T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞUNUN BAĞIRSAK BAKTERİ FLORASI (MİKROBİYOTA) İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Gülsüm YİTİK

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Onur Burak DURSUN

Erzurum-2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 03/04/2019 tarih ve 1900110476 sayılı karar yazınız.

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş.Gör.Dr. Gülsüm YİTİK'in "Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (mikrobiyota) ile İlişkisinin Araştırılması " konulu tezini incelemek üzere oluşturulan tez jürisine üye olarak seçildiğimizin ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, 12.04.2019 tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.

Doc. Dr. Onur Burak DURSUN
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
Kanuni Eğitim Araştırma Hastanesi
Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk ESİN
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Doc. Dr. Murat COŞKUN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
GRAFİKLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
TEŞEKKÜR ..... **xi**
ÖZET ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları 4
2.1.1. Tanım 4
2.1.2. Tarihçe 6
2.1.3. Epidemiyolojisi 8
2.1.4. Klinik Özellikleri 9
2.1.5. Klinik Değerlendirme 11
2.1.6. Ayırıcı Tanı 14
2.1.7. Eşlik Eden Durumlar 16
2.1.7.1. Eşlik Eden Psikiyatrik Bozukluklar 16
2.1.7.2. Eşlik Eden Tıbbi Bozukluklar 18
2.1.8. Klinik Gidiş 19
2.1.9. Etiyoloji 20
2.1.9.1. Genetik Faktörler 20
2.1.9.2. Ailesel Faktörler ve Nöropsikiyatrik Modeller 22
2.1.9.3. Nörobiyolojik Faktörler 23
2.1.9.3.1. Nöroanatomik Değişimler 23
2.1.9.3.2. Nörofizyolojik Değişimler 25
2.1.9.3.3. Nörokimyasal Değişiklikler 27
2.1.9.3.3.1. Nörotransmitterle İlişkili Faktörler 27
2.1.9.3.3.2. Nöroendokrinolojik Faktörler 28
2.1.9.3.3.3. Nöroimmunolojik Bulgular 29
2.1.9.4. Çevresel Faktörler 31

2.2. Bağırsak Bakteri Florası (Bağırsak Mikrobiyotası) 34
2.2.1. Bağırsak Mikrobiyotası- Bağırsak-Beyin Aksı 35
2.2.1.1. Ana İletişim Yolları ve Nörobiyolojik Mekanizmalar 37
2.2.1.1.1. Vagal Sinir (*N.vagus*) 38
2.2.1.1.2. Hücre Duvar Komponentleri Ve İmmun Yanıtlar 39
2.2.1.1.3. Bağırsak Bakteri Florasına ait Metabolitler 40
2.2.1.1.3.1. Yağ Asitleri 40
2.2.1.1.3.2. Triptofan 42
2.2.1.1.4. Nörotransmitterler ve Nöropeptidler 43
2.2.1.1.4.1. Gama Aminobütirik Asit (GABA) 44
2.2.1.1.4.2. Serotonin 44
2.2.1.1.4.3. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) 45
2.2.2. Bağırsak Mikrobiyotasının Hastalık Oluşumu ile İlişkisi 46
2.2.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Psikiyatrik Hastalıklar 48
2.2.3.1. Bağırsak Mikrobiyotası ve Duygudurum Bozuklukları İlişkisi 49
2.2.3.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) 53
2.2.3.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Şizofreni 54
2.2.3.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve Otizm Spektrum Bozukluğu(OSB) 56
2.2.3.4.1. Anormal Bağırsak İçeriği ve /veya Aşırı Bakteriyel Yük 57
2.2.3.4.2. Deneysel OSB Hayvan Modelleri İle Yapılan Çalışmalar 59
2.2.3.4.3. Oksidatif Stres ve Sülfür Metabolizması Bozuklukları 60
2.2.3.4.4. Desulfovibrio Hakkındaki Yeni Görüşler 61
2.2.3.4.5. Kısa Zincirli Yağ Asitleri İle Maternal Diyet İçeriği Hakkındaki Görüşler 62
2.2.3.4.6. Bağırsak Duvar Geçirgenliğinde Artma (‘Leaky gut’ hipotezi) 63
2.3. Çalışmamızda Kullanılan Biyolojik Belirteçler 66
2.3.1. Soluble CD14 (s-CD14) 66
2.3.2. Lipopolisakkarid Bağlayan Protein (LBP) 67
2.3.3. Fekal Kalprotektin 68
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER 70
3.1. Amaç 70

3.2. Hipotez 70
3.3. Araştırma Tipi 71
3.4. Örneklem Grubunun Seçilmesi 71
3.4.1. Çalışmaya Dâhil Edilme ve Dışlanma Ölçütleri 72
3.5. Veri Toplama Araçları 73
3.5.1. Sosyodemografik Veri Formu 73
3.5.2. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (CARS) 74
3.5.3. Gelişim ve Ruhsal Sağlık Değerlendirmesi – Development and Well-Being Assessment (DAWBA) 75
3.5.4. Gastrointestinal Semptom Şiddet Indeksi [Gastrointestinal Severity Index (GSI)] 75
3.6. Mikrobiyoloji Laboratuvar Çalışmaları 76
3.6.1. Fekal Kalprotektin (Neutrophil Cytoplasmic Protein S100A8/A9) Tayini 76
3.6.2. Lipopolysaccharide-binding Protein (LBP) ve Soluble CD14 (sCD14) Serum Tayinleri 77
3.6.3. Bağırsak Bakteri Florası (Mikrobiyata) İncelenmesi 78
3.7. Uygulama 80
3.8. İstatistiksel Yöntemler 81
4. BULGULAR 82
4.1. Psikiyatrik Tanı ve Komorbidite 82
4.2. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri 82
4.2.1. Çocuğun Gelişimine Ait Bilgiler 83
4.2.2. Anneye Ait Tanımlayıcı Bilgiler 83
4.2.3. Babaya Ait Tanımlayıcı Bilgiler 84
4.2.4. Aile Yapısına Ait Tanımlayıcı Bilgiler 90
4.2.5. Beslenme Alışkanlıklarına Ait Bilgiler 92
4.3. Otizm Klinik Belirti Şiddeti İle Gastrointestinal Semptomlar Arasındaki İlişki 94
4.4. Gruplar Arası İnflamasyon Düzeyine İlişkin Veriler 94
4.5. Gruplar Arası Bakteriyel Translokasyon Belirteçlerinin Dağılımı 95
4.6. Gruplar Arası Bağırsak Bakteri Florasına İlişkin Veriler 98

4.7. İnflamasyon Düzeyi Ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti Arasındaki Ilişkiye Ait Veriler 99
4.8 Bakteriyel Translokasyon ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastroinetstinal Semptomlar Arasındaki Ilişkiye ait veriler 99
4.9. Bağırsak Mikrobiyota Değişiklikleri ile Bakteriyel Translokasyon Arasındaki İlişkiye Ait Veriler 102
4.10. Bağırsak Mikrobiyota Değişiklikleri ile İnflamasyon Arasındaki İlişkiye Ait Veriler 102
4.11. Bağırsak Mikrobiyorta Değişiklikleri İle Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastrointestinal Semptomlar Arasındaki İlişkiye Ait Veriler 103
5. TARTIŞMA 104
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 119
KAYNAKLAR 121
EKLER 154
EK-1. Sosyodemografik Veri Formu 154
EK-2. Gastrointestinal Sistem Semptom Şiddet Indeksi 158
EK-3. Çocukluk çağı Otizm Değerlendirme Ölçeği (CARS) 159
EK-4. Etik Kurul Onayı 160
EK-5. Dahili Kurul Onayı 162

KISALTMALAR DİZİNİ

4-EPS : 4-etilfenilsülfat
5-HT : Serotonin
5-HTIAA : 5- Hidroksi İndolasetik Asit
ACTH : Adrenokortikotropik hormon
ADI-R : Autism Diagnostic Interview-Revised
ADOS : Autism Diagnostic Observation Schedule
AS : Asperger Sendromu
BGG : Bilişsel Gelişme Geriliği
BMI : Vücut kitle oranı (Body mass index)
BOS : Beyin Omurilik sıvısı
BTA-YGB : Başka Türlü Adlandırılamayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk
CARS : Çocukluk Çağı Otizmi Değerlendirme Ölçeği
CDC : Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CNV : Kopya sayısı değişkeni
ÇDB : Çocukluk çağı Dezintegratif Bozukluk
DA : Dopamin
DAWBA : Gelişim ve Ruhsal Sağlık Değerlendirmesi
DB : Davranım Bozukluğu
DEHB : Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
Disbiyozis : Anormal bağırsak bakteri florası
DM : Diabetes Mellitus
DSM : The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı)
EEG : Elektroensefalografi
ELISA : Enzim Bağımlı İmmunabsorbant
FC : Fekal kalprotektin
FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GABA : Gama-Aminobütirik Asit
GF : Germ free
GI : Gastrointestinal Sistem

GLP-1 : Glukagon-like peptid

GPR : Glikoprotein reseptörü

GSI : Gastrointetsinal sistem şiddet ölçeği (Gastointestinal System Severity Index)

HGP : İnsan Genom Projesi

HMP : İnsan Mikrobiyom Projesi

HPA : Hipotalama-Hipofiz-Adrenal Aks

HVA : Homovanilik asit

ICD : International Clasification of Diseases (Hastalıkların Uluslararası Sınıflandırılması)

IFN-gama : Interferon gama

Ig : Immünoglobulin

IL : İnterlökin

IQ : Zekâ Bölümü Puanı

KOKGB : Karşıt Olma ve Karşıt Gelme Bozukluğu

LBP : Lipopolisakkarid Bağlayıcı Protein (LBP)

Leaky gut hiotezi: Sızdıran Bağırsak Hipotezi

LPS : Lipopolisakkarid

MetaHit : İnsan Bağırsağı Metagenomik Analizi

MHFD : Maternal yüksek yağlı diyeti

MIA : Maternal Bağışıklık Aktivasyonu

Mikrobiyota : Bağırsak Bakteri Florası

MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme

NAD : Nikotinamid adenin dinükleotid

NE : Norepinefrin

NLR : NOD-like reseptör

NT : Nörotransmitter

OSB : Otizm Spektrum Bozukluğu

PAMP : Patojen-İlişkili Moleküler Paternler (pathogen-associated molecular patterns)

PCP : Fensiklidin

PET : Pozitron Emisyon Tomografi

PPA **:** Propiyonik asit

PRP **:** Patern Tanıma Reseptörlerine (pattern recognition receptors)

PVN **:** Paraventriküler nükleus

RS **:** Rett Sendromu

SAH **:** S-adenozil homosistein

SAM **:** S-adenozil metyonin

s-CD 14 **:** çözünebilir (soluble) CD14

SCFA **:** Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA)

TLR **:** Tool-like Reseptör

TNF-α **:** Tümor nekroz faktör alfa

VPA **:** Valproik asit

YGB **:** Yaygın Gelişimsel Bozukluk

Yİ **:** Yürütücü İşlevler (Theory of Planning and Executive Functions- EF)

ZK **:** Zihin Kuramı (*Theory of mind- ToM*)

ZMB **:** Zayıf Merkezi Bütünleşme (Theory of weak Central Coherence, CC)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. DSM-V Otizm Spektrum Bozuklukları Tanı Ölçütleri 6
Şekil 2. Bağırsak mikrobiyotası- Bağırsak- Beyin aksı 37
Şekil 3. Bağırsak mikrobiyota değişiminin lokal ve sistemik etkileri 48

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. İnflamasyon marker düzeyinin gruplar içerisinde dağılımı 95
Grafik 2. Bakteriyel translokasyon ve bağırsak duvar geçirgenliğini gösteren belirteçlerin serum düzeylerinin gruplar içerisinde dağılımı 95
Grafik 3. Gruplar arası Bağırsak Bakteri Florası dağılımı 98
Grafik 4. Bifidobacterium türünün gruplar içerisinde dağılımı 99

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizilerimiz 78
Tablo 2. Çalışma için hazırlanan tüp oranları 79
Tablo 3. Çocuğa ait tanımlayıcı bilgiler 85
Tablo 4. Çocuğun Gelişimine Ait Bilgiler I 86
Tablo 5. Çocuğun Gelişimine ait bilgiler -II 87
Tablo 6. Çocuğun Gelişimine ait bilgiler -III 87
Tablo 7. Anneye ait Tanımlayıcı Bilgiler 88
Tablo 8. Babaya Ait Bilgiler 89
Tablo 9. Aileye Ait Bilgiler 91
Tablo 10. Diyet İçeriği 93
Tablo 11. Otizm klinik belirti şiddeti ve Gastrointestinal semptom belirti şiddeti ... 96
Tablo 12. Gruplar arası biyolojik belirteçlerin dağılımna ilişkin veriler 96
Tablo 13. Gruplar arası Bağırsak Bakteri Florasına ilişkin veriler 97
Tablo 14. Bakteriyel Translokasyon ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastroinetstinal Semptomlar Arasındaki İlişkiye ait veriler 100
Tablo 15. Biyolojik belirteçler ile CARS alt ölçek puanlarının korelasyonu 101
Tablo 16. Gruplar arası Biyolojik Belirteçler ile Bağırsak Bakteri Florası arasındaki ilişkiye ait veriler 103
Tablo 17. Bağırsak mikrobiyorta değişiklikleri ile Otizm Klinik belirti şiddeti ve Gastrointestinal semptomlar arasındaki ilişkiye ait veriler 103

TEŞEKKÜR

Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı eğitimim süresincebilgi, beceri ve deneyimleri ile bana yol gösteren, tez danışmanlığımın yanı sıra mesleki gelişimimde her konuyu danışabildiğim, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Onur Burak DURSUN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında bilgisini ve tecrübesini paylaşan, samimi ve içten tavırları ile bana her daim destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk ESİN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Hicran DOĞRU'ya

Erişkin Ruh Sağlığı ve Hastalıkları rotasyonu eğitimim süresince bilgi vetecrübelerinden faydalandığım, değerli hocalarım Doç. Dr. Elif Oral, Doç. Dr. Halil Özcan ve Dr. Öğr. Üyesi Esat Fahri AYDIN'a; çocuk Nöroloji rotasyonumda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Hüseyin TAN'a

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan büyük keyif duyduğum arkadaşlarımDr. Semiha ARSLAN, Dr. Ali KARAYAĞMURLU, Dr. Esra İBİŞ, Dr. Hakan ÖĞÜTLÜ, Dr. Hüseyin AKTAŞ, Dr. Bahadır TURAN, Dr. Esen YILDIRIM DEMİRDÖĞEN, Dr. Mehmet Akif AKINCI, Dr. İbrahim TİRYAKİ, Dr. Elif ABANOZ, Dr. Merve DURGUNLU, Dr. Ali ÇAKIR'a, çok değerli psikologlarımız Munise TURAN ve Recep ŞENBAHÇE'ye, güler yüzleri ile çalışma ortamımızı daha sıcak ve samimi kılan Kerim AYDIN, Merve KELEŞ, Meral ORGUN, Esra LAÇİN, Göknur YILDIZ, Selda ARSLAN'a

Çalışmaya olan katkılarından dolayı Prof. Dr Hakan USLU ve Dr. Öğr. ÜyesiAbdülkadir GÜLEN'e ve Atatürk Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarı personeline,

Tez çalışmama katılan bütün çocuklara ve ailelerine,

Hayatımın her adımında destek ve dualarını arkamda hissettiğim ve bugünlere gelmemde hiç şüphesiz en kıymetli yere sahip olan canım anne ve babama, sevgili kardeşlerime,

Yaşamıma girdiği andan itibaren eşsiz bir güzellik ve ölçülemez derinlikte anlam katan, sevgisi ve desteği ile hep yanımda olan nişanlıma tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gülsüm YİTİK

ÖZET

Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (Mikrobiyota) ile İlişkisinin Araştırılması

Giriş: Otizm spektrum bozukluğu (OSB), prevalansı tüm dünyada giderek artan, kesin bir etiyolojisi ve etkili bir medikal tedavi yöntemi henüz bulunmamış çocukluk çağı nörogelişimsel bozukluklarından biridir. Eş tanı oranının sıklığı, hastalığın kronik gidişatı, tanı alan çocukların ebeveynlerinin toplumda veya günlük hayatta yaşadığı maddi ve manevi zorluklar OSB'yi önemli bir halk sağlığı sorunu haline getirmiştir. Hastalığın etiyolojisine ve tedavisine yönelik artan bilimsel çalışmalar, son zamanlarda Bağırsak-Beyin-Mikrobiyota aksı üzerine odaklanmıştır. Bu çalışmada amacımız, otizm etiyolojisinde suçlanan bu aksın, bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve kan parametreleri ile incelenmesi ve otizm tanısı olmayan kardeşler ile sağlıklı kontroller arasındaki farkların belirlenmesidir.

Yöntem: Çalışmamız 4-12 yaş arası OSB tanısı alan 30 çocuk, bu çocukların OSB tanısı almayan çalışmaya dâhil edilme ölçütlerini karşılayan 30 kardeş ve 30 sağlıklı kontrol olmak üzere 3 gruptan oluşmaktadır. Katılımcılara sosyodemografik veri formu, Gelişim ve Ruhsal Sağlık Değerlendirmesi(DAWBA) ve Gastrointestinal Semptom Şiddet İndeksi(GSI) doldurulmuş ve DSM-V tabanlı klinik görüşme yapılmıştır. Ayrıca, çalışmaya katılın OSB tanılı olgulara klinisyen tarafından CARS uygulanmıştır. Çalışmaya katılan tüm çocuklardan, alana ilişkin yazında bildirilen usule göre venöz kan örneği ve gaita numunesi alınmıştır. Serum örneklerinde LBP ve s-CD14 düzeyleri, gaita numunesinde ise kalprotektin düzeyi ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Katılımcıların bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ise real-time PCR yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular: OSB'li grubun ve kardeş grubunun bağırsak mikrobiyota içerik ve sayısının birbirine benzediği ancak kontrol grubundan farklı olduğu görülmüştür. Her üç grup incelendiğinde, sağlıklı kontrollerin genel bakteri sayısının, *Firmicutes* şubesinin ve *Bifidobacterium* alt türünün diğer iki gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,001/p=0,008/p=0,000). Çalışmamızda OSB'li olgularda gastrointestinal semptomların daha sık görüldüğü ve GSI puanları ile

CARS toplam puanı arasında orta düzeyde pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır(r=0,512/p= 0,004). LBP ve s-CD14 değerleri en yüksek kardeş grubunda ölçülmüş olup, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (sırasıyla p=0,000; p=0,000). Fekal kalprotektin medyan değeri, gruplar arasında anlamlı fark göstermez iken (p=0,951); en yüksek medyan değer kardeş grubunda, en düşük medyan değer ise kontrol grubunda belirlenmiştir. Ayrıca, fekal kalprotektin ve s-CD14 ile CARS toplam puanı arasında pozitif yönde bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla r=0,369/p=0,049; r=0,407/p=0,026).

Sonuç: Çalışmamız beyin-bağırsak aksının önemli bir parçası olan bağırsak mikrobiyotasının otizm etiyolojisindeki rolünü araştırmıştır. Elde edilen veriler, otizm etiyolojisinde doğrudan bir sebep olamayacağını, hastalığa eşlik eden komorbid durumların etiyolojisinde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Genetik yatkınlık, çoğul çevresel faktörler ve epigenetik mekanizmalar gibi multifaktoriyel etmenlerin birlikte bu sürece katkı sağladığı görüşü desteklenmiştir. Altta yatan mekanizmaların ve ilişkilerin tespit edilmesi için kardeş grubunun da yer aldığı geniş örneklemli ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Otizm Spektrum Bozukluğu, Mikrobiyota, İnflamasyon, İntestinal permeabilite, LBP, s-CD14, fekal kalprotektin,

ABSTRACT

A study of the relationship betweeen Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders

Objectives: Autism spectrum disorder (ASD) is one of the neurodevelopmental disorders of childhood, whose prevalence is increasing worldwide, with no clear etiology and an effective medical treatment method. The frequency of the rate of comorbidity, the chronicity of the disease, the financial and moral difficulties experienced by the parents of children in the community or in daily life have made autism a major public health problem. Increasing scientific studies on the etiology and treatment of the disease have recently focused on the bowel-brain-microbiota axis. The aim of this study was to investigate the axon microbiota composition and blood parameters accused in the etiology of autism and to determine the differences between healthy controls and non-autism-diagnosed siblings.

Methods: The participants of this study consisted of 3 groups of 30 subjects, including autism, siblings of children with autism and healthy control groupin 4-12 age range. All participants were assessed according to DSM 5 criteria, and administeredGastrointestinal Severity Index (GSI) and Development and Well-Being Assessment (DAWBA).Childhood Autism Rating Scale (CARS) was only applied for ASD group. Lipopolysaccharide binding protein (LBP) and soluble CD14 were assayed in serum samples, and calprotectin was determined by ELISA method in feces. Differences and variability of GM were analyzed via quantitative real-time PCR between groups.

Results: The mean age of the participants was 8.39 (± 2.45), and 61,1% (n = 55) male and 38,9% (n = 35) female were consisted. 18 (60%) of the case and sibling groups with the same socio-demographic characteristics were in urban areas and 12 (40%) were in rural areas; all control group have lived in urban areas. There was no statistically significant difference between two groups in terms of the presence of psychiatric disease in the family.A significant difference was found between three groups in terms of the copy numbers of gut microbiota (GM) (p=0,001). When compared to control group, it was seen that microbial of copy number case and

sibling groups decreased. GSI scores of case group were significantly higher than others, and related to CARS scores. The median value of fecal calprotectin was higher in sibling group, but no statistically significant difference was found between three groups (p=0,951). A correlation was determined between fecal calprotectin and CARS scores(r=0,369/p=0,049). The mean value ofs-CD14 and LBP were the highest in the sibling group and a significant difference was found between three groups (respectively p=0,000; p=0,000).

Conclusion: Our study investigated the role of intestinal microbiota as an important part of the gut-brain axis in the etiology of autism and showed that there was no sufficient cause alone. Multifactorial factors, such as genetic predisposition, multiple environmental factors, and epigenetic mechanisms, have been supported to contribute to this process. In order to determine the underlying mechanisms and relationships, detailed studies with a sample of the sibling group are needed.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, Microbiota, Inflammation, Intestinal permeability, LBP, s-CD14, fecal calprotectin

1. GİRİŞ

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sosyal ve iletişimsel alanda kısıtlılık, basmakalıp ve yineleyici davranışlar ve sınırlı ilgi alanlarının eşlik ettiği çocukluk çağı nörogelişimsel bozukluklarından biridir(1). Günümüzde sıklığı giderek artan bu hastalığın prevalansı, Amerika Ulusal Sağlık Araştırma Kurumunun 2014 yılında yayınladığı raporda %2.24 (1/45) olarak bildirmiştir(2). Erkeklerde (1/42) kızlardan (1/189) 4-5 kat daha sık görülen bu tanı grubunun kesin bir etiyopatogenezi ve etkili bir medikal tedavi yöntemi henüz bulunamamıştır(3).

Geniş bir spektrum içinde, çok farklı klinik tablo ve komorbid durum ile birlikte görülebilen otizmin etiyolojisinde genetik, çevresel ve epigenetik pek çok neden suçlanmaktadır(4). Yapılan araştırmalarda otizmli bireylerin çoğunluğuna kabızlık (%85), diyare, şişkinlik, hazımsızlık gibi gastrointestinal belirtilerin eşlik ettiği ve bu belirtilerin otizmli bireylerin sosyal ilişki ve toplumsal etkileşimlerindeki eksikliklerin derecesi ve stereotipik davranışların, hiperaktivitenin ve agresyonların şiddeti ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür(5, 6). Bu komorbid durumların saptanması ve bazı nöropsikiyatrik hastalıklar ile gastrointestinal sistem arasındaki ilişkinin belirlenmesi, otizmin etiyolojisinde 'Beyin-Bağırsak aksı' nın (gut-brain aksı) araştırılmasını gündeme getirmiştir.

Beyin, sekretuar bezler, bağırsak, immun hücreler, bakteri florası gibi birçok doku ve organı içeren dinamik bir yapıdan oluşan 'Beyin-Bağırsak aksı', iki yönlü etkileşim içerisindedir. Bu aks boyunca meydana gelen karşılıklı sinyal ve bilgi alışverişinin beynin kimyasal yapısını ve davranışlarını etkilediği ileri sürülmektedir(7). Otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik dallarını içeren vagal sinir; nöroimmun sistemi ve nöroendokrin yolakların aktivasyonuna neden olan bakteri hücre duvarı; bağırsak bakteri metabolitleri olan triptofan ve kısa zincirli yağ asitleri; nörotransmitterler ve nöropeptidler bu aksının önemli iletişim araçlarıdır(8).

Çeşitli çevresel maddelere ve toksinlere maruziyet, diyet alışkanlıkları, antibiyotik kullanımı, doğum şekli gibi faktörlerin bağırsaklarda yaşayan mikroorganizmaları etkilediği bilinmektedir. Bu etkenlere maruziyet sonucunda, bağırsak mikrobiyotasının sayı, yapı ve içeriğinde meydana gelen değişikler sağlıklı

dengenin bozulmasına ve anormal bağırsak bakteri florası olarak da bilinen ‘disbiyozis’in oluşmasına neden olmaktadır. Bu durumun, kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde değişme, bağırsak geçirgenliğinde artma ve kolon rezistansında azalma gibi lokal ve sistemik etkilenmeler ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir(9).

Bağırsak geçirgenliğinde artma sonucu, bakteriyel ürünlerin sistemik ve lokal dolaşıma geçtikleri ve bunun sonucunda düşük düzeyde bir endotoksemi oluşturarak ya da kısa zincirli yağ asidi üretiminde meydana gelen değişimin lipid ve glukoz metabolizmasını etkileyerek veya inflamasyon oluşumuna neden olarak obezite, metabolik sendrom, ateroskleroz, diyabet gibi metabolik hastalıklara yol açtığı ileri sürülmektedir(10). Bağırsak mikrobiyotasına ait ürünler ile hücresel yapılar arasında moleküler benzerlik görülebilmektedir. Disbiyozisin bu bakteriyel yapılara karşı bazı otoantikorların üretilmesine ve benzerlik nedeniyle sağlıklı hücrelerin olumsuz olarak etkilenmesiyle, otoimmun hastalıkların oluşmasına neden olabileceği bildirilmektedir(11). Bununla birlikte, kolon direncinde (rezistans) azalmanın fırsatçı patojenler veya patojenik bakteriler ile oluşan enfeksiyonlara da zemin hazırladığı söylenmektedir(9, 11).

Araştırmacılar otizmli bireylerin bağırsak mikrobiyota içeriğinin ve dağılımının sağlıklı çocuklara göre farklılık gösterdiğini de yayınlarında bildirmişlerdir (12, 13)Otizm ile bağırsak arasındaki bu ilişkinin temelinde yatan mekanizmalardan biri de *Sızdıran Bağırsak (Leaky Gut)* hipotezidir**.** Bu hipoteze yönelik yapılan bir çalışmada Magistris ve ark. otizmli olgularda ve yakınlarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oranda bağırsak duvar geçirgenliği (intestinal permeabilite) (%36.7) olduğunu belirtmiştir. Ayrıca araştırmacı, artan bu geçirgenliğin toksin ve bakteriyel ürünlerin kana geçmesine ve gastrointestinal sistemde yüksek antijen yükü oluşturmasına neden olduğunu ve lenfositlerin, pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 beta, IL-6, IFN- gama ve TNF-alfa) sistemik dolaşıma geçerek kan beyin bariyerine ulaştığını ve beyin fonksiyonlarını etkilediğini öne sürmüştür(14).

OSB tanılı olgular, otizmli olmayan kardeşleri ve sağlıklı kontrol grubundan oluşan çalışmamızda, gruplar arası bağırsak bakteri flora çeşitliliğini ve farklılığını tespit etmeyi; bu durumun sızdıran bağırsak hipotezi (leaky gut) ve düşük düzeyde

süregen inflamasyon hipotezi (low grade endotoksemi) ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları

2.1.1. Tanım

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) sosyal ve iletişimsel alanda belirgin yetersizlikler ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları ile karakterize, çocukluk çağı nörogelişimsel bozukluklarından biridir(1).

