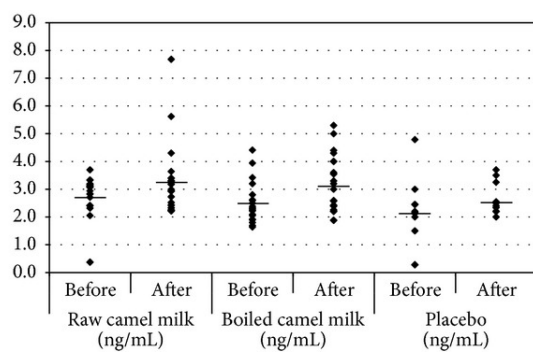
3. 結果

本研究は、グルタチオン、スーパーオキシドジスムターゼ、およびミエロペルオキシダーゼの血漿中濃度を測定することにより、ASD患者の酸化ストレスに対するラクダミルク消費の影響を調べるために行われた。

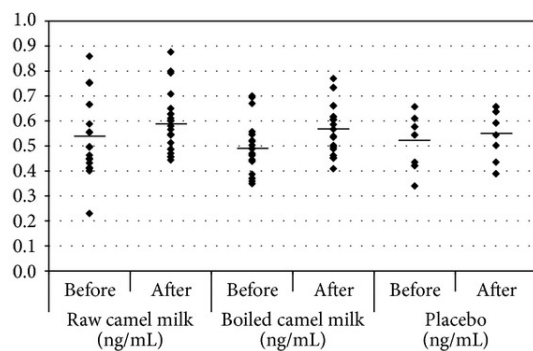
表1および図1は、ラクダミルク消費の前後2週間の自閉症児のCARSと一緒のGSH、SODおよびMPOの血漿レベルを示す。ラクダミルクを摂取した後、測定された全てのパラメータは有意な変化を示した。



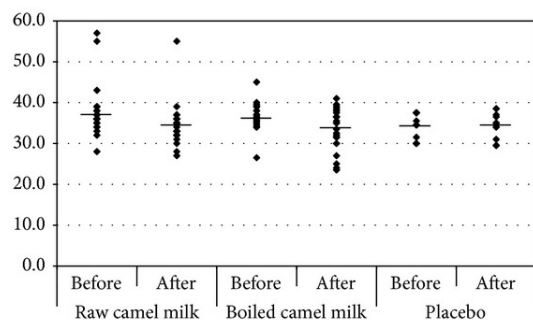
(a)



(b)



(c)



(d)

ラクダミルクによる治療前後の自閉症患者における (a) GSH、(b) SOD、(c) MPO、および (d) CARS のレベル。各群の平均値は線で示されている。

表 1

ラクダ乳摂取前後および 2 週間後の自閉症児の血漿中グルタチオン、スーパーオキシドジスムターゼ、およびミエロペルオキシダーゼと CARS の併用。

	Raw milk (N = 24)		Boiled milk (N = 25)		Placebo (N = 11)	
	Mean ± SEM	P value	Mean ± SEM	P value	Mean ± SEM	P value
Glutathione						
Before	0.37 ± 0.03	0.05	0.34 ± 0.03	0.02	0.36 ± 0.02	0.5
After	0.41 ± 0.01		0.45 ± 0.02		0.35 ± 0.04	
SOD						
Before	0.54 ± 0.03	0.2	0.49 ± 0.02	0.007	0.52 ± 0.03	0.5
After	0.59 ± 0.02		0.57 ± 0.02		0.54 ± 0.03	

Raw milk (N = 24) Boiled milk (N = 25) Placebo (N = 11)

Mean ± SEM P value Mean ± SEM P value Mean ± SEM P value

MPO

	Raw milk (N = 24)	Boiled milk (N = 25)	Placebo (N = 11)
Before	2.65 ± 0.17 0.05	2.44 ± 0.13 0.02	2.11 ± 0.37 0.2
After	3.22 ± 0.24	3.08 ± 0.19	2.62 ± 0.16