Otizm, DSM-IV'te Yaygın Gelişimsel Bozukluk (YGB) başlığı altında Rett Bozukluğu, Çocukluk çağı Dezintegratif Bozukluğu, Başka Türlü Adlandırılamayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk (BTA-YGB) ve Asperger Sendromu(AS)ile birlikte tanımlanır iken; 2013 yılında yayınlanan DSM-5 ile *Otizm Spektrum Bozukluğu* olarak yeni bir kategoride ele alınmıştır. Bu kategoride Rett Bozukluğu ve Dezintegratif bozukluk çıkartılmış; geri kalan bozuklukların ise aynı kategoride yer aldığı ve farklı şiddette çeşitli belirtiler gösterdiği belirtilmiştir.(4)

DSM-V'teki yeni kategorizasyon ile birlikte, Otizm Spektrum Bozukluğunun tanı kriterlerinde de bazı değişiklikler olmuştur. İlk olarak, bozukluğun belirtilerinin kümelendiği alanlar 'Sınırlı ve yineleyici ilgi, davranış ve etkinlikler' ve 'sosyal etkileşim/iletişim eksiklikleri' olmak üzere ikiye indirilmiştir. Tanı için ise 'sosyal etkileşim/iletişim eksiklikleri' alanındaki üç ölçütten üçünün; 'sınırlı ve yenileyici ilgi, davranış ve etkinlikler' alanındaki dört ölçütten ise en az ikisinin karşılanması gerektiği belirtilmiştir (15)(Şekil 1).

Dikkat çeken diğer önemli bir değişiklik de "Sınırlı ve yineleyici ilgi, davranış ve etkinlikler" alanına duyusal uyaranlarla farklı biçimlerde ilgilenme ve duyusal uyaranlara karşı aşırı ya da yetersiz tepki gösterme ölçütü eklenmesi olmuştur. Belirtilerin erken çocukluk döneminden itibaren görülme zorunluluğu devam etmesine karşın; silik bulguları olan kişilerde çevreden gelen sosyal taleplerin kişinin sınırlı kapasitesini aştığı zamana kadar belirtilerin fark edilmeme ihtimali de unutulmamalıdır.(16)

DSM-V'teki değişiklikleri inceleyen çalışmalardan birinde Frazier (2012), tanı ölçütlerinin iki alana indirilmesiyle tanı koymadaki özgüllüğün arttığı ancak duyarlılığın azaldığını ve olguların % 12'sinde tanı kaybı olduğunu bildirmiştir(17). McPartland ve arkadaşları (2012), DSM IV'e göre otizm tanısı alan bireylere DSM-V tanı kriterlerini uygulayarak yaptıkları bir çalışmada, bireylerin sadece %60'ının OSB tanısı alabildiğini gözlemlemiştir. Bu çalışmanın neticesinde yazar, DSM-V'in özgüllüğünün iyi olduğunu; ancak duyarlılığının OSB, AS ve BTA-YGB gibi alt tanı gruplarına ve bilişsel işlevselliğe göre değişkenlik gösterdiğini ve yüksek işlevli otizm tanısının atlanmasına neden olabileceğini öne sürmüştür (18). DSM-V'te kategorik bir ayrım yapılmaması ve belirtilerin şiddetinin derecelendirilmesi gibi değişikliklerin, otizmde gözlenen heterojen görünümleri daha güvenilir, geçerli ve gelişimsel açıdan duyarlı bir tanımlamaya olanak sağlayacağı düşünülmektedir(19). Bu değişikliklerin, otizm spektrumundaki bireylere sunulacak müdahale yöntemlerinin bireysel özelliklere ve ihtiyaçlar üzerine şekillenmesini kolaylaştıracak olumlu bir adım olarak düşünülebilir.

A. Şimdi veya geçmişte farklı şekillerde görülen toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde sürekli yetersizliğin olması.
1) Sosyal-duygusal karşılık vermede yetersizlik (örn. sıradışı toplumsal yakınlaşma, karşılıklı konuşmada güçlük çekme; ilgilerini, duygularını veya duygulanımını paylaşmada yetersizlik, sosyal etkileşime cevap vermeme gibi yetersizlikler.) 2) Sosyal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişimsel davranışlarda yetersizlik (örn. sözel ve sözel olmayan iletişimde yetersizlikler, sıra dışı göz kontağı, beden dili veya jestleri anlamakta ve kullanmakta yetersizlik; yüz ifadesi ve beden dilinde bariz eksiklikler.) 3) İlişkileri geliştirmekte, devam ettirmekte ve anlamakta güçlük (örn. farklı toplumsal ortamlara uygun davranamamak, hayali oyunda yetersizlik, arkadaş edinememe ve arkadaşa ilgi duymama gibi.) Şu anki şiddeti: Şiddet, sosyal iletişimsel alanda yetersizlikler ile kısıtlı ve tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.
B. Aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile kendini gösteren, şu an veya geçmişteki sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar, ilgiler ya da etkinlikler.
1) Basmakalıp veya tekrarlayıcı motor hareketler, nesne kullanımı veya konuşma (Basit motor stereotipiler, oyuncakları dizme veya çevirme, ekolali, kendine özgü cümleler) 2) Aynılıkta ısrar etme, rutinlere sıkı sıkıya bağlı olma veya ritüelleşmiş sözel ve sözel olmayan davranışlar, (örn. önemsiz değişikliklerde aşırı kaygı, geçişlerde zorlanma, katı düşünce tarzı, selamlaşma ritüelleri, her gün aynı yolu veya aynı yemeği tercih etme gibi.) 3) Konu veya yoğunluk açısından sıra dışı sınırlı, sabit ilgiler (sıra dışı nesnelere anormal aşırı bağlılık, aşırı tekrarlayıcı veya sınırlı ilgiler.) 10 4) Duyusal olarak aşırı ya da az duyarlılık veya uyaranların duyusal boyutuna aşırı ilgi (acıya/sıcağa aşırı duyarsızlık, belirli ses veya dokunuşlara karşı beklenmeyen tepki, nesneleri aşırı koklama veya onlara aşırı dokunma, ışık veya hareketle görsel olarak çok meşgul olma.) Şu anki şiddeti: Şiddet, sosyal iletişimsel alandaki yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlara göre belirlenir.
C. Belirtiler erken gelişim dönemlerinde mevcut olmalı (toplumsal beklenti sınırlarını aşıncaya dek fark edilmemiş veya daha sonra öğrendiği yollarla gölgelenmiş olabilir.)
D. Belirtiler sosyal, mesleki ve başka önemli alanlarda klinik olarak anlamlı düzeyde bozukluğa yol açmalıdır.
E. Bu bozukluk zihinsel yetersizlik veya genel gelişimsel gerilik sebebi ile birlikte olmamalıdır. Gerçi zihinsel yetersizlik ve OSB, sıklıkla bir arada görülür; ancak OSB ve zihinsel engellilik tanısı konması için sosyal iletişimsel düzeyin genel gelişimin altında olması gerekir.
Not: DSM-IV'e göre Otistik Bozukluk, Asperger bozukluğu ve YGB-BTA tanısı almış olanlara OSB tanısı verilmelidir. Sosyal iletişimsel alanda problem olan ancak OSB tanısı almayanlar sosyal (pragmatik) iletişimsel bozukluk açısından değerlendirilmelidir. - Zihinsel yetersizliğin eşlik edip etmediğini, - Dil yetersizliğinin eşlik edip etmediğini - Bilinen bir tıbbi, genetik veya çevresel faktörün eşlik edip etmediğini, - Başka nöro-gelişimsel, ruhsal veya davranışsal durumların olup olmadığını, - Katatoninin eşlik edip etmediğini belirtiniz.

Şekil 1. DSM-V Otizm Spektrum Bozuklukları Tanı Ölçütleri

2.1.2. Tarihçe

Tarihte ilk olarak, 18. yüzyılda M. Luther'in eserlerinde, otizmi çağrıştıran davranışlar sergileyen 12 yaşındaki bir erkek çocuğundan bahsedilmiştir(20).

Yunanca ‘ben’ anlamına gelen ‘autos’ kelimesinden köken alan ‘otizm’ terimi, ilk defa Bleuler (1911) tarafından egosentrik- ben merkezli düşünmeyi tanımlamak için kullanılmıştır(21). Günümüzdeki anlamıyla otizm, ilk defa 1938 yılında Avusturyalı çocuk hastalıkları uzmanı Hans Asperger, Viyana Üniversitesi’nde verdiği bir derste, Bleuler’in ‘otistik psikopatlar’ terminolojisini yorumlarken bahsetmiştir(22).

Aynı yıllarda H. Asperger’in yaptığı çalışmalardan habersiz olarak Leo Kanner, diğer insanlara karşı belirgin ilgisizliği, alışılmadık tuhaf davranışları, değişikliğe karşı aşırı direnci ve dil işlevlerinde bozukluğu olan 11 çocuğun klinik özelliklerini detaylı olarak anlattığı ‘Autistic Disturbances of Affective Contact’ adlı makalesini yazmıştır. Karşılaştığı bu olguları Erken Bebeklik Otizmi (Early Infantil Autism) olarak adlandıran Kanner, ayrıca yayınladığı başka bir yazısında ‘otistik yalnızlık’ ve ‘aynılıkta ısrar’ gibi kavramları tanımlamıştır(23). Kanner’ın tanımladığı birçok özellik günümüzde geçerliliğini korurken; bozukluğun uygunsuz ve yetersiz bakım sonucu gelişebileceği, eş tanı alamadığı, anlık yeti yitimi ile ilişkili olmadığı şeklindeki bazı savlar geçerliliğini yitirmiştir(24).

Daha sonraları Asperger, 1944 yılında yayınladığı doktora tezinde sosyal ve karşılıklı iletişim becerilerinde yetersizliği ve sınırlı-tekrarlayıcı davranışları olan bir grup çocuk ve ergenden bahsetmiştir(25). Kanner ve Asperger tarafından farklı dillerde bildirilen bu olgular arasındaki en önemli fark; Asperger’in tarif ettiği olgularda dil ya da bilişsel alanda herhangi bir geriliğin ifade edilmemesiydi(26).

1960’lı yıllarda otizmin etiyolojisine yönelik çalışmalar, bu kavramın Çocukluk Şizofrenisinden farklı nöropatolojik bir süreç olabileceği savını ileri sürmüştür (27). İlerleyen yıllarda Rutter (1978) ‘Çocukluk Çağı Otizmi’ni, bedensel gelişimin 30. ayından önce ortaya çıkan dil gelişiminde sapma/gecikme, sosyal alanda bozulma ve aynılıkta ısrarcı olma şeklinde tanımlamıştır (28). Wing ve Gould (1979) önceden yapılan tanımlamaları genişleterek üçtemel alanda yer alan belirtilerin farklı şiddette ve değişen şekillerde bulunabileceğinden bahsetmişlerdir. ‘Otizm Spektrum Bozukluğu’ ifadesini kullanan Wing ve Gould bu problemin *‘soğuk- mesafeli, pasif ve aktif fakat tuhaf’* şeklinde üç alt gruba ayrılarak incelenmesi gerektiğini belirtmişlerdir(29).

Otizm terimi ilk olarak 1967 yılında Şizofrenin alt gruplarından biri olarak ICD 8 (International Classification of Diseases – 8th edition) kategorisinde yer almıştır. ICD 9'da erken çocukluk otizmi; erişkinde görülen şizofreni bozukluğunun öncülü olarak, çocukluk çağında başlayan psikotik bozukluklar grubu içerisinde bulunurken; ICD 10'da Otistik Bozukluk terimi ile Yaygın Gelişimsel Bozukluk (YGB) başlığı altında diğer bozukluklar ile birlikte yer almıştır(24).

DSM (Diagnostic and statistical manual of mental disorders) sınıflamasına ilk olarak 1980 yılında girmiş, DSM III'te 'Yaygın Gelişim Bozuklukları' başlığı altında 'Erken Bebeklik Otizmi', 'Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluk' ve 'Atipik Yaygın Gelişimsel Bozukluk' şeklinde yer almıştır(30). Bu tanı kategorisinde, Erken Bebeklik Otizmi ile Çocukluk Başlangıçlı Yaygın Gelişimsel Bozukluğu belirtileri başlama yaşıyla (30 ay) birbirinden ayrılmıştır (31). 1987 yılında yayınlanan DSM III-R revize formunda ise, 'Başka Türlü Adlandırılamayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk' (BTA-YGB) ve 'Otistik Bozukluk' (OB) şeklinde iki ayrı gruba ayrılmış; OB tanısı için üç alana (sosyal ilişkide bozukluk, iletişim alanında bozukluk, kısıtlı aktivite örüntüsü) ait 16 belirtiden 8 ini karşılanması gerektiği zikredilmiştir(30). DSM-IV' de ise Otistik Bozukluk (OB), Asperger Bozukluğu (AB), Rett Sendromu (RS), Çocukluk çağı Dezintegratif Bozukluk (ÇDB) ve Başka türlü adlandırılamayan Yaygın Gelişimsel Bozukluk tanıları Yaygın Gelişimsel Bozukluk başlıkları altında toplanmıştır(32).

Nörogelişimsel Bozukluklar grubunun çalışmaları neticesinde, DSM-V'te otizm ile ilişkili bozuklukların sınıflaması değiştirilmiş ve bulguların şiddetine göre değerlendirildiği yeni tanı sistemi getirilerek; Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) yelpazesi altında toplanmıştır. DSM-V'te meydana gelen önemli değişikliklerden biri de Rett Sendromunun farklı genetik yapısı nedeniyle bu sınıflamaya dâhil edilmemesidir (1).

2.1.3. Epidemiyolojisi

Günümüzde sıklığı giderek artan Otizm Spektrum Bozukluğu'nun prevalansı Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin (CDC) verilerine göre, son 10

yılda %123 artış göstermiştir. CDC raporlarına göre otizm görülme oranları, 2006'da 1/150, 2008'de 1/88, 2012'de 1/68 ve 2014'de 1/45 olarak saptanmıştır (2, 3). Güney Kore'de 7-12 yaş grubu okul çağı çocukları ile yapılan bir epidemiyoloji çalışmasında ise OSB prevalansı, 1/38 (%2,6) olarak saptanmıştır(33).

Son yıllarda meydana gelen OSB sıklığındaki artışı değerlendiren araştırmalarda konuyla ilgili pek çok sebep ileri sürülmüştür. Örneğin yapılan çalışmalardan birinde prevalans oranındaki bu artışın nedeni, toplumdaki OSB ile ilgili bilgi ve farkındalığın artması, daha fazla olgunun kliniklere başvurması ve tanı kriterlerinde meydana gelen değişiklikler olarak gösterilmiştir (34).

OSB erkeklerde kızlardan daha sık görülmekle birlikte, bu oranın zekâ düzeyine göre farklılık gösterebileceği düşünülmektedir. Fombone yaptığı çalışmada, normal zekâya sahip OSB'li bireylerde erkek/kız oranını 5,75/1; anlıksal yetiyitiminin (mental retardasyon) eşlik ettiği olgularda ise bu oranı 1,9/1 olarak tespit etmiştir (35).

2.1.4. Klinik Özellikleri

DSM-5 sınıflama sistemi OSB'nin klinik özelliklerinin sosyal-iletişimsel alanda yetersizlik ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları olmak üzere iki boyutta ele almıştır(1). Bu belirtilerin büyük çoğunluğu erken çocukluk dönemlerinde başlamasına rağmen, her zaman erken çocukluk döneminde fark edilmeyebilir.

İletişim ve toplumsal etkileşim alanında yetersizlik: Bu alandaki belirtiler toplumsal iletişimde, duygusal ve sosyal etkileşimde, karşılıklı diyalog sürdürmekte, sözel olmayan iletişim becerilerinde, yaşına uygun insan ilişkisi kurmakta ve yürütmekte problemleri kapsamakla birlikte otizmin temel belirtilerini oluşturmaktadır. Bu problemlerin görülme biçimi ve şiddeti çocuğun yaşı, zekâ düzeyi ve dil becerisine göre değişmektedir.

OSB tanılı çocukların küçük yaşlardan itibaren gelişimine uygun arkadaşlık ilişkisi geliştirme, karşılıklı sosyal ve duygusal etkileşimde bulunma becerileri

yaşıtlarına oranla kısıtlıdır. Dili kullanma becerisi daha iyi olan OSB'li çocuklar bile, yeni sosyal ortamlara uyum sağlamada, bir konu hakkında karşılıklı görüş alışverişinde bulunmada ve ilgi alanlarını, duygularını ve başarılarını başkaları ile paylaşmada zorlanır. Ayrıca bu çocukların taklide dayalı becerileri yetersiz, ortak dikkat süreleri çoğunlukla kısadır.

Sözel olmayan iletişim becerisindeki yetersizlik otizmli çocuklarda göz temasının yokluğu, zayıflığı veya tuhaflığı, jest-mimik ve beden dilini kullanma becerisinde farklılık, dilin pragmatik kullanımı ve empati kurma becerisinde zayıflık şeklinde görülebilmektedir.

Erken çocukluk dönemlerinden itibaren otizmli çocuklar yaş, kültür ve cinsiyet normlarına uygun insani ilişkiler geliştirmekte, sürdürmekte ve anlamakta problem yaşarlar. Yaşıtlarıyla uygun oyun oynayama ya da onların oynadıkları oyuna ilgi duymama gibi davranışlar sergilerler(4).

Kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları: Otizm tanısı için ikinci temel belirti grubu olan bu belirtiler, yaşla birlikte değişmekte ve farklı görünümler sergilemektedir. Erken çocukluk döneminde normal gelişen çocuklar da görülebilen el çırpma, sallanma gibi tekrarlayıcı motor davranışlar otizmli çocuklar da sıkça görülmektedir. Ancak normal gelişen çocuklarda bu davranışların 3-4 yaşlarında kaybolurken; OSB'li olgularda ilk 5 yılda artarak devam ettiği tespit edilmiştir.

OSB'li çocuklarda sallanma, kendi etrafında dönme, el çırpma gibi stereotipik davranışlar, oyuncakları işlevine uygun oynamama (oyuncakları sıralama, araba tekerliği çevirme), aynı kelime veya cümleyi defalarca tekrarlama (ekolali) gibi davranışlar sık görülebilmektedir. 'Aynı' işlerin tekrarında ısrarcı olabilir ve rutinleri bozulduğunda kaygılanıp, huzursuzlanabilirler. Bazen tuhaf nesnelere (kartvizit, araba markası) ilgi duyabilir ve özel ilgi alanları hakkında yaşıtlarında daha fazla düzeyde bilgi sahibi olabilirler.

DSM-V ile birlikte, OSB'li olgularda görülebilen tat, koku, ses ve dokunsal uyaranlara karşı aşırı duyarlılık (hipersensitivite) veya ağrılı uyaranlara karşı az duyarlılık (hiposensitivite) tanı ölçütleri arasına girmiştir(1).

Otizm spektrum bozukluğunu temel belirtileri farklı yaş gruplarında benzer olmakla birlikte, bu belirtilerin ortaya çıkış şekli ve günlük hayattaki işlevleri etkileme derecesi bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir(4).

2.1.5. Klinik Değerlendirme

Otizm tanısı, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Uzmanı tarafından ayrıntılı klinik değerlendirme sonucunda konulmalıdır(24). Kapsamlı bir klinik değerlendirme, ebeveyn ya da bakım verenlerden ayrıntılı bilgi ve öykü almayı, çocuğu doğal ortamında veya yapılandırılmış bir ortamda gözlemlemeyi, gerekli tıbbi incelemelerin yapılmasını, çocuğun bilişsel gelişiminin ve uyum (adaptif) becerilerin değerlendirilmesini kapsamalıdır(36).

Ebeveyn ile olan görüşme: Ebeveynlerden mevcut yakınmalar ve ayrıntılı gelişim öyküsü alınır. Ailenin temel başvuru sebebi, problemlerin başladığı tarih, çocuğun motor ve sosyal –iletişimsel alandaki gelişimi, çocuğun günlük yaşantısı ve bakım koşulları, aile öyküsü (geniş fenotip, nörolojik, fiziksel veya psikiyatrik hastalık varlığı), prenatal,-perinatal ve postnatal risk faktörleri sorulmalıdır. Ayrıca, ailenin daha önceki psikiyatrik başvuruları ve yapılan girişimler de mutlaka sorgulanmalıdır(24).

Ebeveyn – bakım veren ile yapılan görüşmede kullanılan bazı yapılandırılmış tanısal görüşme araçları bulunmaktadır. *ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised), DISCO (The Diagnostic Interview for Socila and Communication Disorder)* ve *3DI(Developmental, Dimensional and Diagnostic Interview)* bunlardan bazılarıdır. Bu yapılandırılmış görüşme araçları sorulması gereken soruları uygulayıcı fark etmeksizin sorulabilmesi, standart kodlama imkanı verilmesi, eşik altı olguların tespiti ve bilimsel araştırmalarda standart veri sağlamasına rağmen, maliyeti ve uzun uygulama süreleri nedeniylegünlük pratikte kullanımı zordur(4).

Ülkemizde otizm bulgularının taranması amacıyla *'Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Tarama Ölçeği' (Modified Checklist For Autism in Toddlers, M-CHAT*) kullanılmaktadır. Otizm semptom şiddetini ölçmek için ise *'Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği' (Childhood Autism Rating Scale- CARS), 'Otistik*

Davranışları Derecelendirme Ölçeği' (Autism Behavior Checklist-ABC) ve *'Sosyal İletişim Ölçeği' (Social Communication Questionnaire-SCQ)* ölçekleri kullanılmaktadır(4).

Gözlem: Otizmli çocukların gözlemi *yapılandırılmamış* ortamda (genellikle muayene odası), *yapılandırılmış* bir ortamda (zeka/gelişim testi gibi standardize uygulamalar sırasında) ve çocuğun doğal ortamında (ev/okul ziyaretleri veya video kayıtları) olmak üzere 3 farklı şekilde yapılmalıdır(4).

Çocuk ve ailesi muayene odasına girdiği andan itibaren olgunun gözlemi başlamaktadır. Ebeveyn- çocuk oyununun gözlemlenmesi ve hekimin çocuk ile oyun oynaması çocuğun sosyal ve duygusal yönlerinin belirlenmesinde hekime yardımcı olur. Ebeveyn- çocuk oyunu süresince hekim, çocuk ile ebeveyn arasındaki ilişkiyi, karşılıklı sosyal etkileşimi, çocuğun duygusal ipuçlarını nasıl değerlendirdiğinin gözlemleyebilir. Çocuğun sosyal etkileşim (göz teması, ortak dikkat, taklit becerileri) ve sözel iletişim becerilerini (alıcı dil ve ifade edici dil gelişimi, dilin pragmatik kullanımı) değerlendirebilir. Ayrıca, hekim çocuğun tek başına kaldığı zamanlarda gösterdiği davranış özellikleri, oyuncakla oynama biçimi ve tekrarlayıcı davranışları hakkında da gözlem yapabilir(4).

Okula giden çocukların öğretmenlerinden bilgi alınması, sosyal oyunlar ve grup oyunları gibi farklı aktiviteler sırasındaki video görüntülerinin izlenmesi tanıya yardımcı olabilir.

Otizm Tanısal Gözlem Çizelgesi (Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS-2) gözlem sırasında kullanılabilecek oyun temelli yarı yapılandırılmış bir yöntemdir(37). Yaklaşık 40 dakika süren bu yöntem uygulanamıyorsa, çocukluk çağı otizm değerlendirme ölçeği CARS yapılan gözlemin standardizasyonuna yardımcı olarak kullanılabilir(4, 38)

Eşlik eden Tıbbi durumların değerlendirilmesi: Otizm klinik değerlendirmesinde eşlik eden bozuklukların saptanması ve ayırıcı tanının yapılması için diğer sistem muayenelerinin yapılması önemlidir. Otizm şüphesi ile başvuran her olguya temel tıbbi incelemelerin yapılması gerekmektedir. Ağır zihinsel engelliğin

eşlik ettiği, dismorfisi olan veya gelişimin bir döneminde regresyona uğrayan otizmli olgulardan ileri tıbbi incelemelerin istenmesi uygundur. Bunlarla birlikte, kan sayımı, tiroid fonksiyon testleri, vitamin B12,demir, ferritin, vitamin D düzeylerini içeren kan tahlilerinin yapılması da önerilmektedir (4).

1. Temel Tıbbi İncelemeler
   - Ayrıntılı tıbbi ve gelişimsel öykü
   - Dismorfi ve cilt lekeleri açısından çocuğun incelenmesi
   - Motor beceriler ve el kullanımı (Nörolojik muayene, baş çevresi ölçümü, motor sistem muayenesi ve reflekslerin ölçümünü kapsamalıdır.)
   - İşitme ve görme muayenesi
   - Kromozom analizi (Array CGH ve FMR-1)

2. OSB'de İleri tıbbi İnceleme
   - Kromozom analizi (erkeklerde 15q11-13 monozomi, trizomi; kızlarda MECP2)
   - EEG, özellikle yavaş uyku sırasında
   - Manyteik Rezonans Görüntüleme
   - Nörometabolik bozukluklar, aminoasit ve mitokondriyal bozukluklar için laboratuvar incelemeleri

Bilişsel Değerlendirme: Özellikle 6 yaş altındaki çocuklara uygulanacak gelişim değerlendirmeleri hem eşlik eden bilişsel gelişim sorunlarının hemde otizme bağlı spesifik sorunların saptanmasında faydalıdır. Ülkemizde bu amaçla Ankara Gelişim Tarama Envanteri, Denver II Gelişm tarama testi ve Erken Gelişim Evreleri Envanteri kullanılmaktadır(4).

Uyum Becerileri: Uyum (adaptif) becerileri iletişim, sosyal beceriler, ince ve kaba motor becerileri, özbakım becerileri (beslenme, giyinme, hijyen), güvenlik, para kullanma gibi alanları kapsamaktadır. Bu becerilerin işlev düzeyini değerlendirmek için Vineland Uyum Davranışı Ölçeği (Vineland Adaptive Behavior Scale) kullanılabilir(4).

2.1.6. Ayırıcı Tanı

Küçük yaşlarda ruhsal gelişimin bir alanında sorun varsa, genelde başka alanlarda da aksama görüldüğü için bu yaş gruplarında ayırıcı tanı zordur. Çok boyutlu bir değerlendirme ile bütün gelişim alanlarında çocuğun değerlendirilip, eş tanı gösteren durumların gösterilmesi gerekmektedir. Tanıda güçlük yaşansa bile çocukların yetersiz ve geri oldukları alanların belirlenip, uygun eğitsel müdahalelere başlanılmalıdır(39).

Tanısal olarak OSB'de en sık karşılaşılan durumlar aşağıda tartışılacaktır:

a) Dil Bozuklukları

Dil gelişim geriliği olan çocuklar, sosyal etkileşim alanında yaşıtlarından gerilik göstermektedir. Ayrıca bu çocuklarda tekrarlayıcı hareketler de görülebilmektedir. Ancak, dil gelişiminde gerilik olan çocuklar, küçük yaşlarda dahi otizm tanılı çocuklara göre insanlara karşı daha ilgili ve sözel olmayan iletişim becerileri daha iyidir(4).

b) Zihinsel Yetersizlik

Otizm tanısı ile zihinsel yetersizlik tanısı sık birliktelik göstermekte olup, ağır düzeyde zihinsel yetersizliği olan olgularda gözlemlenen sosyal becerilerde defisit ve tekrarlayıcı davranışların sıklığı ayırıcı tanıyı zorlaştırmaktadır(4).