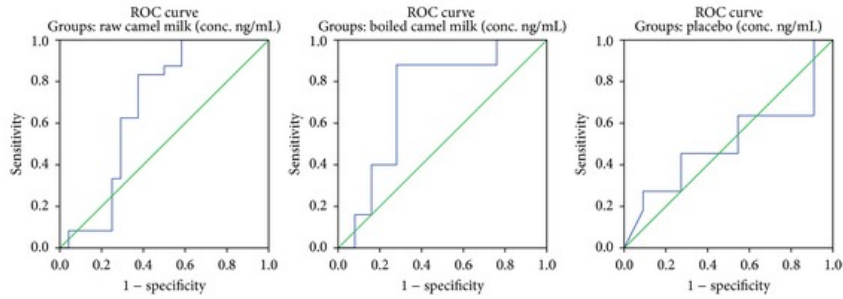
CARS

	Raw milk (N = 24)	Boiled milk (N = 25)	Placebo (N = 11)
Before	37.63 ± 6.31 0.004	36.82 ± 3.27 0.001	34.18 ± 3.25 0.772
After	34.54 ± 5.19	33.80 ± 4.91	34.41 ± 3.25

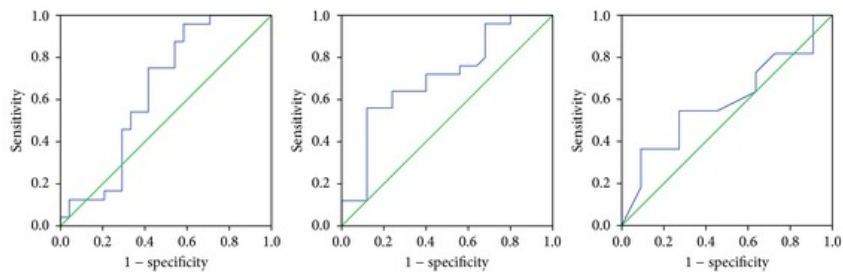
2週間のラクダミルク摂取後、血漿 GSH レベルはグループ I およびグループ II (P = 0.05、P = 0.02、それぞれ) では有意に増加したが、グループ III では増加しなかった。さらに、SOD の血漿レベルは、群 I (P = 0.2) および群 III (P = 0.5) において有意差を示さなかった。他方、グループ II は、2週間のラクダミルク煮沸摂取後に、統計的に非常に有意な変化を示した (P = 0.007)。さらに、グループ I、生ラクダミルク (P = 0.05)、およびグループ II、煮沸ラクダミルク (P = 0.02) の両方で MPO の有意な上昇があったが、グループ III、プラセボグループ (P = 0.02) では MPO の有意な上昇はなかった。 (0.2)。

表 2 および図 2 (a) ~2 (d) は、4つの測定された変異体の ROC 分析を示しています。GSH、

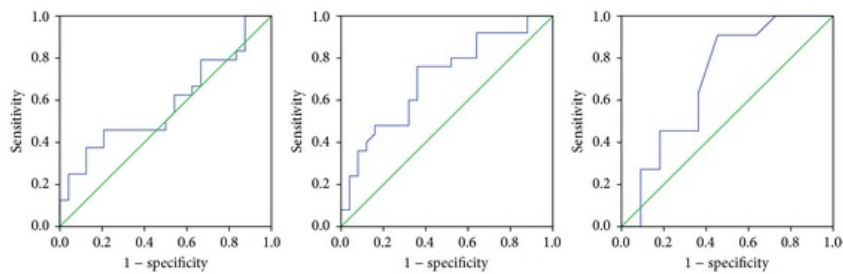
SOD、MPO、およびCARSは、グループ I および I I において、グループ I I I よりも曲線下面積 (AUC)、%特異性、および感度が高いことを容易に認識することができた。



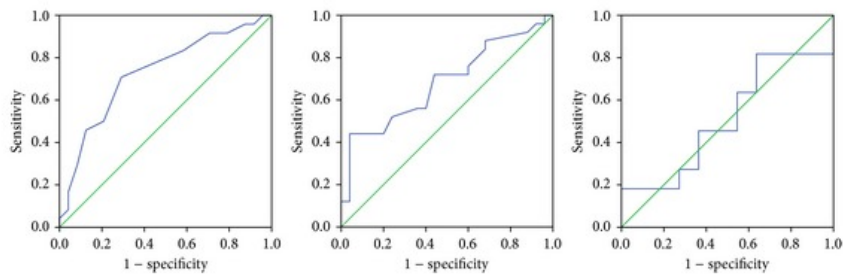
(a)



(b)



(c)



(d)

((a) ~ (d)) : (a) GSH、(b) SOD、(c) MPO、および (d) CARS について、

特異性、感度、および曲線下面積を示すROC曲線。

表 2

ラクダミルクによる治療前後の自閉症患者の GSH、SOD、MPO、および CARS の ROC 曲線。

Parameters		Raw camel milk	Boiled Camel milk	Placebo
GSH	Area under the curve	0.677	0.723	0.504
	Best cut-off value	0.357	0.356	0.326
	Sensitivity%	83.3	88.0	45.5
	Specificity%	62.5	72.0	72.7

Parameters		Raw camel milk	Boiled Camel milk	Placebo
SOD	Area under the curve	0.642	0.706	0.591
	Best cut-off value	0.453	0.562	0.585
	Sensitivity%	95.8%	56.0%	54.5
	Specificity%	41.7%	88.0%	72.7
<hr/>				
MPO	Area under the curve	0.584	0.703	0.702
	Best cut-off value	3.17	2.385	2.180
	Sensitivity%	45.8%	76.0%	90.9%
	Specificity%	79.2%	64.0%	54.4%
<hr/>				

Parameters		Raw camel milk	Boiled Camel milk	Placebo
CARS	Area under the curve	0.729	0.682	0.512
	Best cut-off value	35.5	33.75	37.25
	Sensitivity%	70.8	44.0	81.8
	Specificity%	70.8	96.0	36.4

4、討議

本研究は、抗酸化酵素のレベルを測定することにより、自閉症スペクトラム障害を有する被験者の酸化ストレスに対するラクダミルクの効果を評価することを目的とした：SOD、MPO、およびGSH。

いくつかの研究は、酸化ストレスに対する ASD 患者の脆弱性の増加を示唆しています。抗酸化防御機構が内因性または外因性の活性酸素種の発生源に効果的に対抗できない場合、酸化ストレスとその結果として生じる損傷が発生します[38]。酸化ストレスの増加は、自閉症児の行動異常、睡眠障害、および胃腸障害の一因となる可能性があります[39、40]。

低血漿抗酸化酵素、GSH-Px [25]およびSOD [23]が報告されています。低レベルの抗酸化酵素は、抗酸化防御機構の障害による酸化ストレスに対する脆弱性の増加を示し、それは自閉症の病因に重要な役割を果たす可能性があるフリーラジカルの有害な効果をもたらす。さらに、自閉症者における酸化ストレスの増加は、GSH、ビタミン E、C などの非酵素的抗酸化剤のレベルの低下をもたらす[13]、それが次に代謝経路の障害を引き起こし、自閉症で発生する発達遅延の一因となるかもしれません。これは微量栄養素の補給によって修正できます[41]。さらに、ASD 患者におけるグルタチオンとシステインの血漿中濃度の低下が報告されています[42、43]。

ラクダミルクは、ASD の臨床転帰を改善すると報告されています[31]。自閉症の行動に対するラクダの牛乳消費の影響は、自閉症の評価尺度（CARS）の有意な変化によって文書化された [44]、カゼインおよびグルテンフリーの食事がおそらく過剰な中枢オピオイド効果を減少させることによって [45]自閉症の行動を改善することが報告されている [31]。

グルタチオンは、最も重要な細胞内抗酸化物質の 1 つであり、正常な細胞機能と生存能力に不可欠な細胞内微小環境の減少を維持する役割を果たします。それはまた神経保護特性を發揮しそして神経障害を減少させそしてそれ故に酸化ストレスを減少させる。

ASD 患者は、非効率的な解毒システムのために、グルタチオンレドックス代謝の経路において代謝産物の異常な血漿レベルを示すことが示されました[12]。還元型グルタチオン（GSH）の濃度は、対照と比較して有意に減少していることがわかりました[10、25]。これは ROS に対する防御機構の障害による酸化ストレスの増加を反映しています。

本研究の結果は、ラクダミルク摂取後の GSH レベルの有意な増加を示しています。これはラクダミルクの抗酸化栄養素成分に起因する可能性があります。マグネシウムは酸化ストレスを減らし、ビタミン E と C の吸収を高めることが知られています[44]が、亜鉛は総グルタチオン、GSHPx、そして SOD レベルを増加させます。さらに、ビタミン E はグルタチオン濃度を高めることが示唆されています[46]。まとめると、ラクダミルク中の高レベルの Mg と Zn およびビタミン E は、グルタチオン産生と酵素産生を増加させ、それゆえ自閉症被験者の酸化ストレスを減少させるのに役立つかもしれません。