Otizmin eşlik etmediği zihinsel yetersizlik olgularının çevreye ve insanlara karşı daha ilgili oldukları gözlemlenirken; OSB'li bireylerin çevreden izole yaşadıkları, erişkinlerin ilgisini çekmeye karşı ilgisiz ve başka çocuklar ile oynamaya karşı isteksiz oldukları gözlemlenmiştir. Eğer bir çocuk bilişsel düzeyinin altında sosyal beceri sergiliyorsa, bu durum olgunun otizm tanısı lehinedir(39).

c) Tepkisel Bağlanma Bozukluğu

DSM-5 sınıflaması ile birlikte 'Bağlanma Bozukluk' tanısının yeni bir alt tipi olarak tanımlanan 'Tepkisel Bağlanma Bozukluğu', uygunsuz bakıma maruz kalan veya uyaran eksikliği nedeniyle sosyal gelişiminde aksamları olan otizm benzeri

davranışlar gösteren çocuklar için kullanılmıştır(4). Bu bozukluğun OSB'den ayrıcı tanısında çocuğun uygunsuz bakıma maruz kalıp kalmadığı önemlidir. Çevresel koşullar değiştirildiğinde ve uygun uyaranlar verildiğinde Tepkisel Bağlanma Bozukluğu tanısı olan çocuklarda hızlı düzelmeler olduğu bildirilmiştir. DSM-5'e göre bir çocuk OSB belirtilerini karşılıyorsa, tepkisel bağlanma bozukluğu tanısı dışlanmaktadır(1).

d) Sosyal(Pragmatik) İletişim Bozukluk

Sosyal Pragmatik İletişim Bozukluğu (SPİB), ilk kez DSM-5'te Nörogelişimsel bozukluklar grubu içinde İletişimsel Bozukluklar kategorisinde tanımlanmıştır(1). Sözel ve sözel olmayan sosyal iletişimde süregiden zorluklar ve dilin sosyal kullanımında kısıtlılıklar ile karakterizedir. Sosyal iletişim alanındaki defisitler ile OSB'ye benzerlik gösteren SPİB, kısıtlı tekrarlayıcı davranış ve ilgi alanlarının bulunmaması ile de OSB'den ayrılır(4).

e) Çok Erken Başlangıçlı Şizofreni

Çok erken yaşlarda başlayan psikotik durumlar OSB'ye benzeyebilir. İyi bir gelişimsel öykü ve belirtilerin başlangıç zamanı ayrıcı tanıda yardımcı olur. Eğer erken gelişim evrelerinde sosyal iletişimsel alanda ağır defisit yoksa sonradan gerileme ve pozitif psikotik belirtiler eklenmişse, bu psikotik bir süreçtir. Ancak erken yaşlardan itibaren gelişimsel aksamalar varsa öncelikli tanı otistik bozukluktur(4). Erken başlangıçlı şizofrenilerin %25'inin yaşam boyu "Yaygın Gelişimsel Bozukluk" ek tanılı olduğu belirtilmiştir(40).

f) Görme Ve İşitme Engelliler

Hem görme engelli bireylerde hem de işitme engelli bireylerde dil gelişiminde aksama, sosyal becerilerde kısıtlılık ve tekrarlayıcı davranışların sık görüldüğü bilinmektedir. Bu durum OSB ile karışabilmektedir(41). Ancak, görme ve işitme engelli çocuklar iletişim başlatıldıktan sonra bu iletişimi devam ettirebilmekte ve karşılıklı diyalog sırasında uygun duygusal yanıtlar verebilmektedir. Ayrıca, işitme kaybı nedeniyle dil becerisinde ve sosyal alanda gerilik saptanan çocukların,

duyusal yetersizliği giderildikten sonra sosyal ve iletişimsel alanda hızlı bir düzelme gösterdikleri bildirilmektedir(4).

g) Selektif Mutizm

Sosyal ve iletişimsel alanda normal gelişim gösteren bu çocuklar, tanımadıkları kişilerin yanında sözel ve sözel olmayan tüm iletişim yollarını kapatmaktadır. OSB'li bireylerde ise bu durum her ortamda görülmektedir(4).

2.1.7. Eşlik Eden Durumlar

2.1.7.1. Eşlik Eden Psikiyatrik Bozukluklar

Yapılan çalışmalar, OSB'li bireylerin genel nüfusa oranla daha fazla davranışsal sorun ve psikiyatrik bozukluk tanısı aldıklarını göstermiştir(42). 10-14 yaş arası OSB'li çocuklar ile yapılan bir çalışmada %71'inde en az bir, %41'inde ise iki ve daha fazla eşlik eden psikiyatrik bozukluk saptanmıştır(43). Ghaziuddin ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ise %65 ek psikiyatrik bozukluk bulunmuştur. Çocukluk çağında en sık DEHB eşlik ederken, ergen ve erişkinlerde en sık Major Depresif Bozukluğa rastlanılmıştır(44).

OSB'li olgularda komorbid durumlar belirgin klinik bozulmaya yol açmakta ve hem olgunun hem de ebeveynlerinin günlük hayattaki işlevselliğini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, komorbid durumların tespit edilip tedavi edilmesi bu bireylerin eğitsel programlarına, öğrenmelerine ve hayat kalitelerine önemli düzeyde katkı sağlamaktadır(4).

Otizm spektrum bozukluğuna eşlik eden psikiyatrik hastalıkları inceleyelim:

a) Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu

DEHB ve OSB sıklıkla bir arada bulunan nörogelişimsel bozukluklardır. Pek çok epidemiyolojik ve klinik çalışma OSB ile DEHB arasında %28-83 oranında komorbidite varlığını ortaya koymuştur(4, 43). Tedavi edilmeyen hiperaktivite, OSB tanılı bireylerde, eğitsel tedavilere yanıtı ve öğrenmeyi olumsuz etkilemekte, fevrilik

ve saldırganlığa yol açmakta, hastanın ve bakım veren kişinin hayatını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, OSB'li her olguda DEHB semptomlarının sorgulanması ve tanı konulduğu zaman uygun tedaviye başlanılması önemlidir.

b) Depresif Bozukluk

Ergen ve yetişkin OSB'lilerde en sık görülen psikiyatrik bozukluk depresyondur. Depresyonun klinik özellikleri OSB'li olgunun yaş, IQ düzeyi, sözel becerileri ve bilişsel düzeyine göre farklılık göstermektedir(45). Örneğin IQ düzeyi daha yüksek olan ve sözel becerileri daha iyi olan OSB olguları depresif duygu durumunu ve hüznü daha iyi tanımlayabilir iken, sözel becerisi olmayanlar bu durumu ağlama nöbetleri, içe kapanma, uyku problemleri, kilo kaybı, işlevsellikte gerileme gibi belirtiler şeklinde gösterebilmektedir(45).

c) Bipolar Bozukluk

OSB'li olgularda mani semptomları konuşma miktarında artış, aşırı hareketlilik, dikkat dağınıklığı, neşeli görünüm, yıkıcı davranışlar, irritabilite, tedaviye uyumsuzluk, grandiozite, cinsel içerikli konuşmalarda ve davranışlarda artış olarak bildirilmiştir(46). OSB'li çocuk ve ergenlerde Bipolar bozukluk komorbiditesi ise %0,7-27 olarak saptanmıştır(47, 48).

d) Kaygı Bozukluğu

Çeşitli çalışmalarda OSB olan kişilerde kaygı bozukluğu oranları %17-84 arasında değişmektedir (49, 50). Yapılan bir metaanaliz çalışması, kaygı bozukluğunun OSB'li grupta en sık rastlanılan bozukluk grubu olduğunu, OSB'li olguların %39,6'sına en az bir kaygı bozukluğu tanısının eşlik ettiğini ve bu eş tanılar içerisinde en çok özgül fobi, obsesif kompulsif bozukluk ve sosyal anksiyete bozukluğunun görüldüğünü bildirmiştir(50).

e) Obsesif Kompulsif Bozukluk(OKB)

OSB'li bireylerde OKB tanısı tartışmalıdır. OKB tanısı OSB'li bireylerde ancak mevcut tekrarlayıcı davranışlarda niteleyici bir değişim ve sayısal olarak belirgin artış olduğu zaman düşünülmelidir. Otizmlilerde gelişen obsesif kompulsif

davranışlar tipik gelişen çocuklardan bazı farklılıklar göstermektedir. Bu grubun takıntıları daha çok objeler, mekanik/elektrik, bilgisayarlar vs. iken normal gelişen bireylerde daha çok inanç, cinsellik, insan ilişkileri vs. ile ilgili olmaktadır(4, 45). Yapılan çalışmalar OSB'li bireylerin yaklaşık %17-56'sında OKB 'nin görülebileceğini bildirmiştir(46, 48, 50).

f) Travma sonrası Stres Bozukluğu (TSSB)

OSB'li olgularda TSSB ile ilgili veriler kısıtlıdır. Bu alanda yapılan bir araştırmada OSB ile TSSB eş tanısı %17 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada OSB'li olgularda TSSB belirtileri sosyal becerilerde ve dil becerilerinde gerileme, stereotipik davranışlarda artış, öfke patlamaları, dikkat dağınıklığı, ajitasyon, kendine zarar verme, öz bakım becerilerinde azalma şeklinde gözlemlenmiştir(51).

Ayrıca yapılan farklı çalışmalar OSB'li grupta tik bozuklukları, uyku bozuklukları, psikotik bozukluk, enürezis-enkoprezis, cinsel kimlik bozukluğu, intihar girişimi gibi psikiyatrik bozukluklarının da eşlik edebileceğini, psikiyatrik muayenede bu durumların göz önünde bulundurulmasının önemli olduğunu vurgulamıştır(4).

2.1.7.2. Eşlik Eden Tıbbi Bozukluklar

OSB'ye pek çok tıbbi bozukluk eşlik etmektedir. Bütün tıbbi bozukluklar içinde en sık görülen ve en sık araştırılmış tıbbi bozukluk epilepsidir. Yapılan çalışmalar OSB'li bireylerin 10-30 kat daha fazla epilepsi tanısı aldığını göstermiştir. OSB'ye zihinsel yetersizlik eşlik ettiği durumlarda epilepsi görülme riskinin arttığı ve EEG'de epileptiform aktivitelerin daha sık görüldüğü bildirilmiştir. OSB, zihinsel yetersizlik ve epilepsi arasında ortak etiyoloji ya da genetik mekanizmaların olabileceği söylenmektedir(52).

Epilepsi dışında kromozomal anomalilerin, duyusal bozuklukların (görme ve işitme yetersizliği), nörokutanöz bozuklukların, metabolik bozuklukların ve mitokondriyal bozuklukların da otizm ile komorbiditesi tespit edilmiştir(4).

Otizm ile en sık birlikteliği bildirilen kromozomal anomali Fragil X sendromudur(53). Nörokutanöz bozukluklardan tuberoskleroz ve nörofibromatoziste OSB görülme riskinin, genel popülasyona göre belirgin arttığı bildirilmektedir(54).

2.1.8. Klinik Gidiş

Otizm tanısı alan çocukların büyük çoğunluğu bu tanıyı ömür boyu taşımaktadırlar. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, küçük yaşlarda otizm tanısı alan bir grup çocuğun yoğun eğitim programları ile ilerleyen yıllarda otizm yelpazesi dışına çıktığını bildirmiştir(4).

OSB tanısı alan çocukların yaş ile birlikte bazı belirtilerinde değişimler görülmektedir. Erken tanı alan, uygun eğitim programları ile desteklenen, aile destek sistemi iyi olan ve zihinsel yetersizliği olmayan OSB olgularının yaşla birlikte kazanımlarının artabileceği söylenmektedir. Ancak yaş ile birlikte artan toplumsal beklentiler nedeniyle OSB olguları hem sosyal etkileşim ve iletişim alanında hem de uyumsal becerileri bakımından yaşıtlarından geri veya tuhaf olabilirler.

Magiati ve arkadaşları (2014) tarafından yayımlanan bir derleme de OSB'li olgularda klinik gidişi belirleyen faktörleri şu şekilde sıralamıştır(55):

a) **Zeka düzeyi (IQ):** Çocukluk ve yetişkinlikte zeka düzeyinin uyumsal becerilerin kazanılması ve klinik belirti şiddetini hafifletilmesi için önemli bir prediktör olduğu bildirilmiştir. Zeka düzeyi, olumlu prognostik faktördür.
b) **Uyumsal (Adaptif) Beceriler:** Bu alandaki kazanımların OSB'li bireylerin günlük hayattaki işlevlerini iyileştirdiği, ergenlikte ve erişkinlikte bağımsız bir hayat yürütmesi için önemli olduğu düşünülmektedir.
c) **Dil ve İletişimsel Beceriler:** Erken yaşta dil becerilerinin kazanılması olumlu prognoz açısından önemlidir.
d) **Sosyal entegrasyon ve bağımsızlık:** Yapılan çalışmalar, OSB olgularının büyük çoğunluğunun ebeveynlerine bağımlı bir hayat

sürdüklerini, çok az bir kısmının bağımsız bir hayatı ve iş hayatı olduğunu göstermiştir.

e) **Çocukluk çağında olan ko-morbid durumlar:** Bu konu ile ilgili az bulunmaktadır. Çocukluk çağındaki eş tanıların, yetişkin dönemde daha fazla psikiyatrik sorunlara neden olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, tüm bu etmenler ile birlikte erken tanı ve yoğun eğitsel programların prognozu etkilediği düşünülmektedir(4, 55).

2.1.9. Etiyoloji

Otizm spektrum bozukluğu (OSB) etiyolojisi henüz tam olarak açıklanamayan, multifaktöriyel poligenik bir nörogelişimsel bozukluktur. 1960'lı yıllara kadar otizmin genetik geçiş gösteren bir bozukluk olduğu ve anormal ebeveyn tutumlarına karşı davranışsal tepki olarak ortaya çıktığı savı önem kazansa da; yapılan çalışmalar genetik faktörlerin yanı sıra birbirinden farklı ya da birbiriyle ilişkili kompleks mekanizmaların etkili olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise, nörolojik mekanizmalar ile sistemler arası etkileşimin ve karmaşık biyolojik işlevlerin etkileri üzerine odaklanılmıştır(24, 56).

2.1.9.1. Genetik Faktörler

OSB gelişiminde önemli bir faktör olan genetik yatkınlık ile ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Epigenetik etmenlerin, gen- çevre etkileşiminin etiyolojide önemli bir yer tuttuğu düşünülen otizm hakkında pek çok ikiz çalışması, aile çalışması, kromozomal anomali incelenmeleri ve moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır.

Rutter ve arkadaşları (2005) yaptıkları ikiz çalışmasında, tek yumurta ikizleri arasındaki konkordansı % 36-% 91; çift yumurta ikizleri arasındaki konkordansı ise % 5 olarak tespit etmişlerdir(24).

İngiltere'de yapılan başka bir ikiz çalışmasında ise monozigotlar arasında %60'dan fazla, dizigotlar arasında ise %5 konkordans tespit edilmiştir. Ayrıca

ikizlerden birinin ‘geniş otizm fenotipi’ olması durumunda konkordansın monozigotlarda %92’ ye, dizigotlar arasında ise % 10’a yükseldiği bildirilmiştir (57). Elde edilen tüm bulgular OSB’nin yüksek genetik kalıtımına yönelik savı güçlendirmekle birlikte; tek yumurta ikizleri arasında konkordans olsa bile semptomların şiddeti ve zekâ düzeyi (IQ) açısından heterojen bir klinik görünüm oluşturabileceğini vurgulamaktadır(4).

Aile çalışmaları, otizmdeki ailesel yatkınlığı özellikle sosyal ve iletişimsel alanda yetersizliği olan; ancak anlıksal yetiyitimi ve epilepsi tanısı olmayan ‘geniş fenotip otizm’ kavramını desteklemiştir(4). Otizmli ve Down Sendromlu çocukların birinci derece akrabalarıyla yapılan aile çalışmalarında, Rutter (2005) otizmli grubun ailelerinde %12-20, Down Sendromlu bireylerin ailelerinde ise %2-3 oranında ‘geniş fenotip’ tespit etmiştir (24). Szatmari (2000) ise otizmli bireylerin hem biyolojik hem de biyolojik olmayan akrabalarını araştırdığı çalışmasında, ailevi geçişin genetik yatkınlıkla ilişkili olduğunu; özellikle 2 veya daha fazla otizmli çocuğu olan çoğul etkilenmiş ailelerde ve IQ> 60 olan yüksek işlevli otizmli bireylerin ailelerinde geniş fenotip oranının daha yüksek olduğunu göstermiştir (58).

Yapılan kardeş çalışmalarında otizmli çocukların kardeşlerinde genel populasyona oranla otizm riskinin 22 kat daha fazla olduğu; ayrıca hastalıktan etkilenmese bile bu çocuklarda kişisel-sosyal ve dil-bilişsel alanlarda gelişimlerinde güçlüklere daha sık rastlanıldığı bildirilmiştir (59, 60).

Kromozom anomalilerini inceleyen çalışmalar, OSB’lilerde % 10-37 oranlarında kromozomal anomali göstermiş; bu kromozomal anomalilerin çoğunlukla delesyon olduğu tespit edilmiştir (54). Günümüzde otizmli çocukların sadece % 20-25’lik bölümünün genetik nedeni belirlenebilirken, geriye kalan çoğunluğun nedeni hâlâ tespit edilememektedir. Belirlenen genetik nedenler arasında sitogenetik kromozom anomalileri (%5), kopya sayısı değişiklikleri (%10-20) ve nörolojik bulguları olan tek gen hastalıkları (%5) yer almaktadır (24, 61, 62).

Son yıllarda otizm ile ilgili olarak aday gen çalışmalarını, kopya sayısı değişkenliğini (copy number variation, CNV) ve nadir görülen mutasyonları konu alan farklı çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler; post-

sinaptik yoğunluk, glutamaterjik sinaptogenez ve hücre adezyonunda rol oynayan genlerdeki nadir veya yaygın görülen varyansların otizme yatkınlığı arttırdığını göstermiştir(63).

Bazı genetik çalışmalarında ise, dismorfik özelliklere sahip olan otizmli çocukların etiyolojisinde genetik varyasyonların daha sık görüldüğü ve bu çocuklara bilişsel gelişme geriliği tanısının daha fazla eşlik ettiği savı ileri sürülmüştür(64, 65). Klei (2012), dismorfik özellik gösteren olgularda kromozomal anomalilere daha sık rastladığını; dismorfik özellik göstermeyen olgularda ise genellikle minor gen kopya sayısı varyantları (CNVs) ve nükleotidlerin de-novo varyantlarını tespit ettiğini bildirerek bu savı desteklemiştir (66).

Ayrıca otizmin genetik etiyolojisinde, tek bir genetik etkenden ziyade farklı küçük genler üzerinde meydana gelen nokta mutasyonlarının bir araya gelerek yatkınlığı artırdığı kümülatif modeller üzerinde de durulmaktadır. Tek bir gende saptanan mutasyonların farklı ailelerde farklı fenotiplere sebep olabileceği de bildirilmektedir (56). Bununla birlikte, davranışların biyolojik temelinde 'beyin' in önemli rol oynadığı, bu alandaki nöronal yapı ve işlevlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında genlerin otizmdeki rolünün, proteinlerin nöronlarda ve farklı hücre tiplerindeki biyolojik ve fonksiyonel etkileri gösterildiğinde açığa çıkacağı belirtilmektedir (67).

2.1.9.2. Ailesel Faktörler ve Nöropsikiyatrik Modeller

Genel popülasyon ile kıyaslandığında OSB'li çocukların ebeveynlerinin daha fazla obsesif özellikler gösteren, sosyal ilişki kurmakta zorluk çeken, kültürel ve sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan, donuk mizaçlı kişiler olduklarınını gösteren erken çalışmalar bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu çocukların anne-babalarında dilin pragmatik kullanımında zorluk ve iletişim becerilerinde zayıflık olabileceğine dikkat çekilmiştir(68). Ancak son yıllarda yapılan araştırmalarda, bu savın geçerliliğini zayıflatacak güçlü kanıtlar bulunmuştur. Bu araştırmalarda, ebeveynlerin psikososyal özellikleri, kişilik yapıları ve çocuk yetiştirme tarzları bakımından aralarında herhangi bir fark görülmediği saptanmıştır(68, 69).

Otizmin etiyopatogenezini açıklamak için ortaya atılan ve günümüzde geçerli sayılarak kabul gören bazı kuramlar da bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemlileri; Sosyal iletişim ve toplumsal etkileşim alanlarındaki kısıtlılığı konu alan Zihin Kuramı (ZK) (*Theory of mind- ToM*) (70-72), ayrıntılara önem vererek bütünü görmedeki yetersizliği açıklayan Zayıf Merkezi Bütünleşme (ZMB) (Theory of weak Central Coherence, CC) (73) ve aynılıkta ısrarcı olma, planlama zorluğu ve tekrarlayıcı davranışları ele alan Yürütücü İşlevler (Yİ) (Theory of Planning and Executive Functions- EF) (74) kuramları sayılabilir.

Bu teorilerin otizmi açıklamakta yetersiz ve eksik kalmaları nedeniyle Empatik-Sistematik-Dengeli Beyin teorisi (Empathic-Systemizing-Balanced ESB brain theory, ESD)(75), Sosyal Biliş (Social Cognition), Sosyal Motivasyon teorisi (Social Motivation Theory (SMT)) ve Nöroçeşitlilik (Neurodiversity)(76) gibi yeni teori ve kavramlar daortaya atılmıştır(4).

2.1.9.3. Nörobiyolojik Faktörler

Nörogelişimsel bir bozukluk olan otizm spektrum bozukluğunun etiyolojisi de klinik bulguları gibi heterojenite göstermektedir. OSB'nin etiyolojisine yönelik yapılan genetik araştırmaların farklı oranlar sunması, bu çocuklara anlıksal yetiyitimi (mental retardasyon) ve/veya epilepsi gibi diğer tıbbi durumların eşlik etmesi, EEG anomalilerinin otizmli bireylerde daha sık görülmesi ve son yıllarda yapılan nörogörüntüleme ve post-mortem çalışmalarda elde edilen verilerin organik anormallikleri destekler nitelikte olması OSB'nin daha çok biyolojik temelli bir bozukluk olduğu savını güçlendirmiştir (27, 77).

Otizm etiyopatogenezinde rol oynadığı düşünülen nörobiyolojik faktörler; nöroanatomik değişkilikler, nörofizyolojik ve nörokimyasal faktörler alt başlıkları altında özetlenmiştir:

2.1.9.3.1. Nöroanatomik Değişimler

Bu alanda yapılan çalışmaların nöroanatomik verileri henüz yetersiz olmasına rağmen, OSB'li çocukların beyin bölgelerinde makroanatomik ve mikroanatomik

(nöronal organizasyon ve bağlantılar) pek çok değişikliğe rastlanmıştır(4).Kemper ve Bauman (1998) post-mortem çalışmalarında beynin genel ağırlığındaki artıştan ilk kez bahsetmişlerdir (78). Nörogörüntüleme tekniklerinin gelişmesi ve bu alanda yapılan yeni araştırmalar ile birlikte OSB'li bireylerin beyinlerinde görülen yapısal değişikliklerin erken yaşlarda başladığı; 2-3 yaş arası dönemde özellikle frontal lob, temporal lob ve amigdala alanlarında anormal beyin büyümesi ve ayrıca serebellar vermisin bazı alt bölgelerinde hipoplazi olduğu bildirilmiştir (79).OSB'li çocukların sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığı ve izlendiği bir başka çalışmada, OSB'li bireylerin ortalama beyin hacimlerinin % 5 oranında daha büyük olduğu; 12 yaşından sonra bu farkın kaybolduğu ve beyin hacimlerinin normal sınırlar içinde kaldığı belirtilmiştir (80, 81).

Sosyal davranış ve emosyonel regülasyon ile ilgili olan amigdala; dikkat, inhibisyon ve yürütücü işlevlerden sorumlu olan frontal lob; konuşma becerisiyle ilgili olan temporal lob ve serebellum araştırmalarda en çok anomali tespit edilen bölgelerdir. 2015 yılında yapılan farklı çalışmalar da özellikle sol hemisfer korteksinde incelme, işitsel-görsel alan gri maddede artma ve korpus kallosum hacminde azalma bildirilmiştir (82, 83).

Makroanatomik değişikliklerin yanı sıra OSB'de görülen hücresel değişikliklerde önemlidir. İlk postmortem çalışmada, özellikle hipokampus, subikulum, septal nukleuslar ve bazı amigdala alt çekirdeklerinde küçük ve yoğunlaşmış nöronlar ile birlikte purkinje hücre yoğunluğunda azalma gösterilmiştir (78). Elde edilen bu bulgular, OSB etyopatogenizinde ön beyin ve serebellar patolojiye dikkat çekmiştir. Yapılan son nörogörüntüleme çalışmaları ise serebellumun genelinin ve özellikle de Crus I ve II bölgelerinin OSB kliniğiyle ilişkili olduğunu göstermiştir(83).

OSB de gözlemlenen farklı klinik bulgular ve davranışlar, bu bozukluğun etiyolojisinde hem niteliksel hem de niceliksel özellikler açısından yaygın bir nöronal etkilenmenin olabileceğini akla getirmiştir. Örneğin, Casanova (2006) neokortekste daralmış nöronal minikolumnların sayısında artış tespit etmiştir (84). Minikolumnların sayısal artışının, hücre yoğunluğunda artışa neden olduğu ve beyaz cevherdeki hacimsel artışın ise neokortikal nöral bağlantılardaki artış ile ilişkili

olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda en fazla bazal ganglia, limbik bölge ve serebellum bölgeleri araştırılmış; bazı kortikal devrelerde artmış, bazılarında özellikle de subkortikal bölgelerde ise azalmış nöral bağlantılar bulunmuştur (85, 86).

Postmortem örneklemde, 2-15 yaş arası OSB tanılı bireylerin büyük çoğunluğunda neokortekste temporal ve prefrontal alanda dezorganize kortikal yamalar ve dağınık nöronlar tespit edilmiştir. Bununla birlikte, nöronların organizasyonunda bozulma, özellikle prefrontal ve temporal kortekste yoğunlaşan patolojik yamalar ve anormal hücre iskelet yapılarına rastlanmıştır (87).

Erken yaşta başlayan nöral bir bağlantı bozukluğu olduğu söylenen OSB'nin etiyolojisine ilişkin diğer bir görüş ise kortikal yetersiz bağlanırlık (underconnectivity) kuramıdır. Bu kuram, OSBli bireylerde frontal lob ile oksipital lob arasındaki iletişimsel bandın genişliğinin azalmasına bağlı olarak fronto-oksipital senkronizasyonun bozulması şeklinde açıklanmaktadır. Frontal bölgeye erişimin zayıflığından dolayı beynin arka bölgelerine daha çok aktarılan iş yükü OSB'li bireylerde görsel-mekansal becerilerinin gelişmesine katkı sağlamıştır. Ayrıca bu kuram, otizmli bireylerde görülen karmaşık bilgi edinme süreçlerini, yürütücü işlevlerdeki yetersizlikleri ve zihin teorisini açıklanmasını da desteklemektedir (87, 88).

2.1.9.3.2. Nörofizyolojik Değişimler

Bilişsel ve davranışsal problemlerin eşik ettiği ve nöropatolojik bulguların etiyopatogenezini açıklamak için yetersiz kaldığı otizmin etiyolojisinde, yapılan araştırmalar son yıllarda fonksiyonel değişiklikler üzerine de odaklanmıştır (89). Bu değişiklikleri belirlemek için yapılan araştırmalarda uyarana verilen davranışsal yanıtın nöroanatomik bölgelerdeki karşılığını, yanıtla eş zamanlı inceleyen elektroensefalogram (EEG), olayla ilişkili (event related potentials, ERP) ve uyarılmış potansiyeller gibi ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır (90). Ancak bu değerlendirmeleri inceleyen çalışmalar birbirinden farklı sonuçlar ortaya çıkarmıştır.

OSB'li bireylerde yapılan EEG çalışmalarında % 6-74 arasında değişen ortalama % 40 oranında özgül olmayan EEG anomalileri tespit edilirken; bu olguların ortalama % 30'una (% 4-42) epilepsi tanısının eşlik ettiği görülmüştür. Sağlıklı gelişen çocuklara göre otizmli olgularda epilepsi görülme riskinin 3-22 kat daha fazla olduğu ve düşük zeka düzeyinin, perinatal komplikasyonların ve ko-morbid tıbbi durumların bu riski arttırdığı görülmüştür (4). OSB'nin regresif alt tipinde EEG'de paroksismal deşarjlar ve yavaş fokal aktiviteler tespit edilirken (52); bazı çalışmalarda OSB'li bireylerin istirahat EEG'lerinde azalmış alfa aktivitesi ve artmış teta ve delta aktiviteleri de saptanmıştır. Alanda yapılan değerlendirmeler neticesinde, EEG bulgularının otizmin bir beyin bağlantı bozukluğu olduğu savını desteklediği; hemisferik asimetri, azalmış alfa, beta ve gama bantlarıyla ilgili bulguların tutarlılık gösterdiğine rastlanmıştır(4, 62).