スーパーオキシドジスムターゼは、スーパーオキシドの過酸化水素（H₂O₂）と酸素（O₂）への変換を触媒することによって脂質の過酸化を阻害する抗酸化酵素であり [13]、それがさらなるフリーラジカルの生成を妨げるので一次防御として作用する。結果として生じる H₂O₂ を代謝するための SOD の能力が不十分であると、毒性を引き起こす可能性がある [10]。

酸化ストレスに反応して、SOD 活性は自閉症児において対照と比較して有意に高いことが示された。活性の増加は、過剰に生成されたスーパーオキシドを除去するための適応反応であるかもしれません [10]。対照的に、他の研究では、酸化ストレスに対する防御メカニズムが損なわれているため、対照と比較して自閉症児の SOD レベルが有意に減少したことが報告されている [24、43]。抗酸化栄養素レベルのいくつかは抗酸化酵素の状態に影響を与えるため、低 SOD も栄養状

態に寄与する可能性があります。例えば、身体が銅と亜鉛の適切でバランスの取れた摂取を受けると、適切な量のスーパーオキシドジスムターゼが産生される。銅欠乏はスーパーオキシドジスムターゼのレベルを低下させると報告され[23、46]、亜鉛欠乏食はスーパーオキシドジスムターゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、総グルタチオン、およびビタミン E を減少させます[47]。他の研究では、自閉症児の亜鉛と銅の比率が対照と比較して低いため、低い亜鉛レベルが自閉症と関連し、低い SOD レベルと関連していることが示唆されました[23、48]。

本研究では、ラクダミルク摂取後に SOD レベルが有意に増加した。これは、ラクダミルクに含まれる亜鉛、銅、マグネシウム、およびビタミン E の含有量が高いためと考えられます。

ミエロペルオキシダーゼは酸化ストレスのバイオマーカーであり、広範囲の生物に対する殺菌活性と炎症の指標の 1 つに関与しています[49]。機能不全のミトコンドリアから生成された高いスーパーオキシドは、炎症反応の間に活性化された免疫細胞において炎症性バイオマーカーである 3-クロロチロシン(3-CT)に変換される MPO 媒介次亜塩素酸合成の基質である過剰な H₂O₂ の形成を促進する。 [38]。

MPO の発現上昇は、アルツハイマー病[50]、パーキンソン病[51]、多発性硬化症[52]、自閉症スペクトラム障害[53]などの慢性神経疾患状態で以前に証明されています。

重症の GI 疾患を持つ自閉症児は、このグループで見られる GI の病理と直接関連している MPO の低い血清レベルを持っていることが実証されています[54]。本研究は、ラクダミルク摂取後の血漿ミエロペルオキシダーゼレベルの有意な増加を証明した。これは SOD レベルの増加の結果であり得る。MPO と SOD は相乗的に作用して、陰イオンと過酸化水素を破壊することによって細胞の内容物を酸化活性から保護します[50]。スーパーオキシドジスムターゼは、スーパーオキシドラジカルの H₂O₂ への変換を触媒し、カタラーゼは H₂O₂ を中和し、次にミエロペルオキシダーゼは H₂O₂ を高反応性次亜塩素酸に変換する[23]。他の可能性は、ベータラクトグロブリンおよびベータカゼインからのラクダミルクの枯渇、自閉症患者における食物アレルギーおよび GI 疾患の主な原因による GI 問題の改善かもしれません[7、54、55]。

グルテンフリーおよびカゼインフリーの食事[34]、グルタチオン補給[22]、ビタミン E、C、セリンなどの抗酸化補給[22-24]、亜鉛の補足[43]、またはマグネシウム投与後の ASD 患者では、いくつかの症状が著しく改善された。これらの分子は、グルタチオン合成、抗酸化酵素活性、抗酸化ビタミン吸収、および効果的な抗酸化防御メカニズムに不可欠であり、したがって、さ

さまざまな研究で確認されているように、酸化ストレスの減少に重要な役割を果たします。

この情報に照らして、酸化ストレスの減少およびASDの治療におけるラクダミルクの役割は、それが高レベルの抗酸化ビタミンC、A、およびEを含み、抗酸化ミネラルマグネシウムおよび亜鉛に非常に富んでいることに基づいて説明できる。抗酸化ビタミンは酸化ストレスを減らすのに役立ちます。ビタミンEとマグネシウムは、グルタチオン合成を促進すると示唆されています。マグネシウム欠乏は、活性酸素種の産生に関連しています[46]。一方、亜鉛はSODやGPxなどの生体内の多くの酵素の活性に不可欠です。亜鉛は抗酸化システムの活性化を通して細胞の損傷を防ぐことができると報告されています[47、56]。総合すると、これらの栄養素は解毒分子の生成、抗酸化ビタミンの吸収、そして抗酸化酵素の活性化を促進し、それが解毒システムを活性化し、加えられた酸化ストレスを軽減します。もう一つの可能性は、ラクダミルクは、ヒト抗体に似ているより小さなサイズの抗体に加えて、その炎症抑制成分および低アレルギー性のために、しばしばASDに関連する胃腸の問題と闘い、治療するのを助けることができる[7、37]。]、そしていくつかの自閉症の行動を改善します。

自閉症の特徴の病因における測定されたパラメータの役割もこの研究で確認することができます。GSH、SOD、およびMPOに対する生乳およびラクダミルクによる改善は、2週間のラクダミルク摂取後に自閉症児の行動に有意な改善をもたらしました。ラクダミルクを摂取した後のCARSは以前よりも有意に低かった。

表2と図2(a)~2(d)は、4つの測定パラメータは非常に高い特異性と感度を示さなかったが、GSHとCARSは両方の測定値で満足のいく値を示すことを示しています。これは、行動的および認知的尺度としてのCARSの測定と並行して、ラクダミルク治療の効力を追跡するための予測バイオマーカーとしてのGSHを示唆するのに役立ち得る。

結論として、ラクダミルクは抗酸化酵素と非酵素的抗酸化分子レベルの変化と自閉症行動の改善によって酸化ストレスを減らすことに重要な役割を果たすことが示唆されました。ラクダミルクの期間と投与量を考慮した大規模な研究が、酸化ストレスバイオマーカーに対するラクダミルクの影響、ひいてはASDの治療を決定するために必要とされています。加えて、自閉症の病理学に関連する異なるシグナル伝達経路を表す他のパラメータが推奨される。本研究のものよりも高い特異性および感度を記録する可能性がある予測マーカーのスクリーニングが極めて必要とされている。

利益相反

著者は開示すべき利益相反はありません。

参考文献

1. Lord C, Cook EH, Leventhal BL, Amaral DG. Autism spectrum disorders. *Neuron*. 2000;28(2):355-363. [[PubMed](#)]
2. American Psychiatric Association. DSM-IV-TR. Washington, DC, USA: American Psychiatric Association; 2000. Diagnostic and statistical manual of mental disorders.
3. Momeni N, Bergquist J, Brudin L, et al. A novel blood-based biomarker for detection of autism spectrum disorders. *Translational Psychiatry*. 2012;2(article e91) [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
4. Veenstra-VanderWeele J, Cook EH, Jr. Molecular genetics of autism spectrum disorder. *Molecular Psychiatry*. 2004;9(9):819-832. [[PubMed](#)]
5. Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2011;25(1):40-45. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
6. Al-Ayadhi LY, Mostafa GA. A lack of association between elevated serum levels of S100B protein and autoimmunity in autistic children. *Journal of Neuroinflammation*. 2012;9(article 54) [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
7. White JF. Intestinal pathophysiology in autism. *Experimental Biology and Medicine*. 2003;228(6):639-649. [[PubMed](#)]
8. Bölte S, Poustka F. The relation between general cognitive level and adaptive behavior domains in individuals with autism with and without co-morbid mental retardation. *Child Psychiatry and Human Development*. 2002;33(2):165-172. [[PubMed](#)]
9. Baio J. Prevalence of Autism spectrum disorders—autism and developmental disabilities monitoring network, 14 Sites, United States, 2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2012;61(3):1-19. [[PubMed](#)]
10. Al-Gadani Y, El-Ansary A, Attas O, Al-Ayadhi L. Metabolic biomarkers related to oxidative stress and antioxidant status in Saudi autistic children. *Clinical Biochemistry*. 2009;42(10-11):1032-1040. [[PubMed](#)]
11. Schopler E, Reichler RJ, Renner BR. The childhood autism rating scale. Western Psychology Services, Los Angeles, Calif, USA.
12. Castelloe P, Dawson G. Subclassification of children with autism and pervasive developmental disorder: a questionnaire based on Wing's subgrouping scheme. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 1993;23(2):229-242. [[PubMed](#)]
13. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I. Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin—the antioxidant proteins. *Life Sciences*. 2004;75(21):2539-2549. [[PubMed](#)]
14. Christen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;71(2):621s-629s. [[PubMed](#)]
15. Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*. 2000;7(3):153-163. [[PubMed](#)]
16. Bostantjopoulou S, Kyriazis G, Katsarou Z, Kiosseoglou G, Kazis A, Mentenopoulos G. Superoxide dismutase activity in early and advanced Parkinson's disease. *Functional Neurology*. 1997;12(2):63-68. [[PubMed](#)]
17. Akyol Ö, Herken H, Uz E, et al. The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma from schizophrenic patients: the possible role of oxidant/antioxidant