Tipik gelişen çocuklar ile OSB tanısı alanlar arasındaki bir diğer fark, sosyal uyaranlara karşı kortikal yanıt hızıyla ilişkilidir. Uyarılmış yanıt potansiyel ölçümlerinde pozitif yanıt olan P300, kişi kendi yüzüne bakarken artmış görülürken; OSB'lilerde bu artışa rastlanmamıştır. Negatif N200 yanıtı ise sağlıklı çocuklarda sağ hemisfere lateralize olurken; OSB'li olgularda lateralizasyon saptanmamıştır. Tüm bu veriler, OSB'li bireylerde çalışma belleği, dikkat yönetimi ve ilgisiz uyaranların inhibisyonu ve eylem başlatma gibi yürütücü işlev alanlarında sorunlar olduğunu desteklemiştir (4, 91).

Otizmin etiyolojisine yönelik yapılan nörofizyolojik araştırmalar, OSB'li bireylerde nöral ileti hızının azaldığını, beyin aktivasyon dalgalarında artma ya da azalma şeklinde farklılıklar görüldüğünü, sosyal kodları algılama ve yüz tanımada yetersizlikler olduğunu, topografik dağılımın değişkenlik gösterdiğini ve beyin bölgeleri arasında yetersiz bağlanırlık bulunduğunu göstermiştir (4). Ayrıca bu bulguların otizme özgü olmadıkları, endofenotip açısından da değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (91).

2.1.9.3.3. Nörokimyasal Değişiklikler

OSB'de farmakolojik tedavi arayışları, otizmin etiyolojisinde nörotransmitter, immünolojik, endokrinolojik ve metabolik faktörleri içine alan nörokimyasal birtakım değişiklikler olabileceği savını ortaya koymuştur(92).

2.1.9.3.3.1. Nörotransmitterle İlişkili Faktörler

Erken dönemde nöronal gelişimde büyüme faktörü olarak rol alan serotoninin sosyal davranışlar ve bilişler üzerindeki etkisi yapılan çalışmalarla ortaya çıkmıştır. Elde edilen bu bilgiler, sosyal ve iletişimsel alanda eksikliklerin esas tanı ölçütleri arasında yer aldığı otizm spektrum bozukluğunun etiyolojisinde serotonerjik sistem üzerine odaklanılmasına yol açmıştır (93). Bu alandaki araştırmalar, serotonin reseptör bağlanmasının normal gelişim gösteren bireylerde altı yaşında, yenidoğan ve ergenlik dönemine göre daha fazla olduğunu; ancak OSB tanılı bireylerde yaşa bağlı meydana gelen bu değişikliğin bozulduğunu ve serotonin düzeyinin yaşamın ilk yıllarında düşük; erişkin yaşlarda ise daha yüksek seviyeye ulaştığını tespit etmiştir. Yapılan bazı pozitron emisyon tomografi (PET) incelemelerinde otizmde frontal korteks, talamus ve serebellumda serotonin biyosentezinde azalma gösterilmiştir. Mekanizması tam olarak açıklanamasa da elde edilen bulgular OSB'li olguların trombositlerinde %25-50 oranında serotonin artışı olduğu görüşü ile de tutarlılık göstermektedir (4, 94, 95).

Otizmli hastalarda görülen hiperaktivite ve stereotipik davranışların dopamin antagonistleriyle yapılan tedaviye olumlu etkiler göstermesi, OSB etiyolojisinde dopamin nörotransmisyonunda bozukluklar olabileceğini gündeme getirmiştir. Otizm tanılı bireylerde beyinde dopaminerjik ativitede artış ve beyin omurililk sıvısında (BOS) dopaminin başlıca metaboliti olan homovanilik asit (HVA) düzeyinde yükseklik saptanmıştır (45, 96).

Bazı çalışmalarda ise OSB tanılı olgularda sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek kan noradrenalin düzeylerinde ve noradrenerjik sistemin artmış etkinliğini gösteren kan basıncı, nabız gibi klinik göstergelerde artış tespit edilmiş olsa da konuyla ilişkili yapılan diğer çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (54).

OSB etiyopatogenezinde endojen opiyatların fazla salgılanmasının da rolü olabileceği düşünülmüştür. Konuya ilişkin yapılan bazı çalışmalarda, otizmli çocuklarda sık görülen ağrılı uyaranlara karşı hiposensitivite ve kendine zarar verme davranışının plazma endorfin düzeyiyle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, bir opiyat antagonisti olan naltreksonın bu belirtiler üzerine faydalı olduğu bildirilmiş; ancak OSB etiyolojisinde belirgin etmen olduğuna dair kanıt bulunamamıştır (36, 97, 98).

Otizm etiyolojisinde glutamaterjik iyonotropik reseptörler en çok araştırılan reseptörlerden olmuştur. Bazı araştırmalar GABA ve glutamatın periferik plazma düzeyleriyle ilgili çelişkili veriler bildirse de, postmortem çalışmalarda hipokampüste glutamat ve GABA reseptörlerinin azaldığı gösterilmiştir(99, 100).

Genetik, çevresel, immünolojik ve nörolojik birçok etiyolojik faktörü birbirine bağlayan bir mekanizmaya sahip olduğu düşünülen oksidatif stresin otizmde arttığı ve nöronal hasara neden olduğu ve ayrıca koruyucu rol oynayan antioksidasyonun azaldığı ileri sürülmektedir (101, 102). Ghanizadeh (2013) yaptığı çalışmada transmetilasyon/transsülfirasyon yolağının otizm semptomlarında iyileşme ile ilişkili olduğunu ve N-asetil sistein gibi glutamaterjik modülatörlerin tedavide faydalı olabileceğini belirtmiştir(102).

2.1.9.3.3.2. Nöroendokrinolojik Faktörler

Sosyal ilişkileri düzenleme, ebeveynlik davranışı, bağlanma ve agresyonda önemli yeri olan oksitosin sistemi (oksitosin, vazopressin ve ilişkili reseptörler) ile ilgili hem tanıya hemde farmakoterapiye yönelik çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır (103).OSB'li olguların sağlıklı kontrollere göre daha düşük plazma oksitosin düzeylerine sahip oldukları ve tipik gelişen çocuklarda yaşla artış gösteren plazma oksitosin düzeylerinin otizmli çocuklarda aynı artışı göstermediği saptanmıştır (103). Klinik denemelerde, oksitosin yerine koyma tedavisi sonrası, OSB'li olguların sosyal ipuçlarını algılama ve fark etmede daha duyarlı hale geldikleri ve sosyal davranışlarda iyileşme gösterdiklerine dair veriler sunulmuştur(104). 6-12 yaş arası OSB'li bireyler ile yapılan güncel bir randomize kontrollü çalışmada, intranazal oksitosin kullanımının sosyal işlevsellik üzerine

etkileri ölçek puanlarıyla değerlendirilmiştir. Bu çalışmada sosyal işlevsellik puanlarında anlamlı artış gözlemlenmiş ve bu artışın en çok tedavi öncesi en düşük oksitosin seviyesine sahip olan olgularda olduğu tespit edilmiştir (105). Oksitosin ve arginin vazopressin gibi oksitosin benzeri peptidlerin kullanımıyla otizmli bireylerde görülen olumlu değişiklikler, oksitosinin terapötik etkilerine yönelik çalışmaların devamını desteklemiştir.

OSB'nin erkeklerde kızlardan daha sık görülmesi otizmin etiyolojisinde 'androjenik beyin' testosteron teorisini gündeme getirmiştir (106). Cohen ve ark.(2011) tarafından amniosentez içeriğinde fetal androjen düzeyleri ölçülerek yapılan çalışmada, fetal androjenlerin OSB tanılı olgularda daha yüksek düzeylerde olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun stres altında aşırı uyarılmış amigdala üzerine etki ederek; sosyal çekilme belirtilerine, davranışsal bozukluklara ve dikkatle ilişkili nörobilişsel problemlere yol açtığı öne sürülmüştür (92). Fetal androjenin, cinsiyetler arası yapısal beyin farklılıklarına neden olduğu ve prenatal strese verilen yanıtları etkileyerek kızların daha çok affektif bozukluklara erkeklerin ise OSB, DEHB gibi nörogelişimsel bozukluklara yatkınlığını arttırdığı düşünülmektedir (107).

Diurnal salınım paterni gösteren kortizolün, OSB'li bireylerde salınım şeklinin bozulduğu, tehlikeli olay ve sosyal tehdit durumlarında aktive olması beklenen Hipotalamo-Hipofiz-Adrenal aksın tehdit durumunda hipoaktive olup, herhangi bir uyaranın olmadığı durumlarda aşırı aktive olarak disregüle olduğu tespit edilmiştir (108, 109).

Otizmli olgularda kontrollere göre melatonin düzeylerinin daha düşük olduğu, bu durumun otizmin çekirdek belirtilerinden ziyade otizm tanısına sıklıkla eşlik eden uyku bozukluğunun nedeni olduğu düşünülmektedir (110). Son araştırmalar melatonin seviyesinden ziyade melatonin geni ve paternal melatonin seviyelerine yönelmiştir (111).

2.1.9.3.3.3. Nöroimmunolojik Bulgular

Otizmin etiyolojisinde immünolojik mekanizmaların çift yönlü etkileşim içinde olduğu bilinmektedir. Son yıllarda immünolojik sistem, sitokinler ve

otoantikorlar ile ilgili yapılan araştırmalar OSB'nin bazı alt tiplerine immün disregülasyonun neden olabileceği savını ileri sürmüştür. Bu bulgular farmakoterapi uygulamalarının gelişimi için önem taşımaktadır (112).

İmmunolojik aktivitenin birincil mediyatörleri olan sitokinler, nörotrasmitterlerin işlevlerini etkileyerek veya nöroendokrin, nörogenez ve beyin bağlantı yolaklarını değiştirerek davranışları etkiler. Sitokinlerin uygunsuz aktivasyonları veya düzensizlikleri nörotransmitterler tarafından ayarlanan eksitasyon/inhibisyon dengesini değiştirerek, OSB'li olgularda emosyonel ve sosyal sistemleri etkilemektedir (112, 113). Ayrıca toksin, enfeksiyöz ajanlar gibi çevresel etkenlerin immun sistemi uyarmasıyla meydana gelen nöroinflamasyonun uzun süre devam etmesi, serum ve BOS'da proinflamatuar sitokinlerde artışa ve hücresel immun fonksiyonlarda bozulmaya neden olarak otizmin patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (114). Postmortem OSB'li olgularda ve hayvan çalışmalarında bozulmuş mikroglial aktivasyon, otoantikorlar ve anormal immun sinyalizasyon saptanmıştır. Bu durumun aşırı sitokin üretimine ve hatalı sinaptik budanmaya neden olarak nörogelişimsel bozukluklara yol açtığı söylenmektedir (115).

OSB tanılı çocuklarda yapılan bir çalışmada anti-fetal beyin antikorları olguların %12'sinde tespit edilmiştir. Beyinde nörogenez mekanizmalarını etkileyen antigliozid antikorlar, antinöral antikorlar, antimyelin assosiye glikoprotein antikorları, antimyelin basic protein antikorları yüksek bulunurken; siyalik asid düşük oranda saptanmıştır (116, 117).

Maternal enfeksiyonlar ve çevresel ajanların, maternal immun sistemi uyararak Th17 hücrelerinde proliferasyona ve sitokinlerde artışa neden olup, fetal beyin gelişimi üzerinde olumsuz etki oluşturması söz konusudur. Bu görüş ile ilgili alan yazınlarında otizmli olguların %20'sinin annesinde antikor düzeyleri yüksek saptanmış; özellikle IFN-gama, IL-4 ve IL-5'in otizm etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmüştür(117, 118). Bununla birlikte, yapılan bazı postmortem çalışmalarda frontal korteks ve serebellumda MCP-1,TNF-alfa, IL-6,IL-8 ve IFN-gama gibi proinflamatuar sitokin düzeylerinde yükseklik tespit edilmiştir. Ayrıca artan IL-6 düzeyleri, granül hücrelerinde ve dentritik dallanmada azalma; eksitatör/inhibitör sinaptik yolaklarında dengesizlik ile ilişkilendirilmiştir (113, 119,

120). İnflamatuar yanıtın bir sonucu olarak artan proinflamatuar sitokinlerin, otizmde görülen uyku problemleri, sosyal içe çekilme ve ilgi kaybı gibi davranışsal belirtiler ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (121).

Otizmli çocuklarda T hücrelerinin sorumlu olduğu hücresel immunitede yetersizlik; özellikle total T hücresi, CD4 lenfosit sayılarında düşüklük bildirilmiştir (36). Ayrıca azalmış Th1/Th2 oranı ve artmış Th2 düzeyini destekleyecek şeklide azalmış IL-2 ve IFN-gama ve artmış IL-4 düzeyleri saptanmıştır (93, 122).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, ailesel otoimmun hastalıkların artmış OSB riskiyle birliktelik gösterdiğini, otoimmun hastalığa sahip annelerin çocuklarında otizmin daha sık gözlemlendiğini bildirmiştir (123). OSB tanılı olgularda sosyal yanıtların karşılaştırıldığı bir çalışmada, annesinde gebelikte astım ve/veya allerji yakınması olan olguların daha düşük işlevsellik gösterdiği saptanmıştır(112). Elde edilen tüm bu bulgular otizmde otoimmuniteye dair görüşü desteklemiştir.

2.1.9.4. Çevresel Faktörler

Otizmin etiyolojisine yönelik yapılan araştırmalarda genetik etmenler üzerine daha çok durulmasına rağmen; otizm kliniğinde gözlenen heterojenite, epidemiyolojik çalışmalarda saptanan görülme sıklığındaki hızlı artış ve monozigotik ikizlerde tam olmayan konkordans etiyolojisinde çevresel etmenlerin etkisi olabileceğini gündeme getirmiştir (95).

Genomik ve çevresel risk faktörlerinin farklı şekillerde birbirlerini etkileyerek, OSB şiddet ve riskini belirledikleri ve bu etkileşimde santral sinir sisteminin uğramış olduğu zararın önemli olduğu bildirilmiştir (124). Ayrıca, çevresel etkenlere duyarlı ve genetik yatkınlığı olan kişilerde stressör faktörlerin sinerjist etki ile, otizme yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir (92).

Yapılan çalışmalarda ‘de novo’ mutasyonlarına sık rastlanılması, OSB etyopatogenezinde çevresel faktörleri desteklese de; ikiz ve kardeş çalışmalarından elde edilen bulgular çevresel faktörlerin tek başına değil, epigenetik mekanizmalar ile etkili olduğunu ileri sürmüştür (4). DNA dizisindeki değişimler ile

açıklanamayan, mitoz ve/veya mayoz bölünme ile kalıtılabilen, gen ekspresyonundaki değişiklikler olarak tanımlanan epigenetiğin, nöronal gelişim, sinapslar, hücreler arası bağlantıların gelişim ve işlevlerinde önemli etkileri olduğu bildirilmektedir (125). Bununla birlikte, son çalışmalar otizmin nörotransmisyon devrelerinde, sinaptogenezde, metilasyonda bozukluk ve de novo kopya sayısı değişikliklerin artmasıyla meydana geldiğini, çevresel etmenlerin de epigenetik mekanizmalar ile hastalık etyopatogenezine katkı sağladığı düşünülmektedir (126).

Çevresel faktörleri inceleyen araştırmalar civa, kurşun, pestisidler, egsoz dumanı vb. "toksik ajanların, malnutrisyon, D vitamini eksikliği ve gebelikte maruz kalınan bazı sorunların nöronal gelişimi doğrudan etkileyebileceğini bildirmişlerdir (14). Gebelik ve doğuma ait problemler [ileri ebeveyn yaşı (>35), gebelikte kanama, travma, ilaç (valproik asit, talidomit) kullanımı, gestasyonel diyabet, viral enfeksiyon, düşük doğum ağırlığı, prematürite ve postmatürite] ile doğumdan sonra görülebilen hiperbilirubinemi, düşük apgar skoru, solunumsal distres sendromu gibi sorunların otizm belirtileri olan çocuklarda daha sık görüldüğü belirtilmiştir (127, 128). Elde edilen tüm bu veriler tutarlı olarak 'ileri ebeveyn yaşı' nın otizm için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Bunun tek başına bir sebep olmadığı, biyolojik sürecin bir tetikleyicisi olduğu düşünülmektedir (4). İleri yaşın etkisinde gamet hücrelerinde meydana gelen de novo mutasyonlar, ebeveynlerin sahip olduğu kalıtımsal özellikler, epigenetik değişiklikler ve yaşam boyu çevresel risklere maruziyetin toplamı sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca anne-baba arası yaş farkındaki fazlalığında önemli bir risk etmeni olabileceği son yayınlarda tartışılmaktadır (129, 130).

Son yıllarda üzerinde çalışılan konulardan biri de enfeksiyon ve inflamasyonlardır. Annenin gebeliğinde geçirdiği enfeksiyonlar sırasında oluşan maternal Ig G antikorları ve diğer immun yanıtların fetal beynin kan beyin bariyerini geçerek, nörogelişimsel süreçleri (nörogenez, proliferasyon, apoptozis, sinaptogenez, sinaptik budanma) etkilediği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda kongenital rubella, sitomegalovirus, influenza ve polyomavirus enfeksiyonları ile OSB riski arasında bir ilişki gösterilmiş; ancak bunun enfeksiyöz ajana mı özgü

yoksa eşlik eden yüksek ateş, maternal immun yanıta mı bağlı olduğu yeterince araştırılmamıştır (131, 132).

Nöroimmunolojik ve çevresel mekanizmaları kapsayan bu başlık ile ilgili olarak Mazine ve ark. (2016) prenatal enfeksiyon ve ateşin OSB sıklığına etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. 4-18 yaş arası 1971 çocuğun değerlendirildiği bu araştırmada, enfeksiyon öyküsü olan OSB tanılı çocukların sosyal iletişim becerilerinde bozulma ve stereotipik davranışlarında artış gözlemlenirken; kognitif ve adaptif davranışlarda anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu durumu kopya sayısı varyasyonu (CNV) ile maternal enfeksiyon arasındaki epigenetik mekanizmayla açıklamışlardır (133). Yapılan çalışmalarda maternal enfeksiyonların türü ve zamanlaması ile OSB arasında net bir ilişki gösterilememiş olsa da ırk, ileri anne yaşı, gestasyonel yaş, annenin sigara kullanımı gibi etmenler göz önüne alındığında dahi son trimesterdaki prenatal ateşin önemli bir risk etmeni olduğu bildirilmiştir (134).

Geçmiş yıllarda OSB etiyolojisinde sıkça tartışılan konulardan biri de aşıların otizme yol açtığı teorisiydi. Yapılan çalışmalarda, özellikle suçlanan kızamık-kabakulak-kızamıkçık(MMR) aşısıyla OSB arasında herhangi bir ilişki saptanmamış; hatta bir dönem aşılamanın durdurulmasıyla birlikte OSB vakalarında artış bildirilmiştir (4). Ayrıca, aşılarla OSB ilişkisini savunan yayınlar yanıltıcı olduğu için bilimsel literatürden çıkartılmıştır (135).

Nörogelişimsel hastalıklar ile barsak mikrobiyota ilişkisi son dönemlerde sıkça araştırılmaktadır. Barsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin toksin üretimi, fermentasyon sürecinde bozulmalar ve bunların neden olduğu nöroimmunolijik mekanizmaların OSB etiyolojisinde rolü olduğu savunulmaktadır(136).

Çalışmamızın hipotezinin dayandığı bağırsak mikrobiyota ve beyin-bağursak aksının daha detaylı inceleyelim.

2.2. Bağırsak Bakteri Florası (Bağırsak Mikrobiyotası)

İçerisinde milyonlarca tür ve yaklaşık 10^{14} kadar mikroorganizmayı barındıran bağırsak bakteri florası, 'İnsan Mikrobiyom Projesi' (Human Microbiome Project,HMP) ile birlikte mikrobiyota olarak tanımlanmıştır(137). Deri, cinsel organlar ve bağırsaklar gibi vücudun çeşitli bölgelerine kolonize olan bu mikrorganizmaların sayısının, insan vücudundaki hücrelerin sayısından yaklaşık on kat daha fazla olduğu bilinmektedir(138). Gastrointestinal sistem içerisinde fizyolojik ve kimyasal özellikler nedeniyle farklı dağılım gösteren bu mikrobiyal yapının kolonda sayısı ortalama 1.012'ye ulaşmakta ve bu sistem içerisinde *Firmicutes* ve *Bacteriodetes* bakteri aileleri baskın olarak görülmektedir(137). Ayrıca bu mikrobiyal çeşitlilik içerisinde bakteriler dışında ökaryotlar, virüsler, bakteriofajlar ve farklı mantar aileleri de bulunmaktadır(138).

Doğumdan çok kısa bir süre içerisinde gelişmeye başlayan bağırsak bakteri florasının (bağırsak mikrobiyotası), insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak etkilediği düşünülmektedir(139). Yapılan çalışmalar, bağırsak bakterilerinin patojenik organizmaların çoğalmasını engelleyen bir bariyer olarak görev aldığını, gıdaların sindirilmesine, toksik ve atık maddelerin yıkılmasına katkı sağladığını, lipid ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde, bağışıklık sisteminin aktivasyonunda ve gen ekspresyonunda önemli rol oynadığını göstermiştir(139-142). Bu işlevleriyle birlikte, bağırsak bakteri florası tarafından üretilen ve periferik dolaşıma salınan metabolitlerin de santral sinir sisteminin gelişmesine ve işlevine katkı sağladığı bildirilmiştir(140, 141).

Konakçı konumunda olan insan ile simbiyotik bir yaşam süren bağırsak bakteri florasının sayısı ve içeriği, kişinin yaşı, genetiği, beslenme alışkanlığı ve yaşadığı coğrafik bölge, doğum şekli, gebelik süresi, antibiyotik, pre-biyotik veya probiyotik kullanımı gibi birçok faktörden etkilenmektedir(143). Normalde denge halinde olan bu sistemin herhangi bir nedenden dolayı değişmesi veya bozulmasına disbiyozis denilir(144). İmmün disregülasyon ile yakından ilişkili olan bu durumun, ciddi metabolik ve inflamatuar patolojilere yol açarak birçok hastalığın oluşmasına zemin hazırladığı düşünülmektedir(7, 145).

Moleküler genetik alanında meydana gelen teknolojik gelişmeler, insan genomunun uzantısı olan mikrobiyotanın yapısının incelenmesine, insan sağlığını nasıl etkilediğinin anlaşılmasına olanak sağlamıştır. Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından desteklenen iki önemli proje olan İnsan Genom Projesi (İGP) ve İnsan Mikrobiyom Projesi (İMP) ile Avrupa'da yürütülen İnsan Bağırsağı Metagenomik Analizi (MetaHit) çalışmaları sağlık alanına farklı bir bakış açısı getirmiştir. Bu çalışmalarda metagenomik yöntemler ile bağırsak bakteri florasının tıbbi ve işlevsel öneminin araştırılması amaçlanmış, yeni teşhis ve tedavi yöntemleri için fırsatlar oluşturulmuştur(146).

2.2.1. Bağırsak Mikrobiyotası- Bağırsak-Beyin Aksı

Uzun yıllar birbirinden farklı alanlarda gelişim gösteren mikrobiyoloji ile nöroloji ve psikiyatri bilimleri, metagenomik çalışmaların ilerlemesi ve 16s ribozomal RNA sekans analiz yöntemlerinin gelişmesi ile birlikte araştırılmaya başlanmıştır.

Gelişen yöntemler ile içerdiği tür ve sayısı tespit edilebilen bağırsak mikrobiyotasının, sindirim, büyüme, bağışıklık sistemi, vücut enerji dengesi (homeostaz) gibi birçok fizyolojik olayda etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca obezite, tip 2 DM, astım, inflamatuar hastalıklar vb. çeşitli kronik hastalıkların etiyolojisinde rol aldığı da bildirilmiştir (147).

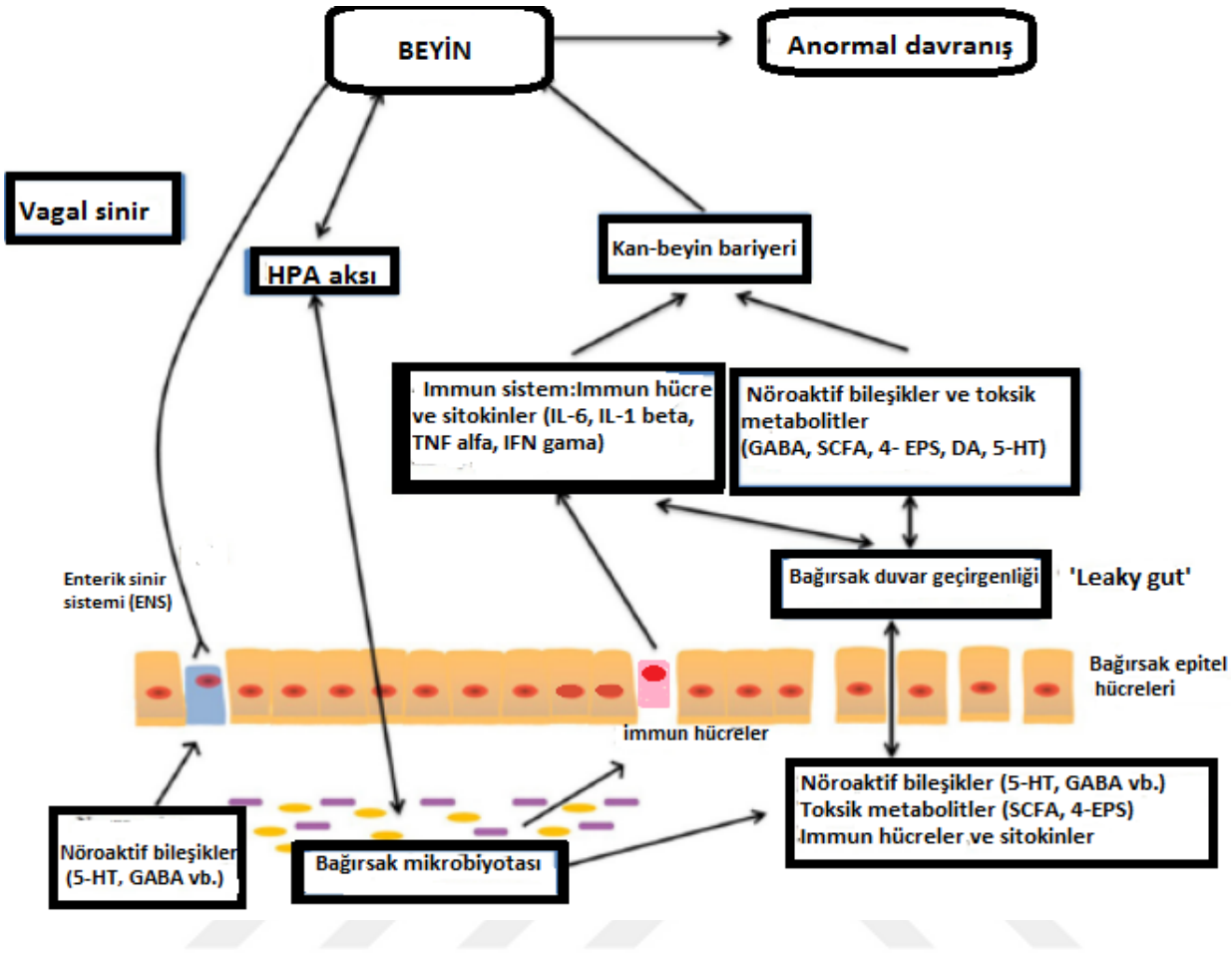
Heijtz ve Clarke, araştırmalarında bağırsak bakteri florası ile santral sinir sistemi, nöropsikiyatrik hastalıklar ve stres ile ilişkili bozukluklar arasındaki ilişkiyi detaylandırmayı amaçlamışlardır. Bu araştırmalardan elde edilen veriler, iki sistem arasındaki mekanizmayı tam olarak açıklayamasa da beyin ve bağırsakların çift yönlü etkileşim halinde olduğunu göstermiştir(148, 149). Bu etkileşimin nöroendokrin, otonom ve enterik sinir sistemi, immun sistem olmak üzere farklı yolaklar aracılığıyla gerçekleştiği ve bağırsak lümenine salınan bakteriyel metabolitlerin, nöroaktif bileşiklerin ve nörotransmitterlerin sinyal iletiminde anahtar rol oynadığı bildirilmiştir. Deney hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, bağırsak lümenine salınan bu maddelerin bağırsak duvar geçirgenliğini değiştirerek

sistemik dolaşıma geçtiğini ve santral sinir sistemine ulaşarak bilişi, davranışları ve beynin işleyişini etkileyebileceği savını ileri sürmüştür(148, 149).

Gastrointestinal sistem, yaklaşık 500 milyon sinir sonlanması ve bunların %20'sinin intrinsik primer afferent nöronların oluşturduğu enterik sinir sistemini içerisinde barındırır. Bu yapı, gastrointestinal sistemde meydana gelen değişikliklerin vagal sinir aracılığıyla beyne iletilmesini de sağlar(150). Aynı zamanda gastrointestinal sistem, yapısında bağışıklık sistemine ait çeşitli hücre gruplarını da barındırır. Bu hücreler, insan vücudunun enfeksiyon ve inflamasyon yanıtlarında önemli rol oynayan sitokinlerin salınmasını sağlarken; strese yanıt olarak salınan kortizol gibi nöroendokrin hormonlar da bağırsak geçirgenliğini, bariyer fonksiyonlarını ve bağışıklık sistemini etkilemektedir(151). Yapılan araştırmalar 'Bağırsak-Beyin aksı' olarak adlandırılan bu dinamik yolağın beyin, sekretuar bezler, bağırsak, immun hücreler, bakteri florası gibi birçok doku ve sistemi içerdiğini bildirmiştir(147).

Bugüne kadar çoğunlukla sindirim işlevleri ve tokluk hissinin oluşumundaki rollerinden dolayı araştırılan bağırsak disfonksiyonlarının son zamanlarda psikopatolojiyle de ilişkili olabileceğine dair şüpheler oluşmaya başlamıştır. Örneğin Meyer ve ark. tarafından yapılan çalışmada bağırsak-mikrobiyota aksının bozulmasının inflamasyon, kronik karın ağrısı, yeme bozuklukları, bulantı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (152).

İnsan sağlığı üzerinde azımsanmayacak önemi olan ve bağırsak-beyin aksında önemli rolü olan bağırsak mikrobiyotası ile bağırsaklar arasındaki ilişkinin detaylandırılması ve öğrenilmesi, gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemi bozukluklarına yönelik yaklaşımların belirlenmesine yardımcı olacağı ileri sürülmektedir.



Şekil 2. Bağırsak mikrobiyotası- Bağırsak- Beyin aksı(153)

Bağırsak mikrobiyata-Beyin-Bağırsak akısında etkili olduğu düşünülen yolakları ve mekanizmaları inceleyelim.

2.2.1.1. Ana İletişim Yolları ve Nörobiyolojik Mekanizmalar

Sherwin ve arkadaşları tarafından nöroloji, gastroenteroloji ve mikrobiyoloji alanlarında yapılan farklı yayınlardan yararlanarak hazırlanan bir derlemede, bağırsak mikrobiyotasının çeşitli metabolik yolaklar ile gastrointestinal sistem ve nörolojik sisteme ait hastalıkların etiyolojisinde rol oynayabileceği belirtilmiştir(154). Bağırsak mikrobiyotası ile beyin arasında belirtilen bu aksın, santral sinir sistemi ile gastrointestinal sistem dahil olmak üzere tüm sistemler üzerinde etkili olduğu ve bu aks boyunca meydana gelen karşılıklı sinyal ve bilgi

alışverişinin beynin kimyasal yapısını ve davranışlarını etkileyebileceği belirtilmektedir(147).

Otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik dallarını içeren vagal sinir; nöroimmun sistemi ve nöroendokrin yolakların aktivasyonuna neden olan bakteri hücre duvarı; bağırsak bakteri metabolitleri olan triptofan ve kısa zincirli yağ asitleri; nörotransmitterler ve nöropeptidler bu aksının önemli iletişim araçlarıdır(8).

Yukarıda bahsettiğimiz önemli iletişim mekanizmalarını kısaca tanıyalım.

2.2.1.1.1. Vagal Sinir (*N.vagus*)

Motor, duyu ve otonom sinir sistemleri ile ilgili afferent ve efferent sinir liflerini taşıyan vagal sinir, 10. Kranial sinirdir(155). Solunum, dolaşım ve sindirim fonksiyonlarıyla ilgili önemli görevler üstlenen vagal sinir, bağırsak ile beyin arasında direkt bir bağlantı oluşturmaktadır(156).

Yapılan çalışmalar, vagal sinir içerisinde bulunan primer afferent yolakların, bağırsak bakterileri ile beyin arasındaki etkileşime aracılık ettiğini desteklemiştir(157, 158). Goehler ve Lyte yaptıkları araştırmalarda, patojenik *Citrobacter rodentium* ve *Campylobacter jejuni* ile enfekte edilmiş hayvanların vagal sensoriyel gangliyonlarında ve bazı beyin bölgelerinde bulunan visseral sensoriyel nükleuslarında, enfekte olmayan hayvan modellerine göre c-FOS (c-FBJ osteosarcoma oncogene) seviyelerinde artış olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca paraventriküler nükleus, amigdalanın bazolateral nükleusu, stria terminalis, medial prefrontal ve anterior singulat korteks alanlarını kapsayan bu değişikliğin, gastrointestinal sistemde meydana gelen bakteriyel değişiklik ile anksiyete belirtileri arasındaki ilişkiyi açıklayabileceğini öne sürmüşlerdir(157, 158).

Vagal sinirin bağışıklık sistemi üzerine etkisini araştırmak için *Salmonella typhimurium* ile enfekte edilen sıçan modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada, vagotomi sonrası nöronlardaki c-FOS ekspresyonun ve immun sistem hücrelerinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, bağırsak bakteri florasında meydana gelen

değişikliklerin ve bağırsakta oluşan immun yanıtın santral sinir sistemine iletiminde vagal sinirin önemli rol oynadığını doğrulamıştır(159).

Vagal sinirin Beyin-Bağırsak aksı üzerindeki rolü ve etkisinin tam olarak belirlenmesi, davranış bozuklukları için farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

2.2.1.1.2. Hücre Duvar Komponentleri Ve İmmun Yanıtlar

Bağırsak mikrobiyotası, hem humoral hem de hücresel bağışıklık sistemini aktive eden peptidoglikan hücre duvar yapısına sahiptir. Mikrobiyota da yer alan gram negatif bakterilere ait hücre duvarı peptidoglikan monomerlerini, lipopolisakkaridleri (LPS), porinleri ve mannozdan zengin şeker zincirlerini içerirken; gram pozitif bakterilere ait olan hücre duvarı peptidoglikan monomerlerini ve lipoteikoik asitleri içerir(160). Hücre duvar yapısında bulunan bu komponentler, bağırsak epitel hücrelerini uyarıp, nöral sinyal yolaklarıyla ilişkili moleküllerin üretimini tetikleyebilir(147).

Humoral immun yanıt, patojen-ilişkili moleküler paternler (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) olarak bilinen pro-inflamatuar mikrobiyal bileşenlerin bağırsak epitel hücre yüzeylerinde bulunan Tool-like reseptör (TLR) ve NOD-like reseptör gibi patern tanıma reseptörlerine (pattern recognition receptors, PRP)bağlanmasıyla aktive olur. Bu aktivasyon inflamatuar sitokinlerin salınımını tetikler. Salınan sitokinler, kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin izin verdiği yerlerde doğrudan etki ile izin vermediği durumlarda ise, vagal sinir aracılığıyla dolaylı olarak beyne etki eder(154, 161). Ayrıca bu mikrobiyal bileşenler lenfosit, makrofaj gibi immun hücrelere antijen sunumu yaparak, immun sistemin gelişimini de destekler(161).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit(LPS) yapısı Ig A ile birlikte intestinal alkalen fosfotaz üretimini arttırırken; peptidoglikan tabakası ise NLR (NOD-like reseptör) aracılığıyla lenf foliküllerinin olgunlaşmasını sağlar(162, 163). Olgunlaşan lenf folikülleri TLR (Toll-like reseptör) aracılığıyla

bağırsak bakteri florasını tanır ve B lenfositlerinin kümelenmesine yardımcı olur(163).

Bağırsak mikrobiyotası ile immun sistem arasındaki ilişkinin daha net açıklanması için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak bağırsak mikrobiyotasının bilinen immun-modülatör etkileri, beyin fonksiyonlarını ve davranışlarını etkileyen olası mekanizmaların aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır.

2.2.1.1.3. Bağırsak Bakteri Florasına ait Metabolitler

Mikrobiyal fermentasyon ile üretilen metabolitler ve besinsel komponentler, beynin işlevlerinde ve immun yanıtın oluşumunda önemli etkilere sahiptir.

Bağırsak mikrobiyotasının en önemli işlevlerinden biri de sindirilmeyen besinlerin fermentasyon yolu ile sindirilmesi ve bağırsak epitel hücreleri için önemli bir enerji kaynağı olan kısa zincirli yağ asitlerini (SCFA) üretmesidir(164). Asetat, propiyonat, bütirat ve laktat gibi ürünleri içeren kısa zincirli yağ asitleri, vücut için enerji kaynağı olmanın yanı sıra toksik maddelerin birikimini önleyerek de immun sistemi desteklemektedir(165). Ayrıca bağırsak mikrobiyotası esansiyel bir aminoasit olan triptofanın metabolizmasının düzenlenmesine de yardımcı olmaktadır(147).

Triptofan ve kısa zincirli yağ asitlerinin insan vücudu üzerindeki rolleri ve etkileri göz önüne alındığında, beyin-bağırsak-mikrobiyota aksı içerisinde önemli mediatörler olduğu ve yeni tedavi yöntemleri ve klinik müdahaleler için etkili hedefler olabileceği düşünülmektedir.

2.2.1.1.3.1. Yağ Asitleri

Yağ asitlerinin hücreler için enerji kaynağı olma, membran yapısında bulunma, hücresel işlevlerde rol alma, gen ekspresyonu ve sinyal yolaklarının düzenlenmesi ve kimyasal haberci olan eikozanoidler gibi diğer lipit yapılı aracı maddelerin sentezinde rol alma gibi pek çok görevi bulunmaktadır(166). Beyin, yağ asitleri ve yağ asidi türevleri olan eikozanoid, lesitin, gliserofosfolipid, sfingolipid ve prostoglandinlerden zengin bir organdır(167).

Yağ asitleri, nükleer reseptör ailesinin bir üyesi olan hücresel differansiasyonda, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında görev alan peroksizom proliferatör aktive reseptöre (PPARs) bağlanarak, hücre içerisinde gen transkripsiyonunu düzenler(168). Ayrıca, yağ asitleri T lenfositleri, B lenfositleri, makrofajlar gibi spesifik immun hücrelere bağlanarak inflamasyonu tetiklerken; mikrobiyal fermantasyon ile üretilen bazı kısa zincirli yağ asitleri anti-inflamatuar etkiye sahiptir(169). Anti-inflamatuar özelliğinin yanı sıra anti-proliferatif etkiside bulunan asetat, bütirat, izobütirat, hekzonat ve propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerinin büyük bir kısmı bağırsak bakteri florasında bulunan *Eubacterium, Roseburia, Faecalibacterium, Bifidobacterium, Lactobacillus* ve *Enterobacter* türleri tarafından üretilir(143).

Yağ asitleri ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki etkileşimi araştıran çalışmalarda, yağ asitlerinin bağırsak permeabilitesini etkilediği, lipoprotein profilini değiştirdiği, immun sistem fonksiyonlarını arttırdığı ve kolon pH'ını asitleştirdiği gösterilmiştir. Bu değişiklikler, bağırsaktan salınan sitokin ve nöroaktif metabolitlerin sistemik dolaşıma katılıp, kan-beyin bariyerini geçerek beyin fonksiyonlarını ve insan davranışlarını etkileyebileceği görüşünü ileri sürülmüştür(170).

Enteroendokrin sinyal yolağında da görev alan kısa zincirli yağ asitleri ise GPR43,GPR41 reseptörlerine bağlanarak peptid YY, glukagon-like peptid (GLP-1) gibi nöropeptidleirn salınımını başlatır. Salınan nöropeptidler, enterik sinir sistemi ve primer afferent vagal sinir ile vücut enerji dengesinin (homeostaz) düzenlenmesine yardımcı olur(171).

Son olarak, bağırsak lümeninden iyonların emilimi, hücresel proliferasyon, oksidatif stres, insülin sensitivitesi, kolesterol sentezi, immun regülasyon, nörogenezis gibi pek çok etki mekanizmasında önemli rolleri olan bütirat ile nörotransmitter sentez ve salınımında, serbest oksijen radikallerinin üretiminde ve mitokondriyal enerji döngülerinde görev alan propiyonatın nöroaktif özelliklerinin olduğu bildirilmiştir(172-174).

Mikrobiyal kısa zincirli yağ asitlerinin ve bunlardan üretilen maddelerin tüm bu etki mekanizmaları, bağırsak mikrobiyotasının insan davranışı üzerindeki olası etkilerini açıklamak için alternatif bir yol sunmaktadır.

2.2.1.1.3.2. Triptofan

İnsan vücudunda üretilmeyen, besinler yoluyla vücuda alınan triptofan, serotonin, melotonin, niasin gibi maddelerin öncüsüdür(175).

Depresyon, anksiyete, obsessif kompulsif bozukluk gibi pek çok psikiyatrik hastalıkların etiyolojisinde etkili olduğu bilinen serotoninin, büyük bir kısmı gastrointestinal sistemde bulunur ve buradaki enterokromoffin hücreler tarafından sentezlenir(176). Serotonin sentezi, triptofanın ortamdaki yoğunluğuna ve hız kısıtlayıcı enzim olan triptofan hidroksilazın aktivasyonuna bağlıdır(177).

Plazmadaki düşük triptofan düzeyleri, immun sistem işlevlerini etkilemektedir. Bu karşılıklı etkileşim santral sinir sistemi fonksiyonlarında ve duygudurum bozukluklarının gelişiminde rol oynayabilir(177, 178). Probiyotiklerin anti-depresan özelliklerinin detaylandırılması için yapılan araştırmalarda, *Bifidobacterium infantis(B.infantis)* içeren probiyotikler ile beslenen ratlarda pro-inflamatuar sitokinlerin seviyelerinde azalma, plazma triptofan seviyesinde artma ve bu ratların depresif davranışlarında azalma olduğu gözlemlenmiştir(179). Ayrıca probiyotik tedavisinin frontal korteks ve amigdala da serotonin ve dopamin yıkımında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir(178).

Triptofan, insan vücudunda doku proteinlerine katılma, oksidasyon (kinürenin) ve hidroksilasyon (serotonin yolağı) olmak üzere üç farklı metabolik yoldan birini izler. Triptofanın %3-10 kadarı serotonin, melotonin gibi kimyasal habercileri oluşturan hidroksilasyon yolağına katılırken; %90 ya da daha fazlası yapısındaki indol halkasını kırarak kinürenin, nikotinik asit, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) oluşturan oksidasyon yolağına katılır(180). Triptofan metabolizmasında baskın olan ‘Kinürenin şantı’ olarak da adlandırılan bu yolakta görev alan enzimlerin bir kısmı bağırsak mikrobiyotasında yer alan aerob bakteriler

tarafından üretilmektedir(181). Bu yolağın disregülasyonu, santral sinir sistemi ve gastrointestinal sistemde pek çok bozukluk ile ilişkilendirilmiştir(180).

Kinürenin yolağından elde edilen metabolitler hücreler üzerinde farklı etkilere sahiptir. Bu metabolitlerden biri sitoprotektif etkili olduğu varsayılan kinüreik asit iken; diğerleri sitotoksik veya pro-epileptik özelliklere sahip olan kinolinik asit,3- hidroksikinürenin ve 3-hidroksiantranilik asittir(180). Agudelo ve arkadaşları, stres ile tetiklenen depresyon olgularında plazma kinürenin, nöroprotektif etkili olan kinüreik asite dönüşümünün azaldığını bildirmişlerdir(182). Desbonnet ve arkadaşları ise, probiyotiklerin yararlarını araştırdıkları çalışmalarında, B.infantis ile beslenen ratlarda triptofan ve kinüreinik asit seviyelerinde artış olduğunu gözlemlemiştir(179). Bununla birlikte, probiyotik tedavisinin triptofan metabolizmasını etkilediğini ve stres ile tetiklenen durumlarda periferal kinüreninin kinüreik aside dönüşümünü arttırma yolu ile teröpatik etki gösterdiğini de bildirmişlerdir(179).

2.2.1.1.4. Nörotransmitterler ve Nöropeptidler

Nörotransmitterler, nöronlar arası sinyal iletiminden sorumlu olan kimyasal habercilerdir(183). Nörotransmitterlerden farklı yapı ve özelliklere sahip olan nöropeptidler ise beyinde farklı reseptörler ile etkileşerek nöronlar arası iletişimi sağlar. Protein yapıda olan bu maddeler spesifik davranış örüntülerinden sorumludur(184).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasında bulunan Lactobacillus, Bifidobacterium, Escherichia, Enterococcs ve Truchuris gibi bakteri türlerinin gama-aminobütirik asit (GABA) ve serotonin gibi nörotransmitterler ile beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) gibi bazı nöropeptidleri ürettiğini göstermiştir(151, 185, 186). Bu maddelerin nöronal sinyal iletimi ile ilişkili olup, beyin fonksiyonlarının ve davranışların düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

2.2.1.1.4.1. Gama Aminobütirik Asit (GABA)

Gama aminobütirik asit (GABA), maturasyonunu tamamlamış bir beyinde inhibitör etkili bir nörotransmitter iken; gelişen beyinde eksitatör etkili bir nörotransmitterdir(187, 188). Eksitatör bir aminoasit olan glutamattan sentezlenen GABA, hücresel gelişim, homeostaz ve otofaji gibi önemli vücut fonksiyonlarında ikinci mesajcı olarak görev yapmaktadır(189).

GABAnın santral sinir sistemindeki eksitatör ve inhibitör nörotranmsitterler ile arasındaki dengesizliğin anlıksal yetiyitimi, otizm, epilepsi, anksiyete, depresyon vb. çeşitli nöropsikiyatrik hastalıkların etyopatogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir(188).

Barett ve ark. yaptıkları araştırmada, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi bazı bakteri türlerinin kültür ortamında glutamattan GABA sentezlediğini fark etmişlerdir(186). Bravo ve ark. ise *L. rhamnosus* bakterisinin beynin bazı bölgelerinde santral GABA reseptörlerinin üretimini düzenlediğini deney hayvan modellerinde göstermiş ve bu bakteri türünün depresyon ve anksiyete tedavisinde yararlı olabileceği savını ileri sürmüştür(190). Ayrıca bu çalışmada, *L. Rhamnosus* tarafından tetiklenen davranışsal ve moleküler değişikliklerin düzenlenmesinde vagal sinirin gerekli olduğu görülmüştür(190). Bu durum bakteri, bağırsak ve beyin aksı arasındaki etkileşimin bir örneği olarak düşünülebilir.

2.2.1.1.4.2. Serotonin

Günümüze kadar en çok araştırılan ve hakkında en fazla bilgi edinilen nörotransmitter olan serotonin, başta santral sinir sistemi olmak üzere, gastrointestinal sisteme ait enterokromoffin hücrelerde ve diğer nöroektodermal hücrelerde triptofandan sentezlenir(176).

Monoamin yapıda bir nörotransmitter olan serotonin, santral sinir sisteminde duygudurum, uyku, ağrı, agresyon, seksüel davranışlar, hafıza ve öğrenme işlevleri gibi birçok fizyolojik sürecin düzenlenmesinde etkilidir(191). Gastrointestinal sistemde bulunan serotonin ise diğer bağırsak hormonları ile birlikte kan akımının,

motilitenin ve salgı fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu iken sistemik dolaşımda yer alan serotonin ise koagülasyonun aktivasyonunda görev alır(176).

Vücutta önemli işlevlere sahip olan serotoninin, üretiminde ve reseptör sayısında azalma meydana gelmesi, reseptör etkileşiminin zayıflaması gibi problemler fonksiyonunu etkileyerek anksiyete, depresyon, şizofreni gibi çeşitli psikiyatrik bozukluklara ve migren, bulantı hissi, hipertansiyon, inme, vasküler bozukluklar gibi kronik hastalıklara yol açmaktadır(191, 192).

Çoğunluğu gastrointestinal sistemde, enterokromaffin hücreler tarafından sentezlenen serotoninin, bağırsak mikrobiyotasında yer alan *Escherichia* ve *Enterococcus* gibi bakteriler tarafından da sentezlendiği ve bağırsak mikrobiyota metabolitlerinin (kısa zincirli yağ asitleri) bu sentezi tetiklediği yapılan araştırmalarda gösterilmiştir(151, 193). Bu etkileşim, bağırsak mikrobiyotasının santral sinir sistemi fonksiyonları ve davranışları üzerindeki etkisinin bir göstergesi olabilir. Clarke ve arkadaşları tarafından germ-free(GF) fare modellerinde yapılan çalışmada, GF farelerde hipokampal bölgede serotonin ve metaboliti olan 5- hidroksi indolasetik asidin (5-HIAA) arttığı gözlemlenmiştir(148).

2.2.1.1.4.3. Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF)

BDNF, santral sinir sisteminde üretilen nöroprotektif etkili bir peptidtir(147). Kan-beyin bariyerini geçebilen bu yapı, çocukluk döneminde nöronların gelişmesinden ve farklılaşmasından sorumlu iken; erişkin dönemde nöronların sağlıklı bir yaşam sürmesinde rol alır(194). Bununla birlikte, öğrenme, hafıza, yeni beceriler kazanma gibi yeni sinaptik bağlantı oluşumu gerektiren olaylarda ve duygudurumun düzenlenmesinde de önemli görevlere sahip olduğu bilinmektedir(195).

Son yapılan çalışmalarda Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda ve depresyon gibi bazı psikiyatrik hastalıklarda plazma BDNF seviyeleri düşük olarak saptanmış ve BDNF sentezleyen m-RNA ve protein seviyelerinin bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür(147, 194).

BDNF ve bağırsak mikrobiyatası arasındaki ilişkinin detaylandırılması için yapılan hayvan örnekli çalışmalarda, spesifik patojen içermeyen farelerde hipokampal BDNF seviyesinde artış saptanmıştır(196). *Truchuris muris* ile enfekte edildikten sonra farelerde hipokampal BDNF m-RNA düzeyinde azalma olduğu; *B.longum* ile enfekte edildikten sonra ise BDNF seviyelerinin normal değerlere yükseldiği görülmüştür(185). Esworthy ise yaptığı araştırmada spesifik patojen içermeyen erkek farelerde artan BDNF seviyesi ile birlikte davranış değişiklikleri gözlemlemiştir(197). Bu konuyla ilgili olarak germ-free fareler kullanarak yapılan farklı çalışmalarda BDNF'nin anksiyete benzeri davranışlarla ilişkili olduğu görüşü desteklenmiştir. Germ-free farelerde azalan anksiyete davranışına paralel olarak BDNF seviyesindede azalma olduğu tespit edilmiştir(148, 149, 198). Ayrıca, Swiss webster tipi dişi fareler ile yapılan iki farklı çalışmadan birinde BDNF seviyesinde azalma; diğerinde ise artma saptanmıştır(199, 200). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlardaki farklılığın cinsiyet, hormonal ve deneysel faktörlerden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir(147).

BDNF'nin nöroplastisite ve nöropsikiyatrik bozukluklardaki rolü göz önüne alındığında, BDNF ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkinin detaylandırılmasına ve bu etkileşimi etkileyen koşulların belirlenmesine ihtiyaç vardır.

2.2.2. Bağırsak Mikrobiyotasının Hastalık Oluşumu ile İlişkisi

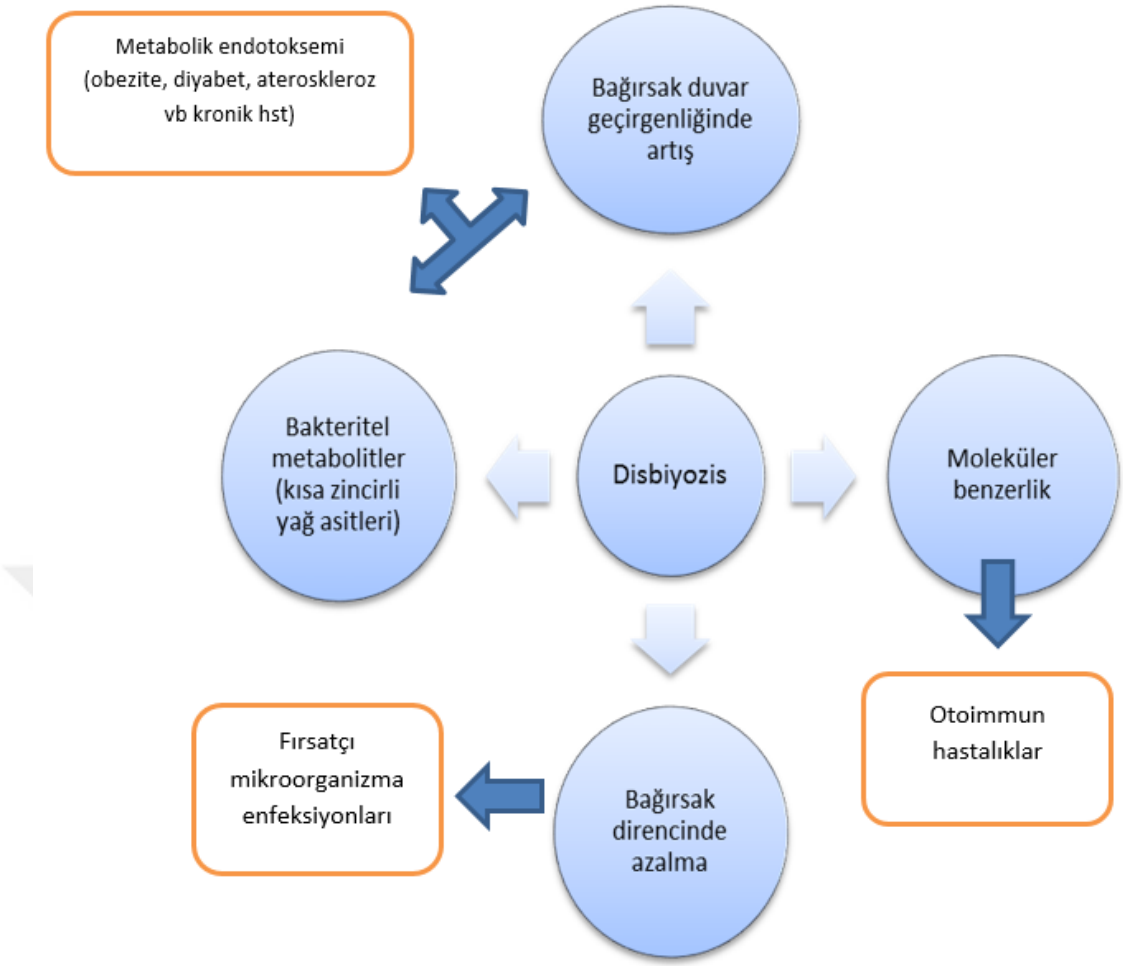
Bağırsak mikrobiyotasının obezite ve diabet gibi metabolik hastalıkların, otoimmun hastalıkların yanısıra Parkinson, Alzheimer, Demans türü nörodejeneratif hastalıkların; otizm spektrum bozukluğu, depresyon, anksiyete bozukluğu vb. psikiyatrik hastalıkların etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmekte ve bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının özellikle yaş ve beslenme olmak üzere çok farklı etkenlerden etkilendiği ve değişikliğe uğradığı bilinmektedir(201, 202). Mikrobiyotanın sayı, yapı ve içeriğinde meydana gelen bu değişiklikler, dengenin bozulmasına ve 'sağlıksız mikrobiyota'nın diğer

adıyla ‘disbiyozis’in oluşmasına neden olmaktadır. Bu durumun, kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde değişme, bağırsak geçirgenliğinde artma ve kolon rezistansında azalma gibi lokal ve sistemik etkilenmeler ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir(9).