- imbalance. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2002;26(5):995-1005. [PubMed]
18. Andrezza AC, Kauer-Sant' Anna M, Frey BN, et al. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*. 2008;111(2-3):135-144. [PubMed]
19. Shohami E, Beit-Yannai E, Horowitz M, Kohen R. Oxidative stress in closed-head injury: brain antioxidant capacity as an indicator of functional outcome. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1997;17(10):1007-1019. [PubMed]
20. El-Ansary A, Al-Daihan S, Al-Dbass A, Al-Ayadhi L. Measurement of selected ions related to oxidative stress and energy metabolism in Saudi autistic children. *Clinical Biochemistry*. 2010;43(1-2):63-70. [PubMed]
21. Zoroglu SS, Armutcu F, Ozen S, et al. Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2004;254(3):143-147. [PubMed]
22. Russo AJ. Decreased serum Cu/Zn SOD in children with autism. *Nutrition and Metabolic Insights*. 2009;2:27-35.
23. Meguid NA, Dardir AA, Abdel-Raouf ER, Hashish A. Evaluation of oxidative stress in autism: defective antioxidant enzymes and increased lipid peroxidation. *Biological Trace Element Research*. 2011;143(1):58-65. [PubMed]
24. Al-Yafee YA, Al-Ayadhi LY, Haq SH, El-Ansary AK. Novel metabolic biomarkers related to sulfur-dependent detoxification pathways in autistic patients of Saudi Arabia. *BMC Neurology*. 2011;11(article 139) [PMC free article] [PubMed]
25. Al-Mosalem OA, El-Ansary A, Attas O, Al-Ayadhi L. Metabolic biomarkers related to energy metabolism in Saudi autistic children. *Clinical Biochemistry*. 2009;42(10-11):949-957. [PubMed]
26. McGinnis WR. Oxidative stress in autism. *Integrative Medicine*. 2005;3(6):42-57.
27. Agrawal RP, Beniwal R, Kochar DK, et al. Camel milk as an adjunct to insulin therapy improves long-term glycemic control and reduction in doses of insulin in patients with type-1 diabetes: a 1 year randomized controlled trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2005;68(2):176-177. [PubMed]
28. Agrawal RP, Jain S, Shah S, Chopra A, Agarwal V. Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes: 2-years randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2011;65(9):1048-1052. [PubMed]
29. Saltanat H, Li H, Xu Y, Wang J, Liu F, Geng X-H. The influences of camel milk on the immune response of chronic hepatitis B patients. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2009;25(5):431-433. [PubMed]
30. Shabo Y, Yagil R. Etiology of autism and camel milk as therapy. *Journal of Endocrine Genetics*. 2005;4(2):67-70.
31. Yagil R. Camel milk and autoimmune diseases: historical medicine. 2004, <http://www.camelmilkforhealth.com>.
32. Mohamed HE, Mousa HM, Beynen AC. Ascorbic acid concentrations in milk from Sudanese camels. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2005;89(1-2):35-37. [PubMed]
33. Al-Humaid AI, Mousa HM, El-Mergawi RA, Abdel-Salam AM. Chemical composition and antioxidant activity of dates and dates-camel-milk mixtures as a protective meal against lipid peroxidation in rats. *American Journal of Food Technology*. 2010;5(1):22-30.
34. Shabo Y, Barzel R, Margoulis M, Yagil R. Camel milk for food allergies in children. *Israel Medical Association Journal*. 2005;7(12):796-798. [PubMed]
35. Kappeler S, Farah Z, Puhan Z. Sequence analysis of *Camelus dromedarius* milk caseins. *The Journal of Dairy Research*. 1998;65(2):209-222. [PubMed]