Bağırsak geçirgenliğinde artma sonucu, bakteriyel ürünlerin sistemik ve lokal dolaşıma geçtikleri ve bunun sonucunda düşük düzeyde bir endotoksemi oluşturarak ya da kısa zincirli yağ asidi üretiminde meydana gelen değişimin lipid ve glukoz metabolizmasını etkileyerek veya inflamasyon oluşumuna neden olarak obezite, metabolik sendrom, ateroskleroz, diyabet gibi metabolik hastalıklara yol açtığı ileri sürülmektedir(10). Bağırsak mikrobiyotasına ait ürünler ile hücresel yapılar arasında moleküler benzerlik görülebilmektedir. Disbiyozisin bu bakteriyel yapılara karşı bazı otoantikorların üretilmesine ve benzerlik nedeniyle sağlıklı hücrelerin olumsuz olarak etkilenmesiyle, otoimmun hastalıkların oluşmasına neden olabileceği bildirilmektedir(11). Bununla birlikte, kolon direncinde (rezistans) azalmanın fırsatçı patojenler veya patojenik bakteriler ile oluşan enfeksiyonlara da zemin hazırladığı söylenmektedir(9, 11).

Sağlıklı mikrobiyota tarafından üretilen kimyasal maddelerin bağırsak yüzeyinde veya farklı hücrelerde bulunan reseptörlere bağlanarak oluşturduğu olumlu nörokimyasal ve fizyolojik etkiler, disbiyozis ile olumsuz yönde etkilendiği düşünülmektedir(136, 186). Anormal bağırsak florasının sülfür metabolizmasının işleyişinde aksaklıklara, oksidatif streste artışa, mitokondriyal disfonksiyona ve nöroinflamasyona neden olduğu düşünülmektedir(203). Bu değişikliklerin merkezi sinir sistemi başta olmak üzere diğer sistemlerin yapı ve işleyişini etkileyebileceği belirtilmektedir(203).



Şekil 3. Bağırsak mikrobiyota değişiminin lokal ve sistemik etkileri

2.2.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Psikiyatrik Hastalıklar

Bağırsak mikrobiyotasının, gastrointestinal sistem içerisindeki fizyolojik etkisinin belirlenmesinin ardından yapılan çeşitli araştırmalardan elde edilen veriler, bağırsak florasında meydana gelen nicel ve nitel değişikliklerin sadece gastrointestinal sistem hastalıklarında değil, gastrointestinal sistem dışındaki pek çok hastalığın etiyolojisinde de etkili rolü olabileceğini düşündürmektedir. Otizm, demans, depresyon, anksiyete bozukluğu, şizofreni gibi etiyolojisi tam olarak açıklanamayan nöropsikiyatrik hastalıkların etiyolojisine yönelik çalışmalarda mikrobiyota-bağırsak-beyin aksına odaklanılmıştır.

Yapılan çalışmaların bir kısmı bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin otizm ve duygudurum bozukluklarının etiyolojisinde yer aldığı

görüşünü desteklese de, bir kısmı bu görüşü desteklememiş ve konu ile ilgili aralarında klinik çalışmalarında yer aldığı detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamıştır. Mikrobiyotanın psikiyatrik bozuklukların tedavisinde terapötik amaçlı kullanımı hakkındaki bilgiler ise sadece deneysel ortamda elde edilmiş olup, metaanaliz sonuçlarına etki eder niteliğe ulaşmamıştır.

2.2.3.1. Bağırsak Mikrobiyotası ve Duygudurum Bozuklukları İlişkisi

Anksiyete, birçok psikiyatrik hastalıkta görülen bir bulgu olmasının yanı sıra kişinin tehdit edici veya korku verici bir duruma karşı vermiş olduğu fizyolojik tepkidir(204). Depresyon ise depresif ruh hali ve/veya ilgi/istek kaybı semptomlarından birinin mutlaka bulunması ile birlikte; tekrarlayan ölüm veya intihar düşünceleri, uyku-iştah değişikliği, psikomotor retardasyon veya ajitasyon, düşük enerji, değersizlik veya suçluluk düşünceleri, konsantrasyon kaybı semptomlarından en az beşinin ardaşık iki hafta boyunca bulunması ile karakterize olan duygudurum bozukluğudur(1). Genel popülasyonda yaygın olarak görülen bu bozukluk, kişinin yaşam kalitesini olumsuz etkilemesi ve ciddi işlev kaybına yol açması nedeniyle önemli bir halk sağlığı yüküdür(205).

Kesin nedeni tam olarak bilinmeyen bu hastalıkların etyopatogenezinde, beyinde hastalığa neden olan kimyasal dengesizliklerden inflamasyon ve strese kadar daha pek çok nörobiyolojik mekanizmanın etkili olduğu düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili araştırmalarda serotonin, nöradrenalin, dopamin gibi ana nörotransmitterlerin plazma düzeylerinde azalma, hormonal ve/veya nörendokrin yolakta meydan gelen değişklikler, IL-6 gibi pro-inflamatuar sitokin düzeylerinde artma gibi farklı mekanizmalardan bahsedilmiştir (147).

Etiyolojisinde en çok araştırılan ve tutarlı bilgiye sahip olan mekanizma ise strestir(206). Stres, sadece hipotalamo-hipofiz-adrenal (HPA) aks ve otonom sinir sistemini değil, aynı zamanda immun sistemin pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar komponentlerini ve kompleks metabolizma ilişkilerini de etkileyerek organizmada bir yanıt oluşturur(207). Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, kommensal

bağırsak mikrobiyotası ile stres yanıtının oluşumu ve düzenlenmesinde iki yönlü bir ilişki olduğunu desteklemiştir(147).

Toplumda yaygın olarak görülen depresyon ve anksiyete bozukluklarının tedaviye verdikleri yanıt oldukça düşük ve bu hastaların tedaviye uyumunda sıkıntılar yaşanmaktadır (208). Bu hastalar için bağırsak mikrobiyotasını destekleyen probiyotik ve prebiyotik ajanlar yeni alternatif tedavi seçenekleri olarak görülmektedir. Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin nöroendokrin yolak, otonom sinir sistemi ve immun sistem aracılığıyla etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sudo ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada, stres uyaranına germ-free(GF) farelerin HPA aksının abartılı yanıt verdiğini ve yüksek düzeyde ACTH ve kortikosteron üretimi olduğunu tespit etmişlerdir(198). Aynı düzeydeki stres uyaranına, kontrol grubu (normal bağırsak florasına sahip) farelerin kısmen; *Bifidobacterium infantis* ile kolonize olan farelerin ise tamamen ters yanıt verdiğini gözlemlenmiştir. Ayrıca, abartılı stres hormon yanıtın normale dönmesi için mikrobiyotanın yeniden şekilleneceği 'kritik bir zamana' ihtiyaç olduğunu göstermiştir (198).Bu çalışma modeli erişkin ratlara uygulandığında, stres hormonlarının tersine dönüşümünde istenilen sonuca ulaşılamamıştır(148). Bu sonuç ve GF fareler ile yapılan diğer çalışmalar, Sudo ve ark. mikrobiyotanın yeniden şekillenmesi ile ilgili savını desteklemiştir(148, 149).

Lactobacillus rhamnosus içeren probiyotik verilen farelerde, GABAerjik sistemde değişiklikler ile anksiyete ve depresyon benzeri davranışlarda azalma gözlemlenirken; vagotomi sonrası bu nörokimyasal değişikliklerin ve davranışsal etkilerin görülmediği tespit edilmiştir(190). Elde edilen bu bulgular, vagal sinirin bağırsak mikrobiyotası ile beyin arasındaki karşılıklı ilişkide önemli role sahip olduğunu göstermiştir(190). Kelly ve ark. depresif hastanın mikrobiyal çeşit ve sayıca az olan ekstraktı mikrobiyotadan yoksun olan ratlara vermişler ve bu ratlarda depresyon benzeri davranışlar ile triptofan metabolizmasında değişikler saptamışlardır(209).

Deneysel hayvan çalışmalarında depresyon modeli olarak kullanılan annelerinden ayrılmış sıçanlar ile yapılan bir çalışmada ise annelerinden ayrılan sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla, HPA aks aktivitelerinde artma, sistemik immun yanıtlarında ve bağırsak mikrobiyota içeriğinde değişiklikler saptanmıştır(210). Desbonnet ve arkadaşları annelerinden ayrılan sıçanlara 'forced swim testini' uygulamışlar ve bu sıçanların yüzme davranışlarının azaldığını ve çoğunlukla hareketsiz kaldıklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca bu sıçanların beyinlerinde nöradrenalin düzeyinde azalma, periferal IL-6 salınımında artma da görülmüştür. Depresif davranışlarda bulunan bu sıçanlara *Bifidobacterium infantis* içeren probiyotikler verildiğinde; davranışların düzeldiği, immun yanıtın azaldığı ve bazal nöradrenalin seviyesinin normal seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir(179). Erken yaşam olaylarına maruz kalan farelere düzenli olarak, uzun süre *Lactobacillus plantarum* suşları verildiğinde de Desbonnet'in araştırması ile benzer sonuçlara ulaşılmıştır(211). Annelerinden ayrılan maymun infantlarda yapılan bir çalışmada ise, bağırsak mikrobiyotasında *Lactobacilli* suşlarının azaldığı, infant maymunlarda stres davranışlarının gözlemlendiği, immun sistemlerinin daha zayıf olduğu ve fırsatçı bakteri enfeksiyonlarına daha yatkın oldukları tespit edilmiştir(212).

2014 yılında, strese hassas sıçanlar kullanarak yapılan bir araştırmada, bağırsak mikrobiyotası yokluğunda sıçanların anksiyete benzeri davranışlar sergilediği ve tehlikeli durumlarda nöroendokrin yanıtlarında abartılı artış olduğu dikkati çekmiştir. Araştırmacı bu durumu frontal korteks, hipokampus ve striatum gibi beyin yapılarında dopaminerjik yolaklardaki değişim ile ilişkili olabileceğini düşünmüştür(213).

Wang ve ark. *Lactobacillus fermentum NS9* suşunun bağırsak mikrobiyota içeriğini normalize ederek ve kolon inflamasyonunu azaltarak ampisilin ile indüklenen anksiyete benzeri davranışları iyileştirme yeteneğine sahip olduğunu belirtmiştir(214). Bununla birlikte araştırmacı, bu tür ile tedavinin serum kortikosteron seviyesinin düzenlenmesine kısmen yarar sağlayabileceğini söylemiştir(214).

Duygudurum bozuklukları ile mikrobiyotanın rolü hakkında elde edilen bilgilerin büyük çoğunluğunu deneysel hayvan modellerinin kullanıldığı

preklinik çalışmalar oluşturmaktadır. Ancak bu çalışmalar, aralarındaki bu ilişkiyi açıklamakta yeterli bulunmamıştır. Bağırsak mikrobiyotası ile insan arasındaki etkilişime ve mekanizmalara yönelik daha çok kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Depresif hastaların dışkı örneklerinden elde edilen analizlerde; depresif hastalarda alfa çeşitliliğinde ve spesifik bakteriyel taksonların(taxa) seviyelerinde farklılıklar bulunmuştur(215). Özellikle *Bacteroidetes, Proteobacteria ve Act*inobacteria suşlarında anlamlı düzeyde yükselme; *Firmicutes* suşunda ise anlamlı ölçüde azalma gözlemlenmiştir(215). Dahası, depresif hastalarda *Enterobacteriaceae* ve *Alistipes* seviyelerinde artış, *Faecalibacterium* seviyesinde azalma tespit edilmiş ve*Faecalibacterium* ile depresif semptomların şiddetinde bir negatif ilişki olabileceği düşünülmüştür(215). Ancak Naseribafrouei ve arkadaşları ise çalışmalarında depresif hastalar ile kontrol grubu arasında bakteriyel çeşitlilik açısından hiçbir fark bulamamıştır. Ayrıca, aynı çalışmada *Alistipes* ve *Oscillibacter* türleri ile depresyon arasında önemli bir ilişki olabileceği belirtilmiştir(216).

MDB tanılı hastaların bağırsak mikrobiyomunda meydana gelen bu değişikliklerin, hastalığın başlamasına katkı sağlayıp sağlamadığı veya farmakolojik tedavi sonucunda ortaya çıkıp çıkmadığı tam olarak bilinmemektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada kontrol grubu ile MDB tanılı olgular arasında tür çeşitliliği bakımınıdan anlamlı fark bulunmamıştır(217).

Probiyotikler hakkında yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus* ve *Bifidobacteriumun* birçok türünü içeren probiyotik depresif hastalara verilmiş ve depresif duygudurumu ile ilişkili olumsuz düşüncelerin azaldığı gözlemlenmiştir(218).Bu araştırmadan elde edilen veriler, probiyotiklerin depresyonun destek tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir(218). Bununla birlikte, anksiyete davranışları sergileyen farelere düzenli olarak *Bifidobacterium longum (B.) 1714* ve *Bifidobacterium breve 1205* suşları uygulanmış ve anksiyete davranışlarında azalma görülmüştür(219). Ayrıca *Bifidobacterium longum 1714* suşunun anti-depresan etkiye sahip olduğuda tespit edilmiştir(219).

Depresif hastalarda gram negatif *Enterobacteria* lipopolisakkaridlerine (LPS) karşı üretilen serum Ig M ve Ig A seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır(220). Araştırmacılar, bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin immun hücre aktivasyonuna ile birlikte Ig A ve Ig M üretiminden sorumlu olabileceğini ve bu olayların depresyonun patofizyolojisinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir(220).

Romjin ve arkadaşları (2017) ise, major depresif bozukluk tanılı hastalarda probiyotik tedavisinin etkinliğini araştırmışlar, ne depresif bulgularında ne de işlevselliklerinde herhangi bir iyileşme saptamamışlardır(221). Konuyla ilgili bir derlemede ise prebiyotik/probiyotik kullanımının hafif-orta düzyede depresyona faydalı olabileceği, şiddetli olgularda yetersiz olacağı bildirilmişitir. Bu alandaki veriler sınırlı olmakla birlikte, prebiyotik ve/veya probiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyota içeriğini nasıl değiştirdiği ve bunun hastalığın etiyopatogenezi ile hangi mekanizmalar ile etkili olduğunun araştırılmasına ihtiyaç vardır(222).

2.2.3.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB)

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB), çocukluk çağı psikiyatrik bozukluklar içerisinde en sık tanı konulan; dikkat eksikliği, hiperaktivite ve dürtüsellik (impulsitivite) yakınmalarıyla karakterize olan nörogelişimsel bir bozukluktur(223). DEHB, yüksek oranda karşıt olma, karşıt gelme bozukluğu(KOKG) ve davranım bozukluğu(DB) ile birlikte görülürken; otizm spektrum bozukluğu(OSB), anksiyete bozukluğu, depresyon gibi psikiyatrik bozukluklara da eşlik edebilir(224). DEHB etiyolojisini etkileyen doğum şekli ve diyet içeriğinin, bağırsak mikrobiyota komposizyonunu etkileyebileceği görülmüştür. Bazı çalışmalarda diyetin bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek DEHB semptom ve bulgularını etkileyebileceği belirtilse de aksini bildiren çalışmalarda mevcuttur(225, 226).

DEHB'nin etiyolojisine yönelik yapılan çalışmalarda, prematüre yenidoğanların DEHB'ye yatkınlığının daha fazla olduğu(227, 228) ve sezeryan doğumun DEHB riskini arttırmada ılımlı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur(229). Sezeryan ile DEHB arasındaki bu etkileşimi detaylandırmak için İsveçre'de aynı grupla yapılan çalışmada, bu riskin planlanmamış sezeryan doğumlarında arttığı ancak planlı olanlarda etkilenmediği tespit edilmiştir (230).Curren, planlanmamış sezeryanlarda elde edilen bu sonucun sezeryan dışında başka faktörlerden kaynaklı olabileceğini; sezeryan doğum şeklinin ve prematüritenin çocukların bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere neden olarak DEHB etiyolojisinde etkili olabileceğini ileri sürmüştür(230). Ancak son zamanlarda yayınlanan bir meta analiz çalışması ise sezaryen doğum ile DEHB gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmiştir(229).

DEHB etiyolojisinde bağırsak mikrobiyotasının rolü hakkında yapılan çalışmada Partty ve arkadaşları, DEHB tanısı alan çocukların bebeklik dönemlerinde *Bifidobacterium longum* sayısının azaldığını; bu çocuklara ilk 6 ay *Lactobacillus rhamnosus GG* uygulandığında DEHB riskinin azalabileceğini belirtmişlerdir(231).

Trompette ve arkadaşları diyetle alınan fermente lifli gıdaların, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranlarını değiştirerek bağırsak mikrobiyota içeriğini etkileyebildiğini tespit etmişlerdir(232). Bu değişimin, düşük lifli gıdalarla beslenildiğinde *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranlarının daha yüksek; yüksek lifli diyetten sonra ise aksine daha düşük olarak gerçekleştiğini bulmuşlardır(232).Aynı zamanda diyetten üretilen liflerin ve kısa zincirli yağ asitlerinin immun sistemi güçlendirebileceği ve alerjik inflamasyonun şiddetini etkileyebileceği düşünülmüştür(232).

Tüm bu kanıtlar, DEHB ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki ve etkileşimi açıklamaya yetmemekte ve bu konunun detaylandırılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.3.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Şizofreni

Şizofreni sanrı, varsanı veya dezorganize konuşma belirtilerinden en az birinin olması koşuluyla; dezorganize davranış veya katatoni hali; içe kapanma, apati

gibi negatif belirtilerle karakterize olan ve bir ya da daha fazla alanda işlevsellik kaybı ile devam eden nörogelişimsel bir bozukluktur(233). Günümüzde etiyolojisi hâlâ netleşmemiş olmakla birlikte multifaktoriyel etkenlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda genetik, stres, çocukluk çağı travmaları, prenatal ve perinatal faktörler, çevresel etmenler, inflamasyon, immun disfonksiyon gibi pek çok mekanizma suçlanmıştır(234).

Son zamanlarda yapılan bir grup çalışmada, paraziter bir enfeksiyon olan *Toxoplasmozis* ile şizofreni arasındaki ilişkiye bakılmıştır. *Toxoplazma gondii* parazitinin bağırsak mikrobiyotasını etkileyerek, şizofreni riskini arttırdığı düşünülmüştür(235-237).Severance ve arkadaşları, bir intestinal inflamasyon belirteci olan anti-*Saccharomyces cerevisiae* IgG antikorlarının şizofrenili hastalarında arttığını ve bu antikor seviyelerinin gıda antijen ile ilişkili humoral immun aktivasyon ile bağlantılı bulmuşlardır(238). Aynı çalışmada *Toxoplasma gondii* infeksiyonu ile oluşan intestinal inflamasyonun gıda antijenlerine karşı oluşan antikorlar ile bağlantılı olduğunu göstermiştir(238). Ayrıca aynı çalışma grubunda serolojik bakteriyel tranlokasyon belirteci olan solubl CD14(sCD14) çalışılmış ve şizofreni hastalarında bu belirteç daha yüksek oranda tespit edilmiştir(239).

İlk defa psikotik atak geçiren hastalar ile yapılan yeni bir araştırmada, semptomların şiddeti ile bağırsak mikrobiyota içeriğindeki *Lactobacillus* sayısının bağlantılı olduğu görülmüştür(240). Ayrıca, mikrobiyota içeriğinde meydana gelen değişimin büyüklüğü ile psikotik hastaların tedaviye yanıt verme oranları arasında ters bir ilişki olduğu saptanmıştır(240). Castro-Nallar ve arkadaşları ise şizofrenili hastalarda orofarengeal florayı araştırmışlardır. Şizofreni hastalarından alınan numunelerde, *Lactobacilli* ve *Bifidobacterium* gibi laktik asit bakterilerinin, *Candida* ve *Eubacterium* türlerinde kontrol grubuna kıyasla artış tespit edilmiştir(241). Ayrıca, bu çalışmada şizofreni hastalarının orofarengeal florasında bakteriyofaj ve *Lactobacillus phage phiadh*'da değişkliklerde görülmüştür(242).

Bazı araştırmacılar, şizofreni hastalarının bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliğin sezaryen doğumdan kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sezaryen doğum ile şizofreni ilişkisini araştırmışlar ancak aralarında herhangi bir ilişki tespit edememişlerdir(243).

Şizofreni hastalarında probiyotik kullanımının etkinliğinin araştrılıdığı randomize kontrollü bir çalışmada, şizofreni tanılı bireylerin gastrointestinal yakınmalrının iyileştiği ancak şizofreninin negatif ve pozitif belirtilerinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür(244, 245).

Bu konuyla ilgili yapılan preklinik çalışmalardan birinde, kemirgenlere fensiklidin (PCP) tedavisi verilmiş ve kemirgenlerde dezorganize davranışlar, ajitasyon ve bilişsel defisitleri içeren şizofreni benzeri tablo gözlemlenmiştir(246). Ayrıca, bu hayvanlarda bilişsel performanslarıyla bağlantılı olduğu düşünülen bağırsak mikrobiyota içeriğinde değişiklik de saptanmıştır(246).

2.2.3.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve Otizm Spektrum Bozukluğu(OSB)

Genel olarak bakıldığında bu alanda yapılan çalışmaların bilimsel kanıt değerlerinin yeterince iyi olmadığı, kontrollü çalışmaların kısıtlı olduğu, örneklem sayılarının çok düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle mevcut bilgilerimizle verileri genellemek mümkün değildir ve nitelikli bilimsel verilere ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut çalışmaların verileri ise aşağıda özetlenmiştir.

Otizm spektrum bozukluğunun bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan araştırmalarda otizmli bireylerin çoğunluğuna kabızlık, diare, şişkinlik, hazımsızlık gibi gastrointestinal belirtilerin eşlik ettiği ve bu belirtilerin otizmli bireylerin sosyal ilişki ve toplumsal etkileşimlerindeki eksikliklerin derecesi ve stereotipik davranışların, hiperaktivitenin ve agresyonların şiddeti ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir(5, 6). Bununla birlikte, araştırmacılar otizmli bireylerin bağırsak mikrobiyota içeriğinin ve dağılımının sağlıklı çocuklara göre farklılık gösterdiğini de yayınlarında bildirmişlerdir(12, 13). Örneğin 2012 yılında yayınlanan bir derlemede *Sistemler Arası Bağlantı Modelinden* (Systems Connectivitiy Model) bahsedilmiştir. Doğrusal ve döngüsel birçok yolaktan oluşan bu modelde 3 ana mekanizma üzerinde durulmaktadır. Bunlardan ilki aşırı bakteriyel yük ve/veya anormal bakteriyel çeşitlilik; ikincisi artmış bağırsak duvar geçirgenliği ve üçüncüsü ise oksidatif stres ile sülfür metabolizmasında meydana gelen bozukluklardır(203).

OSB etiyolojisinde bağırsak mikrobiyotası ile beyin-bağırsak aksın daha iyi anlaşılması için yapılan çalışmaları alt başlıklar altında inceleyelim.

2.2.3.4.1. Anormal Bağırsak İçeriği ve /veya Aşırı Bakteriyel Yük

Anaerobik bakteriler, insan kalın bağırsağına kolonize olmuşlar ve insan vücudunda bir 'organ' gibi işlev görmektedirler(247). Bu bakterilerin önemli görevlerinden biri; insan vücudunda bulunan enzimler ile sindirilemeyen polisakkaridleri fermente ederek; asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürmektir. *Bacteroides, Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri bu işlevden esas sorumlu olan bakterilerdir(248). Bağırsak epitel hücreleri için enerji kaynağı olan kısa zincirli yağ asitleri, aynı zamanda immun sistemin gelişimini de etkilemektedir. Steril bir bağırsak ile doğan bebekler, hızlıca bakteri florasına kavuşur ve immun sistemin gelişimini destekler. Bağırsak mikrobiyota içeriğinde anti-inflamatuar sitokinler üreten Bifidobacterium ve *Lactobacillus* gibi bakteriler ile *Clostridium* ve *Ruminococcus* gibi pro-inflamatuar sitokinleri üreten bakteriler bir denge içerisinde bulunmaktadır(203).

Bağırsaklara kolonize olmuş bakteri sınıfları incelendiğinde; otizmli çocuklarda *Bacteroidetes* şubesi daha yüksek oranda bulunurken, kontrol grubunda *Firmicutes* şubesi baskın olarak tespit edilmiştir (249). Tomova ve arkadaşları ise otizmli olgularda *Bacteroidetes*/*Firmicutes* oranlarında önemli bir azalma ile birlikte, *Lactobacillus spp*. miktarında artış olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, Adams ve arkadaşları tarafından yapılan ve *Lactobacillusspp*. suşlarının fark edilir düzeyde otizmli bireylerde yüksek olduğunu gösteren çalışma sonuçları ile tutarlı bulunmuştur(250). Ayrıca farklı zamanlarda yapılan bir grup çalışmada *Clostridium spp.* suşlarının arttığı da tespit edilmiştir(251-253).

Otizmli çocukların bağırsaklarına kolonize olan bakteriler arasında *Actinobacter* ve *Proteobacterium* şubeleri kontrol grubundan farklılık göstermiş ve otizmli bireylerde daha az sayıda *Bifidobacterium spp.* tespit edilmiştir (249, 250, 254). Ayrıca, bu alanda yapılan iki önemli çalışmada *Desulfovibrio spp.* belirgin şekilde fazla miktarda bulunmuştur(249, 255). Tomova ve arkadaşlarının yaptıkları

çalışmada dikkat çeken bir diğer sonuç ise otizmli çocuklara *Lactobacillus, Bifidobacterium* ve *Streptococcus* (strain) suşlarını içeren probiyotik verildikten sonra *Bacteroidetes/Firmicutes* oranının ve *Desulfovibrio spp.* ve *Bifidobacterium spp.* miktarlarının yeniden düzenlenerek normale dönmesi olmuştur(255).

Gastrointestinal sisteme ait yakınması olan otizmli çocuklar ile yapılan bir çalışmada, bireylerden alınan biyopsi örneklerinde yüksek miktarda *Sutterella spp.* bulunurken(256); dışkı örneklerinde ise bu ailenin bir üyesi olan *Parasutterella excrementihominis* bakterisi fazla miktarda tespit edilmiştir(254).

2000 yılında Sandler ve Finegold tarafından yapılan bir klinik çalışmada, kısa süre vankomisin tedavisi verilen 10 regresif tip otizmli olgudan 8'inin hareketlilik, dikkatsizlik, irritabilite belirtilerinde ve stereotipik davranışlarında geçici olarak azalma görülmüştür(257). Araştırmacı, bu etkiyi patojenler tarafından üretilen nörotoksinin eliminasyonu ile ilişkilendirmiş ve vankomisin tedavisi kesildikten sonra sporların ve toksinlerin çoğalmaya devam etmesinden dolayı da bu iyilik halinin geçici olduğunu ifade etmiştir(257).

Sekanslama yöntemlerinin gelişmesiyle Finegold yaptığı çalışmada, önceki çalışmalarda elde ettiği sonuçlardan daha farklı sonuçlara ulaşmıştır. OSB'li bireylerde *Clostridia* miktarı anlamlı ölçüde yüksek bulunmazken; *Bacteroidetes* ve *Desulfovibrio* miktarı kısmen daha yüksek saptanmıştır(249). Finegold, bu sonuçlar içerisinde normal popülasyonda %0,3'ten daha az oranda bulunan Desulfovibrio'nun, OSB'li bireylerde yaklaşık 10 kat daha fazla olduğuna dikkat çekmiştir. Ayrıca, araştırmacı OSB etiyopatogenezine yönelik yapılan çalışmalarda, Clostridia ve toksinlerinin yanı sıra Desulfovibirio ve toksik metaboliti hidrojen sülfidin de çalışılabileceğini öne sürmüştür (250).

Son olarak, yapılan bazı çalışmalarda otizmli bireylerin kardeşlerinde de istatiksel düzeyde anlamlı olmayan mikrobiyota içeriğinde ve yükünde farklılıklar saptanmıştır(203).

2.2.3.4.2. Deneysel OSB Hayvan Modelleri İle Yapılan Çalışmalar

Prenatal dönemde maruz kalınan birçok çevresel etkenin ve stressör faktörlerin çocuğun gelişimini etkileyerek, otizm spektrum bozukluğuna neden olabileceği önceki çalışmalarda bildirilmiştir(258). Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda, nedensel ilişki ve altta yatan mekanizmalar henüz tam olarak gösterilmemiş olmasına rağmen; anne bağışıklık aktivasyon (MIA) fare modeli, OSB'nin bazı özelliklerini incelemek için kullanılmaktadır(259, 260). Hsiao ve arkadaşları, MIA fare modeli yavrularının bağırsak mikrobiyota içeriğinde değişiklikler ve özellikle *Clostridia* ve *Bacteroidia* takımlarında (order) farklılıklar tanımlamıştır(259). Yavru farelerin *Bacteroidetes fragilis*ile tedavi edilmesinin ardından bağırsak duvar geçirgenliğinde iyileşme olduğu ve bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı farelerde görülen içeriğe doğru kaydığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bu tedavi sonrası yavru farelerde gözlemlenen iletişim eksiklikleri, stereotipik hareketler, anksiyete gibi otizm benzeri davranışların normalleştiği de fark edilmiştir(261).

Kimyasal bir madde olan paracresole yapısal olarak benzeyen 4-etilfenilsülfat (4-EPS), MIA yavrularında yapılan metabolik analizlerde yüksek seviyede saptanmış ve bu maddenin *Bacteroidetes fragilis* tedavisi ile normal seviyeye gerilediği tespit edilmiştir(261). 4-EPS, saf fare türüne enjekte edildiğinde ise deney hayvanlarında otizm benzeri davranış paterni gözlemlenmiştir(261).

OSB'nin özelliklerini oluşturmak için kullanılan preklinik modellerden biri de yavru farelerin prenatal dönemde valproik aside (VPA) maruz bırakılmasını içerir. Prenatal dönemde VPA maruz bırakılan fare modellerinde, *Firmicutes* sırasında artmanın yanı sıra *Bacteroidetes* seviyesinde ve *Desulfovibrionales* sırasında azalma tespit edilmiştir. (262) Ayrıca, özellikle VPA maruz bırakılan erkek yavrularda *Alistipes, Enterorhabdus, Mollicutes* ve *Erysipelotrichalis* cinslerinde farklılıklar da tanımlanmıştır(262). Bu çalışmayla ilgili olarak vurgulanan diğer önemli sonuç ise, bu farklılıkların çekumda artan bütirat seviyesi ile ileal bölgedeki nötrofil infiltrasyonu ile paralel olarak; intestinal serotonin seviyesi ve sosyal davranış skorları ile ise ters olarak değişmesidir(262, 263).

2.2.3.4.3. Oksidatif Stres ve Sülfür Metabolizması Bozuklukları

OSB'li bireylerin kan ve idrar örnekleriyle yapılan bazı çalışmalarda, trans-metilasyon ve trans-sülfürasyon metabolik yolaklarında bazı bozukluklar tespit edilmiştir. Bu bozuklukların metiyonin ve sistein gibi sülfür içeren aminoasitlerin metabolizmasını da etkileyebileceği düşünülmektedir(264, 265).

Bu konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada adenozin ve S-adenozil homosistein (SAH) metabolitleri, OSB'li bireylerde kontrol grubuna kıyasla artmış olarak bulunurken; metiyonin, SAM (S-adenozil metyonin), homosistein, sistatyonin ve sistein ise azalmış olarak saptanmıştır. Bu sonuçların, metiyoninden sistein ve glutatyon oluşumunu sağlayan yolaktaki problemden kaynaklandığını düşündürmüştür (264).

Oksidatif stresin metiyonin sentez aktivitesini inhibe ederek bu yolağı engellediği ve adenozinin de vücudu oksidatif strese karşı korumak için; homosistein üretimini inhibe ederek SAH üretimi yolağını aktive ettiği düşünülmektedir(264). Homosistein, metiyonin re-metilasyonu için ve sisteine dönüşümü (trans-sülfürasyonu) için gerekli bir ara üründür(203). Metiyonin-SAH sentezinde meydana gelen bir aksaklığın, yolaktaki tüm ürünlerin azalmasına neden olacağı düşünülmektedir(203).

Vücudun doğal anti-oksidanı olan glutatyonun sentezinde hız kısıtlayıcı olan sistein, metiyoninden sentezlenmektedir. Bu yolaktaki aksaklık sistein ve dolaylı olarak da glutatyon sentezinde azalmaya neden olmaktadır(203). James ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada OSB'li bireylerde glutatyon miktarını daha az ve okside glutatyonun redükte glutatyona oranını daha yüksek olarak tespit etmişler ve bu durumu oksidatif stresle ilişkilendirmişlerdir(264). Glutatyonun ağır metal ve toksik maddelerin detoksifikasyonunda üstlendiği önemli görevlerden dolayı, otizmli çocuklarda tekrarlayan enfeksiyonlar, nöroinflamasyon, gastrointestinal inflamasyon ve metabolik bozukluklar daha sık rastlanmıştır(266).

Ksenobiyotik maddelerin detoksifikasyonu için sisteinden elde edilen sülfat biriminin transferi gerekmektedir(265). Artan oksidatif stres ile birlikte

transsülfürasyon mekanizmasında meydana gelen aksaklıklar, OSB'li bireylerin ağır metallerin ve özellikle fenol içeren ksenobiyotiklerin toksik etkilerine daha yatkın hale gelmesine neden olmuştur(265, 267).

DNA, RNA, protein ve lipid gibi önemli moleküllerin metilasyonu için gerekli olan metiyonin gen ekspresyonunda önemli rol aldığı bilinmektedir(268). Metiyonin sentezindeki eksikliğin gen ekspresyonunu engelleyerek otizm gibi hastalıkların oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir(269). Bağırsak mikrobiyota ve genetik ile ilgili yapılan çalışmalarda genetik yapının bakteriyel içeriği etkileyebileceği görüşüne varılmıştır. Ayrıca, ayrı bölgelerde yaşayan ikizlerin yıllar sonra dahi çoğunlukla benzer bakteriyel içeriğe sahip olduğu görülmüştür(270). Elde edilen bu sonuçlar, metiyonin eksikliklerinin OSB'li bireylerde bağırsak mikrobiyota içeriğinde değişikliğe neden olabileceğini göstermiştir(203).

2.2.3.4.4. Desulfovibrio Hakkındaki Yeni Görüşler

Bazı çalışmalarda OSB'li bireylerde *Desulfovibrio*'nun yoğunluğunda artış tespit edilmesiyle, Finegold ile bazı araştırmacılar bu bakterinin fizyolojik işleyişi ve hastalık ile arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalar yapmıştır.

Desulfovibrio, insan bağırsağında doğal olarak bulunan ve bazı kimyasal reaksiyonlarda hidrojen gazını tüketerek sülfatı indirgeyen bir bakteri türüdür(271). Oksijensiz ortamda hidrojeni tüketerek, toksik olmayan metanı oluşturan diğer bir mikroorganizma grubu ise metajenik arkealardır(271). İnsanlarda genellikle iki gruptan biri bulunur. Eğer sülfat indirgeyen bakteri grubu mevcutsa, hidrojen tüketimi için arkealar ile yarışmaya girer ve termodinamik olarak reaksiyonları kendi lehine yönlendirir. Bunun sonucunda ise sülfat indirgeyen bakteriler hidrojeni kullanarak insan vücudu için zararlı olan hidrojen sülfidi oluşturur(203).

Sülfür içeren bileşikleri katabolize etme yeteneği diğer bakterilerden farklı olan Desulfovibiro, sülfatı ellektron alıcısı olarak kullanarak, metiyonin ve/veya sistein sentezleyebilir(271). OSB'li bireylerde görülen sülfür metabolizmasındaki eksikliklerin, bu bireylerin*Desulfovibiro spp* bakterilerine olan ihtiyacını arttırmış

olabileceği ve bu yolaktaki aksaklıklardan dolayı artan SAH'ın, *Desulfovibiro*'nun büyüme ve gelişmesini desteklemek amacıyla kullanarak artmış olabileceği fikri ileri sürülmüştür(203, 251).

Desulfovibrio türünün diğer bağırsak bakteri türleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, ortamda artan *Desulfovibrio*'nun insan vücudu için yararlı olduğu bilinen *Bifidobacterium longum* ve *B. Psudolongum* bakteri alt türlerinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu, *Bacteroidetes* türlerinin etkilenmediği ve *Clostridia* alt türlerinde ise farklı düzeyde etkilenmeler bulunmuştur. Ancak Clostridia türü üzerine etkisi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır(272).

2.2.3.4.5. Kısa Zincirli Yağ Asitleri İle Maternal Diyet İçeriği Hakkındaki Görüşler

Kısa zincirli yağ asitlerinden biri olan propiyonik asit (PPA), *Clostridia, Bacteroidetes, Desulfovibrio* gibi bazı bağırsak bakterilerinin fermentasyon ürünüdür(263). PPA'nın ratlara intraserebroventriküler enjeksiyonu, ratların beyninde nörokimyasal değişikliklerin yanı sıra tekrarlayıcı hareketler, çevresine karşı ilgisiz davranışlar ve hiperaktivite gibi davranışsal değişiklikler ile sonuçlanmıştır. Ratlarda gözlemlenen bu değişiklikler, OSB için geçerli bir preklinik model olmasını sağlayan bulgularla tutarlı olarak bulunmuştur(273-275). Bununla birlikte otizmin genetik modeliyle uyumlu olan BTBR cinsi farelere, başka bir kısa zincirli yağ asidi olan sodyum bütirat verildiğinde; farelerde gözlemlenen sosyal iletişim davranışlarındaki eksiklikleri ve tekrarlayıcı hareketleri kapsayan otizm benzeri davranışların hafiflediği gösterilmiştir(276). Yazar, bütiratın bu yararlı etkisinin transkripsiyonal modülasyona aracılık etmesiyle ilişkili olabileceğini düşünmüştür(276).Wang ve arkadaşları ise OSB'li olgularda asetat, propionat ve valerat gibi kısa zincirli yağ asitlerini ve fekal amonyak seviyelerini daha yüksek oranda tespit etmişlerdir(250, 277).

Maternal yüksek yağlı diyetin (MHFD) bağırsak mikrobiyota içeriğini ve yükünü değiştirdiği ve bu değişikliğin yavruların sosyal etkileşimini ve davranışlarını

olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca, bu olumsuz etkinin düzenli diyet alışkanlığına sahip annelerin yavruları ile birlikte tutulduğunda önlenebileceği bildirilmiştir(278). Yüksek yağlı diyet içeriğinin, yavru farelerin ventral tegmental alanlarında plastisite değişikliklerine ve hipotalamus paraventriküler nükleuslarındaki(PVN) oksitosin immunreaktif nöronlarında azalmaya neden olabileceği de söylenmektedir(278). Dahası, MHFD yavrularının bağırsak mikrobiyota içeriğinde azalan *Lactobacillus reuteri*suşunun, probiyotik olarak verilmesiyle yavru farelerde gözlemlenen sosyal ilişki eksikliklerinin iyileştiği ve PVN oksitosin seviyesinin arttığı bildirilmiştir(278). Bu tedavinin oksitosin seviyesini nasıl etkilediği henüz tam olarak açıklanamasa da, araştırmacılar bağırsak mikrobiyotası ile beyin arasında ilişkiyi sağlayan vagal sinir ile PVN kapsayan bir yolağın etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir(190, 279).

2.2.3.4.6. Bağırsak Duvar Geçirgenliğinde Artma (‘Leaky gut’ hipotezi)

‘Leaky gut’ terminolojisi, ince ve kalın bağırsak duvarını oluşturan bariyer işlevinde bozulmayı ifade eder(280). Sıkı bağlantılar (tight juction), epitel hücreleri ve parasellüler boşlukta bulunan çeşitli protein yapılarından oluşan bu bariyerin, otizmli bireylerde bozulduğu son zamanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(281).

Bağırsak duvar geçirgenliğini etkileyen mekanizmalardan en önemlisi bağırsaklarda görülen inflamasyondur(282). *Clostridia* ve *Desulfovibrio* bakterileri tarafından üretilen toksinler, *Bacteroides* gibi gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaridler(LPS), antioksidan ve detoksifikasyon mekanizmalarındaki yetersizlik nedeniyle vücuttan atılmayan ağır metaller ve fenol içeren bileşikler inflamasyona neden olabileceği düşünülmektedir(282).

Bağırsak mikrobiyota içeriğindeki değişikliklerin immun sistemi etkilediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(113). Bazı çalışmalarda otizmli bireylerin dışkı analizlerinde tespit edilen artan Clostridia miktarına karşın azalan Bifidobacteria miktarı, inflamatuar sitokinler arasındaki dengeyi pro-inflamatuar sitokinler lehine kaydırmış olması olasıdır. İnflamatuar sitokinler arasında oluşan bu muhtemel

dengesizliğin, bağırsaklar içerisinde inflamatuar yanıtı tetiklediği ve bu yanıta uzun süre maruz kalan epitelyal bariyerin hasara uğrayarak bağırsak geçirgenliğinde artışa neden olabileceği görüşü öne sürülmüştür(283).

Gluten gibi gıda alerjenlerinin de bağırsak duvar geçirgenliğinde etkili olabileceği düşünülmektedir(284). 'Zonulin' olarak adlandırılan hücresel sinyalizasyonda görev alan bir molekülün, çölyak hastalığı, tip 1 DM, Crohn hastalığı vb. otoimmun hastalıklarda artmış olarak tespit edilmesi, bu molekülün bağırsak geçirgenliği ile bir ilişkisi olabileceği savını ileri sürmüştür(203, 284). Bu konu detaylandırıldığında, zonulinin sıkı bağlantıların gevşemesine neden olarak bağırsak duvar geçirgenliğini arttırmış olabileceği düşünülmüştür. Elde edilen veriler, otizmli bireylerde görülen artmış bağırsak geçirgenliğinin sebeplerinden birinin de zonulin olabileceği fikrini ortaya koymuştur. Ancak bu konun detaylandırılması için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır(203).

Bununla birlikte, *Clostridium difficile* toksinlerinin Rho-GTPaz aktivesiyle bağırsak epitel hücrelerinde yuvarlaklaşmaya yol açtığı; bunun sonucu olarak parasellüler boşlukta artış görüldüğü ve bağırsak epitelyal bariyerin fonksiyonlarının bozulduğu saptanmışıtır(285). OSB'li bireylerde bulunan farklı Clostridia türlerinin de benzer mekanizma ile bağırsak geçirgenliğini bozabileceği düşünülmektedir(203).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan endotoksin olarak da bilinen lipopolisakkarid(LPS) yapısının, bağırsak geçirgenliğinin bozulmasıyla birlikte sistemik dolaşıma geçebildiği bilinmektedir(286). Serum endotoksin düzeyinin, bağırsaklardan sistemik dolaşıma geçen bakteriyel yükün bir göstergesi olabileceği söylenmektedir(252). Kan-beyin bariyerini geçebilme özelliğine sahip olan endotoksine uzun süreli maruziyetin nöronal hücre ölümüne sebep olduğu ve kronik nöroinflamasyona yol açtığı saptanmıştır(287, 288).OSB'li bireylerde geçirgenliği artan intestinal mukozal bariyerin yüksek miktarda bakteri ve metabolitinin geçişine izin verdiği; santral sinir sistemine ulaşan bu yapıların immun reaksiyonları tetikleyerek nöroinflamasyonu başlattığı ve otizme neden olduğu düşünülmektedir(289).

Otizm spektrum bozukluğu ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiye yönelik araştırmaların büyük çoğunluğu deney hayvanları ile yapılmıştır. Bazı araştırmacılar, oluşturulan otizm hayvan modellerinin otizm tanılı olgularda görülen çekirdek belirtiler ile tam olarak örtüşmediğini savunmuşlardır. Örneğin 4-EPS verilen deney hayvanlarının sadece anksiyete benzeri davranışlar gösterdiği, MIA modeli kemirgenlerin ise otizme özgü olmayan birçok farklı davranış gösterdiği görülmüştür. Ayrıca hayvan çalışmalarının yalnızca davranış değişikliklerine odaklandığı, beyinde meydana gelen değişiklikelri açıklamada yetersiz kaldığını öne sürmüşlerdir. Bu nedenlerden dolayı hayvan çalışmalarında elde edilen verilerin, OSB tanılı bireylere genelleştirirken dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır(13).

OSB ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki olası ilişkiden yola çıkılarak, OSB olgularında probiyotik/prebiyotik tedavisinin ve özel diyet programlarının etkinliği ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, ne prebiyotiklerin ne de özel diyet programlarının OSB'nin çekirdek belirtileri üzerinde net bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir(290). Bununla birlikte, seçici yeme alışkanlığı gösteren OSB'li olguların diyet içeriklerinin bağırsak mikrobiyotasını etkilediği, bu nedenle sağlıklı kontrollerden farklılık gösterdiği de yapılan çalışmalarda bildirilmişitr(291).

Tanımlanan bu mekanizmaların heterojen bir kliniğe sahip olan otizmin tüm etiyolojisini yansıtmayabileceği, sadece bir alt grubunu açıklayabileceği düşünülmektedir(217).

2.3. Çalışmamızda Kullanılan Biyolojik Belirteçler

2.3.1. Soluble CD14 (s-CD14)

CD14 (cluster of differentiation 14), monosit ve makrofajların hücre yüzeyinde bulunan bir glikoproteindir. Membrana bağlı (mCD14) ve çözünebilen formu (s CD14) olmak üzere iki formu vardır. m CD14 makrofaj, monosit gibi CD 14 taşıyan hücrelerin yüzeyinde bulunurken, sCD14 plazmada bulunur. s CD14, hücre yüzeyinde CD14 olmayan endotel ve epitel hücrelerinin, bakteriyel ürünleri tanınmasına ve bakterilere karşı aktivasyonuna yardımcı olur(292, 293).

CD14, hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerin hücre yüzeyindeki ligandları tanır ve bunlara bağlanır. Ayrıca, CD 14 lipopolisakkarit (LPS) ve LPS bağlayan proteinler (LBP) için yüksek afiniteli bir reseptör olarak görev yapar. Oluşan CD14-LPS-LBP kompleksi, Toll-like reseptör-4'e (TLR-4) özgü nöroinflamatuar sinyal kaskadını, enfeksiyöz ajanlara karşı aktive eder. Bu aktivasyon sonrası, CD14 monosit/makrofajlardan ayrılabilir ve periferik dolaşıma geçerek, yüzeyinde CD14 bulunmayan hücreleri aktive edebilir. Bu durum, düşük LPS seviyelerinde bile sitokin kaskadının başlamasına neden olabilir. Aktive olan bu sitokin kaskadı, daha önceki çalışmalarda nörogelişimsel bozukluklar ile zayıf ilişkisi olduğu gösterilen tümör nekroz faktör alfa (TNF-α), interlokin-1(IL-1) ve IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açabilir(294).

Hücre yüzeyinden ayrılarak ya da hücreler arası boşluktan salınarak plazmaya geçen sCD14'ün 48 ve 54 kD moleküler ağırlığına sahip iki farklı formu bulunur. Bazı çalışmalarda, sCD14'ün monosit hücre kültür örneklerine eklendiğinde, molekül ağırlığına ve yoğunluğuna bağlı olarak immun sistemi aktive edici ya da inhibe edici özellikler gösterdiği gözlemlenmiştir(293).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, çeşitli ajanlar ile aktivasyon sonrası monositlerden salınımı artan sCD14'ün immun sistem aktivasyonunun erken bir belirteci olabileceğini ileri sürmüştür(295-297). Normal şartlarda yaklaşık 1 µg/ml düzeyinde bulunan serum sCD14'ün travma, sepsis, romatoid artrit gibi hastalıklarda arttığının gösterilmesi bu görüşü desteklemiştir(298).

Bağırsak bakteri florası, mukozal bariyer fonksiyonun sürdürülmesinde, doğal ve kazanılmış immun yanıtın düzenlenmesinde ve bağırsak homeostazını korunmasında önemli role sahiptir. Çeşitli nedenler ile bağırsak bakteri florasınında meydana gelen dengesizliğin, mukozal bariyer fonksiyonlarının bozulmasına ve bakteriyel translokasyona neden olabileceği bildirilmektedir(296). sCD14'ün ise bağırsakta meydana gelen enfeksiyona yanıt olarak gelişen immun aktivasyonun erken bir belirteci olabileceği ve bağırsak duvar geçirgenliğinde meydana gelen bozulmanın bir ölçüsü olarak işlev görebileceği düşünülmektedir(239, 296, 297).

2.3.2. Lipopolisakkarid Bağlayan Protein (LBP)

LBP, bakterisidal/permeability-increasing protein (BPI), fosfolipid ester transfer protein, kolesterol ester transfer protein gibi lipit bağlayıcı protein ailesine ait bir serum glikoproteindir(299). LBP hepatositler ve bağırsak epitel hücreleri tarafından sentezlenir ve normal koşullarda serumda 5 ila 10 mg/ml konsantrasyonlarında bulunur. Akut faz yanıtının artmasıyla birlikte seviyesi 200 mg/ml'ye kadar yükselebilir. LBP seviyesindeki bu artışın, IL-1 ve IL-6'nın aracılık ettiği LBP geninin aktivasyonundan kaynaklandığı belirtilmektedir(299, 300). LBP yoğunluğuna bağlı olarak iki role sahiptir: düşük LBP konsantrasyonları LPS kaynaklı mononükleer hücrelerin aktivasyonunu arttırırken, akut faz reaktanı olarak LBP artışı ise LPS kaynaklı hücresel aktivasyonu uyarır(300).

Bağırsak mikrobiyomunda meydana gelen değişiklikler, bazı mikrobiyal yapıların ve ürünlerinin mukozal bariyerler boyunca hareketini tetikler. Bakteriyel translokasyon olarak da bilinen bu durum, karaciğerden akut faz proteinlerinin salınmasını uyarır. Salınan akut faz proteinlerinden biri de LPS yapının lipit-A kısmına bağlayan LBP'dir. LBP, LPS yapıyı bağlar ve CD14 taşıyan hücrelere sunar. Üçlü bir kompleks haline gelen bu yapı, TLR-4 bağlanarak, sitokin kaskadını aktive eder ve kronik düşük düzeyde inflamatuar bir yanıt(low-grade endotoksemi) oluşur. Oluşan bu yanıtın, obezite, diabet, kardiovasküler rahatsızlıklar başta olmak üzere farklı hastalıkların etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir(299, 301).

Plazma LPS düzeyi kısıtlılıklardan dolayı tespit edilemediği için, LBP low grade endotokseminin bir göstergesi olarak kullanılabilir(301).

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar, beyin ve beyin omurilik sıvısında(BOS) artan LBP düzeylerini, artan oksidatif stres, hücre ölümü ve hasarlı hücre sayısı ile azalan nöronal yoğunluk ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, beyin ve BOS'taki LBP seviyelerinin, serum LBP seviyesi ile korele olduğu da bildirilmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda, LBP'nin nöroinflamasyonun olası bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir(302).

2.3.3. Fekal Kalprotektin

Kalprotektin, kalsiyum ve nadiren çinko bağlayan, esas olarak nötrofillerde bulunan sitoplazmik bir proteindir(303). Nötrofiller, birçok etkene yanıt olarak akut inflamasyonu başlatan immun sistem hücreleridir. Kemotaksis ile bir bölgeye göç eden nötrofiller oksijen radikallerinin üretimini ve sitoplazmik granüllerin (ve kalprotektin) salınımını tetikleyen bir kaskad zincirini başlatır. Salınan sitoplazmik granüller, hidrolitik ve proteolitik pek çok enzim içerir. Nötrofiller, göç ettikleri bölgede mikroorganizmalara karşı savaşırken, bir yandan da çevredeki sağlıklı hücrelere zarar verebilir(304).

Bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarına karşı koruyucu özelliği olan kalprotektin, hücre hasarı veya ölümü sırasında serbest bırakılabilir ve çeşitli vücut sıvılarında bulunabilir. Bu proteinin en önemli özelliği, bağırsaklarda bulunan proteazlara ve pankreas salgılarına karşı dirençli olmasıdır. Ayrıca, dışkıda oda sıcaklığında en az bir hafta boyunca stabil düzeyde kalabileceği de bildirilmektedir(304).

Kalprotektin miktarının, inflamasyonun oluşmasına katkı sağlayan nötrofillerin sayısını yansıttığı ve dışkıda bulunan kalprotektinin bağırsaklardaki nötrofil infiltrasyonun nicel bir belirteci olabileceği düşünülmektedir. Bu görüş, Crohn, Ülseratif kolit gibi inflamatuar bağırsak hastalıklarında yapılan çalışmalar ile desteklenmiştir. Çalışmalardan elde edilen veriler, fekal kalprotektinin (FC) mukozal

inflamasyon düzeyini gösteren makroskobik ve histolojik bulgular ve diğer akut inflamasyon markerları ile iyi korele olduğunu göstermiştir(303, 305).

Girişimsel olmayan bir yöntem ile tespit edilen fekal kalprotektin, inflamatuar bağırsak hastalıkları başta olmak üzere diğer gastrointestinal sistem hastalıklarının tanısında ve izleminde inflamasyon belirteci olarak kullanılmaya başlanmıştır(303, 304). Bununla birlikte bu belirteç son zamanlarda OSB etiyolojisinde intestinal inflamasyonun bir belirteci olarak da çalışılmaya başlanmıştır(306, 307).

Bilimsel yazında otizm ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi inceleyen yayınların çoğunluğu deney hayvanları ile yapılmış olup, klinik çalışma sayısı azdır. Yapılan klinik çalışmaların ise genellikle OSB'li bireyler ile sağlıklı bireylerin bağırsak mikrobiyota içeriğinin karşılaştırılması şeklinde yapıldığı görülmüştür(222). Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin (disbiyozis) sülfür metabolizmasında bozulma, oksidatif stres, inflamasyon veya mitokondriyal disfonksiyon gibi farklı mekanizmalar ile hastalıklara neden olabileceği bildirilmiştir(226). Buradan hareketle, çalışmamızda otizmin etiyolojisinde yer alan hipotezlerden biri olan 'low grade endotoksemi' hipotezi ile disbiyozis arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Ayrıca bağırsak mikrobiyotasının diyet, çevresel koşullar, yerleşim yeri ve genetik gibi pek çok faktörden etkilendiği bilinmektedir(147). Bu etkenlerin, mikrobiyota çalışmalarında önemli kısıtlılıklara neden olabileceği düşünülmektedir(222). Bu etkenleri göz önünde bulundurarak, çalışmamıza OSB'li çocuklar ile benzer genetik yapı, çevresel koşullar ve diyet alışkanlıklarına sahip olan kardeş grubunu da dâhil ettik. Kardeş, kontrol ve olgu grubundan oluşan çalışmamızın, otizm etiyolojisinde bağırsak mikrobiyotasının rolü hakkında farklı bir bakış açısı sağlayacağını düşünmekteyiz.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Amaç

Bu çalışmanın amacı, Otizm Spektrum Bozukluğu tanılı çocuklar ile bu çocukların otizmli olmayan kardeşleri ve sağlıklı kontrol grupları arasında bağırsak bakteri flora değişikliğinin tespit edilip; meydana gelen bu değişikliğin, bağırsak duvar geçirgenliğini ve intetsinal inflamasyonu gösteren biyolojik belirteçler ile ilişkisinin incelenmesidir. Bununla birlikte, OSB'li olguların klinik durumu (CARS toplam puanları dikkate alınarak) ile biyolojik belirteçler ve gastrointestinal sisteme ait belirtiler arasındaki ilişkinin detaylandırılması da amaçlanmaktadır.