36. Kappeler S. *Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins [Ph.D. thesis]* Zurich, Switzerland: Swiss Federal Institute of Technology; 1998.
37. Zafra O, Fraile S, Gutiérrez C, et al. Monitoring biodegradative enzymes with nanobodies raised in *Camelus dromedarius* with mixtures of catabolic proteins. *Environmental Microbiology*. 2011;13(4):960-974. [[PubMed](#)]
38. Rose S, Melnyk S, Pavliv O, et al. Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Transl Psychiatry*. 2012;2(e134) [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
39. McGinnis WR. Oxidative stress in autism. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2004;10(6):22-36. [[PubMed](#)]
40. Söğüt S, Zoroğlu SS, Özyurt H, et al. Changes in nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clinica Chimica Acta*. 2003;331(1-2):111-117. [[PubMed](#)]
41. Yorbik O, Sayal A, Akay C, Akbiyik DI, Sohmen T. Investigation of antioxidant enzymes in children with autistic disorder. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2002;67(5):341-343. [[PubMed](#)]
42. Knivsberg A, Reichelt KL, Nodland N, Høien T. Autistic syndromes and diet: a follow-up study. *Scandinavian Journal of Educational Research*. 1995;39:223-236.
43. Knivsberg AM, Reichelt KL, Høien T, Nødland M. A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutritional Neuroscience*. 2002;5(4):251-261. [[PubMed](#)]
44. Al-Ayadhi LY, Mostafa GA. Elevated serum levels of macrophage-derived chemokine and thymus and activation-regulated chemokine in autistic children. *Journal of Neuroinflammation*. 2013;10(article 72) (1) [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
45. Al-wabel NA, Hassan A, Abbas H, Muosa H. Antiulcerogenic effect of camel milk against ethanol induced gastric ulcers in rats. *WebmedCentral Veterinary Medicine*. 2012;3(3)WMC002804
46. Klevay L. Advances in cardiovascular-copper research. In: Schrauzer GN, editor. *Proceedings of the 1st International Bio-Minerals Symposium: Trace Elements in Nutrition, Health and Disease*; 2003; Montreal, Canada. Institute Rosell;
47. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *Journal of Nutrition*. 2000;130(5):1447-1454. [[PubMed](#)]
48. Faber S, Zinn GM, Kern JC, II, Skip Kingston HM. The plasma zinc/serum copper ratio as a biomarker in children with autism spectrum disorders. *Biomarkers*. 2009;14(3):171-180. [[PubMed](#)]
49. Kurutas EB, Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B. Effects of antioxidant therapy on leukocyte myeloperoxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase and plasma malondialdehyde levels in experimental colitis. *Mediators of Inflammation*. 2005;2005(6):390-394. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
50. Green PS, Mendez AJ, Jacob JS, et al. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2004;90(3):724-733. [[PubMed](#)]
51. Choi D-K, Pennathur S, Perier C, et al. Ablation of the inflammatory enzyme myeloperoxidase mitigates features of Parkinson's disease in mice. *Journal of Neuroscience*. 2005;25(28):6594-6600. [[PubMed](#)]
52. Nagra RM, Becher B, Tourtellotte WW, et al. Immunohistochemical and genetic evidence of myeloperoxidase involvement in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 1997;78(1-2):97-107. [[PubMed](#)]
53. Anthony AK, Russo J, Jepson B, Wakefield A. Low serum myeloperoxidase in autistic

- children with gastrointestinal disease. *Journal of Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2009;2:85-94. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
54. Horvath K, Perman JA. Autistic disorder and gastrointestinal disease. *Current Opinion in Pediatrics*. 2002;14(5):583-587. [[PubMed](#)]
55. Rahman I, Biswas SK, Jimenez LA, Torres M, Forman HJ. Glutathione, stress responses, and redox signaling in lung inflammation. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2005;7(1-2):42-59. [[PubMed](#)]
56. El Heni J, Sfar S, Hammouda F, Sfar MT, Kerkeni A. Interrelationships between cadmium, zinc and antioxidants in the liver of the rat exposed orally to relatively high doses of cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2011;74(7):2099-2104. [[PubMed](#)]