3.2. Hipotez

Çalışmamızın hipotezleri;

1. OSB grubu ile kardeş ve kontrol grupları arasında bağırsak bakteri florası içerik ve miktar bakımından farklı olabilir
2. Bu fark, OSB grubunda bağırsak duvar geçirgenliğini arttırarak, sistemik dolaşıma bakteri ve bakteriyel ürünlerin geçişine neden oluyor olabilir.
    - OSB grubunda bakteriyel translokasyonu ve bağırsak duvar geçirgenliğini gösteren Lipopolisakkarid Bağlayıcı Protein (LBP) ve soluble CD 14 parametrelerinin diğer gruplardan farklı saptanması beklenebilir
3. Sistemik dolaşıma geçen bakteriyel ürünler, immun sistemi uyararak düşük düzeyde devamlı inflamasyona neden oluyor olabilir.
    - İnflamasyonun olası göstergelerinden olan fekal kalprotektin'in, OSB grubunda yüksek saptanması olasıdır.
4. OSB grubunun bağırsak mikrobiyota değişiklikleri ve etkileri ile otizm belirti şiddeti ve gastrointetsinal sistem belirtileri arasında ilişki olabilir
    - Bağırsak mikrobiyota genel sayısı ve bakteri alt türleri ile CARS ve GSI puanları arasındaki ilişki saptanabilir.

5. OSB'li olgularda klinik belirtiler, gastrointestinal semptomlar ile ilişkili olabilir
    - Gastrointetsinal sistem şiddet ölçeği(GSI) ile CARS skoraları arasında ilişki olabilir

3.3. Araştırma Tipi

Çalışmamız tek merkezli, randomize kesitsel bir çalışma olarak planlanmış olup; 15.02.2018 tarihinde Atatürk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Komisyonundan etik onay ve 31.01.2018 tarihinde ise Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dâhili Bilimler Kurulu'ndan tez çalışma onamı alınmıştır. Ayrıca, çalışmamız Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir.(Proje Kodu: TSA-2018-6769)

3.4. Örneklem Grubunun Seçilmesi

Etik kurul onayının alınmasının ardından Mart 2018 ile Kasım 2018 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine başvuran, Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) tanısı yeni konulmuş veya OSB tanısı ile kliniğimizde takiplerine devam edilmekte olan, sağlıklı kardeşi olan ve belirlenen dâhil edilme ölçütlerini karşılayan 30 çocuk 'otizm grubu' olarak çalışmaya alınmıştır.

Otizm grubunu oluşturan çocukların kardeşlerinden kardeş grubu için belirlenen dâhil edilme ölçütlerine uyan birisi randomize seçimle 'kardeş grubu' olarak çalışmaya alınmıştır. Tek kardeşler içleme ölçütlerini karşılaması halinde direk çalışmaya alınmıştır.

Çalışmamızın kontrol grubu ise Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri polikliniğine başvuran, gönüllü katılım talebi olan ve kontrol grubu için belirlenen dahil edilme ölçütlerini karşılayan 30 sağlıklı çocuktan oluşmuştur.

3.4.1. Çalışmaya Dâhil Edilme ve Dışlanma Ölçütleri

Otizm Grubunun Çalışmaya Dâhil Edilme Ölçütleri

- DSM-V ölçütlerine göre klinik ve yapılandırılmış görüşmelerle Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı alma
- Çocukların 4 -12 yaş aralığında olması
- Anne-babanın çalışmaya katılımını yazılı onam ile kabul etmesi

Otizm Grubunun Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

- Manyetik Rezonans görüntüleme sonuçlarına göre belirlenmiş Beyin Anomalisi ve fokal nörolojik işaretlerin olması (Nörolojik Bozukluklar; Epilepsi vb)
- Son 2 ay içinde herhangi bir antibiotik ve anti-fungal tedavisi alma
- Probiyotik ya da Prebiotik kullanımı
- Çölyak Hastalığı tanısı veya özel diyet alışkanlığı (Glutensiz diyet, Kazeinsiz diyet, Ketojenik diyet, Yüksek protein diyeti)
- Gastrointestinal sisteme ait (Inflamatuar Bağırsak Hastalıkları) rahatsızlıkların olması
- Akut veya kronik dâhili, nörolojik, metabolik, hematolojik, onkolojik ve infektif hastalığı olması

Kardeş Grubunun Çalışmaya Dâhil Edilme Ölçütleri

- 4-12 yaşlar arası olmak
- Otizm Spektrum Bozukluğu tanısına sahip kardeşe sahip olma
- Anne-babanın çalışmaya katılımını yazılı onam ile kabul etmesi

KardeşGrubunun Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

- Herhangi bir nörolojik veya enfeksiyon hastalığı olması
- Son 2 ay içinde herhangi bir antibiotik ve anti-fungal tedavisi alma
- Probiyotik ya da Prebiotik kullanma

- Çölyak Hastalığı tanısı veya özel diyet alışkanlığı (Glutensiz diyet, Kazeinsiz diyet, Ketojenik diyet, Yüksek protein diyeti
- Geçmişte nörolojik tanı ve tedavi öyküsü bulunması
- Bilinen Gastrointestinal sisteme ait akut ya da kronik hastalıkların olması

Kontrol Grubunun Çalışmaya Dâhil Edilme Ölçütleri

- 4-12 yaşlar arası olmak
- Çalışmaya katılmaya onay vermek

KontrolGrubunun Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

- Herhangi bir nörolojik veya enfeksiyon hastalığı olması
- Son 2 ay içinde herhangi bir antibiotik ve anti-fungal tedavisi alma
- Probiyotik ya da Prebiotik kullanma
- Çölyak Hastalığı tanısı veya özel diyet alışkanlığı (Glutensiz diyet, Kazeinsiz diyet, Ketojenik diyet, Yüksek protein diyeti)
- Geçmişte psikiyatrik veya nörolojik tanı ve tedavi öyküsü bulunması
- Otizm Spektrum Bozukluğu tanısına sahip kardeş, ebeveyn, 1 derece yakın akrabası (amca, dayı) olması
- Gastrointestinal sisteme ait (Inflamatuar Bağırsak Hastalıkları) rahatsızlıkların olması

3.5. Veri Toplama Araçları

3.5.1. Sosyodemografik Veri Formu

Sosyodemografik veri formu, çalışmaya katılmayı kabul eden otizm, kardeş ve kontrol gruplarındaki ebeveynlere sorularak doldurulmuştur. Bu form, ebeveynlere ait sosyodemografik özellikleri (yaş, cinsiyet, eğitim süresi, anne-baba yaşı, anne-baba eğitim düzeyi, anne-baba mesleği, aile yapısı, aylık gelir, çocuk sayısı), çocuğun prenatal ve postnatal gelişim öyküsünü (gebelikte tıbbi veya psikiyatrik hastalık öyküsü, doğum zamanı, doğum sırasında komplikasyon, anne sütü alma, ek gıdaya geçerken yaşanılan sorun), çocuğun gelişim basamaklarını

(desteksiz oturma, yürüme, tek kelimeleri söyleme, cümle kurma, tuvalet alışkanlığı), son iki ay içerisindeki ilaç kullanımını (antibiyotik, vitamin desteği alıp almadığı) ve hastaneye yatış öyküsünü, çocuğun herhangi bir tıbbi tanı durumu ile ilgili bilgileri içermektedir.

Çalışmaya katılan çocukların boy ve kiloları poliklinikte ölçülerek, beden kitle indeksleri (BKI) hesaplanmıştır.

Katılımcıların diyet alışkanlıkları günlük süt ve süt ürünleri (peynir, yoğurt, kefir, ayran), protein içerikli hayvansal gıda(yumurta, et, tavuk, balık), ev yapımı meyve suyu, ekmek (dilim), ekşili meyve(limon, portakal, mandalina) tüketimi ile haftalık sebze, kurubaklagil (nohut, fasulye, mercimek),turşu yeme alışkanlıkları ve çiğ soğan, sarımsak yeme davranışları sorularak tespit edilmiştir. Bu sorular bağırsak bakteri florasını etkileyen fermente gıdalar ve oksalat içeren meyve ve sebzeler göz önüne alınarak hazırlanmıştır.

3.5.2. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (CARS)

Çocukluk otizmi derecelendirme ölçeği (CARS), Schopler ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve günümüzde otizmin ayırıcı tanısında ve taramasında yaygın olarak kullanılan bir değerlendirme aracıdır(308). DSM-IV ile uyumlu olduğu gösterilen bu ölçek, okul öncesi dönemden itibaren tüm yaş grubundaki çocuklara uygulanabilir(309). Davranışların doğrudan gözlemlenmesi ile nesnel ve ölçülebilir bir değerlendirme sunan CARS, otizm belirti şiddetinin ‘hafif-orta’ ve ‘ağır’ olarak derecelendirmesine de olanak sağlar(310).

CARS ‘İnsanlarla İlişki’, ‘Taklit’, ‘Duygusal Tepkiler’, ‘Vücudun Kullanımı’, ‘Nesne Kullanımı’, ‘Değişikliklere Uyum Sağlama’, ‘Görsel Tepkiler’, ‘Dinlenme Tepkileri’, ‘Tat, Koku ve Dokunma Tepkileri ve Kullanımı’, ‘Korku/Ürkeklik’, ‘Sözel İletişim’, ‘Sözel Olmayan İletişim’, ‘Etkinlik Düzeyi’, ‘Entelektüel Yanıtın Düzeyi ve Uygunluğu’ ve en son davranışları otizm tanısı açısından genel olarak değerlendiren ‘Genel İzlenimler’ şeklinde 15 alt başlıktan oluşmaktadır. Otizm spektrum bozukluğunda sık görülen bu davranışlarıın, 1-4 arasında yarım derecelik puanlama ile değerlendirildiği bu ölçekte, toplam puan 15

ile 60 arasında değişim göstermektedir. Çocuğun yaşına göre normal olarak değerlendirilen davranış 1 puan alırken; normalden farklı en ağır davranış 4 puan almaktadır. Puanlamaya göre; "*15-29,5 puan"* alan çocuklar otizm belirtileri göstermemektedir, "*30-36,5 puan"* alan çocuklar klinik olarak "hafif-orta" düzeyde otizm şiddeti, "*37-60 puan"* alanlar ise "ağır" düzeyde otizm şiddeti göstermektedir(38, 311).

CARS, ilk defa Sucuoğlu ve ark. (1996) tarafından Türkçe'ye uyarlanmıştır(312). 2016 yılında Gassaloğlu ve ark. tarafından ise geçerlilik ve güvenirlik analizi yapılmış ve kesim puanı 29,5 olarak belirlenmiştir(313).

3.5.3. Gelişim ve Ruhsal Sağlık Değerlendirmesi – Development and Well-Being Assessment (DAWBA)

DAWBA, 5-17 yaş arası çocuk ve ergenlerin gelişim ve ruh sağlığının değerlendirilmesinde kullanılan yapılandırılmış bir görüşme paketidir. ICD-10 ve DSM-IV tanı ölçütleri baz alınarak hazırlanan bu görüşme paketi, Dursun ve arkadaşları tarafından Türkçe'ye uyarlanmıştır(314). 'Yapılandırılmış Ebeveyn Görüşmesi', 'Öğretmen görüşmesi' ve 11-17 yaş ergenler için 'Yapılandırılmış Görüşme' olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda kullanılabilen DAWBA, yazılı görüşme metni veya bilgisayar uygulaması yoluyla bir görüşmeci tarafından uygulanabileceği gibi ebeveynler, ergenler ve öğretmenlerin kendileri tarafından da uygulanabilir(315).

3.5.4. Gastrointestinal Semptom Şiddet Indeksi [Gastrointestinal Severity Index (GSI)]

Otizmli bireylere eşlik eden gastrointestinal sisteme ait semptomları belirlemek için kullanılan, yüksek değerlerin semptom şiddetiyle paralellik gösterdiği bir ölçektir(250). Kabızlık, diare, dışkının kıvamı ve kokusu, şişkinlik ve karın ağrısı gibi gastrointestinal belirtileri, açıklanamayan gündüz sinirlilik hali ve gece uyanma durumunu içeren soruları kapsar. Sorular 0-1-2 şeklinde puanlanmış ve toplam ölçek puanı 15 olarak hesaplanmıştır(316). 3 ve altı puan alanlar düşük şiddette; 3'ten

fazla puan alanlar ise yüksek şiddette gastrointestinal semptomlara sahip olarak gruplanmıştır(250).

3.6. Mikrobiyoloji Laboratuvar Çalışmaları

3.6.1. Fekal Kalprotektin (Neutrophil Cytoplasmic Protein S100A8/A9) Tayini

Amaç: Sandwich ELİSA metodu ile dışkı örneklerinden spesifik monoclonal antikorlar ile kantitatif kalprotektin tayini amaçlanmıştır.

Kit bilgileri: Çalışmada "Epitope Diagnostics, Inc. EDI™ Quantitative Fecal Calprotectin ELISA Kit Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) for the Quantitative Measurement of Human Calprotectin Level in Stool" kiti kullanıldı. Kit lot no: M418

Fekal örneklerin toplanması: Örnekler kit porsedürüne uygun toplama kaplarında toplandı ve çalışma gününe kadar -20^{o}C'de saklandı.

Çalışma prosedürü: Çalışma üretici firmanın kit prospektüsündeki bilgiler ışığında yapıldı. Öncelikle dondurulan dışkı örnekleri oda ısısında bekletilerek çözüldü. Her örnekten kilitli kapaklı ependorf tüplere 50 mg (yaklaşık bir lup öze) alınarak 2 ml "Extraksiyon Buffer" içinde vortekslenerek homojenize edildi. Daha sonra örnekler 3000g'de 5 dk santrifüj edildi. Partikülsüz süpernatantan 0.15 ml temiz tüplere aktarılarak 1.2'şer ml "Extraction Buffer" eklenerek fazla köpürtmeden yavaşça vortekslendi. Bu işlemlerden sonra örnekler reagenler hazırlanarak tam otomatik ELISA (Radim Alesei) cihazında çalışıldı.

Değerlendirme: ELİSA cihazımızda Okumalar450/630 nm'de (İlk okuma/son okuma) yapılmıştır. Standart curve bu okumalar ile dışkı örneklerinin µ /g olarakhesaplanmıştır. Curve için 4 standart (25-56.2-145-321 µ /g)kullanılmıştır. Kit talimatı doğrultusunda cutt-off 43.2 µ /g olarak kabul edilmiştir.

3.6.2. Lipopolysaccharide-binding Protein (LBP) ve Soluble CD14 (sCD14) Serum Tayinleri

Amaç: Sandwich ELİSA metodu ile serum örneklerinden spesifik monoclonal antikorlar ile kantitatif LBPve sCD14 tayini amaçlanmıştır.

Kit bilgileri: Her iki parametre içinde Biont marka ELISA kitleri kullanılmıştır. LBP için Human Lipopalysaccharide binding protein(LBP) Katalog No: YLA0282HU kiti ve sCD14 için ise Human Soluble cluster of differentiation 14 (sCD14) Katalog No: YLA1581HU kiti kullanılmıştır.

Serum örneklerin toplanması: Kan örnekleri BD (Becton Dickinson) marka sarı kapaklı biyokimya tüplerinde toplandı. Kanlar 20 dk 2000 rpm'de santrifüj edilerek üste kalan supernatant ağzı kilitli kapaklı ependorf tüplere aktarılarak çalışma gününe kadar -20^{o}C'de saklandı.

Çalışma prosedürü: Her iki parametre için çalışma günü serumlar oda ısında çözüldükten sonra hasta dizinleri hazırlanarak vortekslendi. Çalışma firmanın kit prospektüsündeki bilgiler ışığında tam otomatik Radim Alesei ELISA cihazında yapıldı. Çalışmada her iki kit için beşer standart hazırlandı. Standartlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda LBP için 2-4-8-16-32 µg /ml'lik, sCD14 için ise 0.3-0.6-1.2-2.4-4.8 mg /L'lik oranlarda hazırlandı.

Değerlendirme: ELİSA cihazımızdaOkumalar450 nm'de yapılmıştır. Standart curve OD değerleri üzerinde bu iki test okumalar yapılmıştır. Her iki parametre için 0.03mg/L-9 mg/L arsında okuma aralığı ve 0.013 mg/L sensitivitesi olan bir okuma gerçekleştirilmiştir. Normal değer olarak bu iki parametrede çalışan gruba ve kullanılan kite göre bir takım farlılıklar gözlendiği bilinmektedir. Gruplar için bizlerde gruplariçi ROC analizi ve yapılan çalışmalardan örnekler alınarak sCD14 için 0.54 mg /L'yi, LBP için ise 4.28 µg /ml'yi sınır değer olarak alındı.

3.6.3. Bağırsak Bakteri Florası (Mikrobiyata) İncelenmesi

Amaç: RT-PCR metodu ile dışkı örneklerinden spesifik diziler ile kantitatif bakteri NA(NÜKLEİK ASİT) tayini amaçlanmıştır.

Kit bilgileri: Çalışmada dışkıdan DNA ekstraksiyonu için QIAamp Fast DNA Stool Mini kiti kullanıldı.(Cat No./ID: 51604). Quantitect SYBR GREEN PCR kit PCR kiti kullanıldı.

Fekal örneklerin toplanması: Örnekler dört saati geçmeyecek şekilde kit porsedürüne uygun toplama kaplarında toplandı ve çalışma gününe kadar -80ºC'de saklandı.

Çalışma prosedürü: Çalışmada kullanılan primerler www. ncbi.nlm.nih.gov/BLAST 'tan seçilerek SenteBiolab firmasından sentezletildi. Diziler aşağıda verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizilerimiz

Sequence (5′-3′)		Primer Aplikon (bp)	Target	Positive control Reference
TCCTACGGGAGGCAGCAGT	UnivF	~459	total	L. rhamnosis
GGACTACCAGGGTATCTATCCTGTT	UnivR			
GGARCATGTGGTTTATTCGATGAT	Bact934F	~126	Bacteroidetes	B. fragilis
AGCTGACGACAACCATGCAG	Bact1060R			
GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA	Firm934F	~126	Firmicutes	C. perfringens
AGCTGACGACAACCATGCAC	Firm1060R			
CGCGTCYGGTGTGAAAG	F-bifido	~244	Bifidobacterium spp.	B. longum
CCCCACATCCAGCATCCA	R-bifido			
AGCAGTAGGGAATCTTCCA	Lacto-F	~341	Lactobacillus spp.	L. rhamnosus
CACCGCTACACATGGAG	Lacto-R			
TACCHRAGGAGGAAGCCAC	CI-F1	~232	Clostridium cluster I	C. perfringens
GTTCTTCCTAATCTCTACGCAT	CI-R2			
CGCTAATCGGTCAGGTTAAAGAG	341F	70	S.thermophilus	S. thermophilus
CCCTTTACGTTTCACTACCCAAA	411R			
ATACCCTGGTAGTCCACGCT	DS-f	~160	Desulfovibrio spp.	D. idahonensis
CCACATACTCCACCGCTTGT	DSV-r			

Çalışma üretici firmanın kit prospektüsündeki bilgiler ışığında yapıldı. İlk önce Real Time PCR için önce kit kontrolleri ve hazırlıkları yapıldı. 2X qPCR MastermiX içine Oasing resuspension buffer dan 550 µl ilave edilerek reaksiyonda kullanılacak mix hazırlandı. Mix hazırlandıktan sonra hedef spesifik primer/probe mix Prob için kitin içerisinde bulunan beyaz kapaklı RNAse/DNAse free water ile turuncu kapaklı primers/probe mixe 165 µl oranında RNAse/DNAse free water ilave edildi. Yine çalışma kapsamında kullanılıcak olan internal Extraction Control Primer /probe mix için prob kitin içerisinde bulunan beyaz kapaklı RNAse/DNAse free water ile turuncu kapaklı internal extraction control primer/probe mixe 165 µl oranında su ilave edildi.VorteX ve spin yapıldı.

Pozitif Kontroller için ilgili bakterilere (*L. rhamnosis, B. longum, B. fragilis, C.perfringers, S. thermophilus,D. İdahonensis spp.*) ait Templete DNA lar kullanıldı. Hedef Pozitive control template Kontrollerin Çalışma Testi için; dilüsyon hazırlama için 5 adet tüpün içerisine 90 µl Template preparation buffer eklenildi.

- Birinci Tüpe 10 µl Pozitive control templete eklendi, karışımı iyice karıştırıldı.
- Birinci Tüpten ikinci tüpe 10 µl eklendi, karışımı iyice karıştırıldı.
- İkinci tüpten üçüncü tüpe 10 µl eklendi, karışımı iyice karıştırıldı.
- Üçüncü tüpten dördüncü tüpe 10 µl eklendi, karışımı iyice karıştırıldı.
- Dördüncü tüpten beşinci tüpe 10 µl eklendi, karışımı iyice karıştırıldı.

Tablo 2. Çalışma için hazırlanan tüp oranları

Standard Curve	Copy Number
Tube 1 Positive control	2 x 10^5per µl
Tube 2	2 x 10^4 per µl
Tube 3	2 x 10^3 per µl
Tube 4	2 x 10^2 per µl
Tube 5	20 per µl
Tube 6	2 per µl

Yukarıdaki oranlarda pozitif kontrol hazırlandı.

DNA İzolasyonu

Real Time PCR`da dışkıdan DNA elde edilir iken Qiacube cihazı ile Qiagen Stool Fast Kitprotokolü kullanılarak, DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Her reaksiyon için Q Real time PCR Cihazı Protokol Yükleme firma önerilerine göre yapıldı. RT-PCR Aşaması: Aşağıdaki protokole göre reaksiyon başlatıldı.

- 5 dakika 95°C de HOLD
- 10 saniye 95°C Denaturasyon,
- 30 saniye 60°C de Annealing, 40 tekrar.

Değerlendirme: Sonuçlar Rotor-gene Q Series Soft ware analiz sayfası kullanılarak Threshold kısmına testte bulunan değeri yazarak İmport curve aktarılarak yine programda Ct olan kısma M değerini yazarak internal kontrol DNA'nın ve Endogeneus prob/primerin çalışıp çalışmadığına bakıldıktan sonra yorumlandı.

3.7. Uygulama

Prospektif nitelikli çalışmamızda, katılımcılar gönüllülük esasına göre çalışmaya dahil edildi. Bu kapsamda katılımcıların ebeveynlerine çalışma ile ilgili yazılı ve sözel bilgilendirme yapılarak onamları alındı. Katılımcı ile ilgili tanıtıcı bilgilerin bulunduğu **Sosyodemografik veri formu** çalışmaya katılan her üç gruba da uygulandı.

Çalışmaya katılan olgu grubuna; ebeveynler ile yapılan detaylı psikiyatrik muayene ve kliniğimizde uyguladığımız **CARS (Çocukluk Otizmin Derecelendirme Ölçeği), Gelişim ve Ruhsal Sağlık Değerlendirmesi (DAWBA)** ile DSM-V tanı kriterlerine göre Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı konulan çocuklar dahil edildi.

Otizmli olguların 4-12 yaş aralığındaki kardeşlerine ve kontrol grubuna **DAWBA** uygulanarak, genel psikiyatrik değerlendirme yapıldı. Kardeşlerde olası psikiyatrik tanılar tespit edilirken; kontrol grubuna herhangi bir psikiyatrik rahatsızlığı olmayan çocuklar alındı.

Çalışmaya katılan tüm grupların olasıgastrointestinal sisteme ait semptomların değerlendirilmesi için **Gastrointestinal Sistem Semptom Şiddet Envanteri (GSI)** kullanıldı. Katılımcıların diyet alışkanlığı, sosyodemografik veri formu içerisinde yer alan sorular ebeveynlerine sorularak belirlendi. Katılımcıların boy ve kiloları poliklinikte ölçülerek, beden kitle indeksleri (BKI) hesaplandı.

Çalışmaya katılan olgulardan, uygun koşullarda (sabah 8:00-16:00 arasında alınarak ya da bu saatler dışında alınmış ise +4 derecede en fazla 4 saat bekletilerek) **dışkı (gaita)** örneği alınarak laboratuvara ulaştırıldı. Ayrıca,5 ml venöz **kan numunesi** EDTA'lı tüplere alınarak analiz gününe kadar -20 C'de saklandı.

3.8. İstatistiksel Yöntemler

Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum, yüzde ve sayı olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılımına Shapiro Wilk testi ile bakıldı. Sürekli iki bağımsız grup arasındaki kıyaslamalarda normal dağılım şartı sağlandığı durumda İndependent Samples t testi, sağlanmadığı durumda Mann Whitney u testi kullanıldı.İkiden fazla bağımsız grup ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlandığı durumda ANOVA testi, sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis testi kullanıldı.ANOVA testi sonrası post-hoc testler varyanslar homojen olduğunda Tukey testi ile varyanslar homojen olmadığı durumda Tamhane's T2 testi kullanılarak yapıldı.Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testler için Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testleri kullanıldı.Kategorik değişkenler arasındaki kıyaslama ise Ki-kare testi ve Fisher's Exact test ile yapıldı.İki sürekli değişkenin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlanıyorsa Pearson sağlanmıyorsa Spearman korelasyon testi kullanıldı.İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamız; 30 OSB'li bireyden oluşan olgu grubu, bu bireylerin otizmli olmayan ve 4-12 yaşları arasında olan kardeşlerinin dâhil edildiği 30 kişilik kardeş grubu ve 30 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu olmak üzere üç gruptan oluşmaktadır. Çalışma grubumuza başlangıçta 33 otizmli birey ve kardeşi yönlendirilmiş ve yapılan değerlendirme sonucunda kardeşlerden birinin Çölyak Hastalığı; 1 kardeş ve 1 otizmli olguya parazit enfeksiyonu tanısı konması nedeniyle 3 çift çalışmadan çıkartılmıştır. Kontrol grubuna yönlendirilen 38 olgudan biri laksatif, biri son iki ay içerisinde antibiyotik kullanımı olduğu için; 2 kişi CRP yüksekliği nedeniyle ve 4 kişi ise dışkı numunesi getirmediği için çalışmaya dâhil edilmemiştir.

4.1. Psikiyatrik Tanı ve Komorbidite

Çalışmamıza katılan bireylerin ebeveynlerine sosyodemografik veri formu ve yapılandırılmış bir görüşme paketi olan DAWBA uygulandı. Katılımcıların her biri ile klinik görüşme yapılarak mevcut psikiyatrik tanıları değerlendirildi. 30 OSB'li olguya CARS uygulanarak, otizm belirti şiddeti belirlendi. DAWBA değerlendirmesinde, OSB'li grupta 2 kişi (%6,7) özgül fobi, 1 kişi (%3,3) depresif bozukluk, 5 kişi (%16,7) KOKG ve 22 kişi (%73,3) DEHB eş tanısı aldı. Kardeş grubunda ise 3 çocuk (%10) DEHB ve 3 çocuk (%10) anlıksal yetiyitimi tanısı aldı. Kontrol grubunun DAWBA değerlendirmesinde herhangi bir psikiyatrik tanıya rastlanmadı.

4.2. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri

Olgu grubu 26 (%86,7) erkek ve 4 (%13,3) kız; kardeş grubu 16 (%53,3) erkek ve 14 (%46,7) kız; kontrol grubu ise 13 (%43,3) erkek ve 17 (%48,6) kız çocuktan oluşmaktadır. OSB'li grupta erkek cinsiyet oranı, diğer gruplara kıyasla istatiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p= 0.002$). Her üç grubun kendi içerisindeki yaş ortalamasına bakıldığında; olgu grubunun 7,31(±2); kardeş grubunun 9,4(±2,8) ve kontrol grubunun ise 8,5(±2,1) olduğu görülmüştür. Olgu grubu ile kardeş grubu

arasında yaş karşılaştırılması yapıldığında anlamlı fark bulunurken (p=0.005); kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark bulunamamıştır (p=0.142). Beden kitle indeksleri (BKI) bakımından gruplar arasında önemli bir fark tespit edilememiştir(p=0,719). OSB'li birey ve kardeşlerinden oluşan çalışma grubunun 5 tanesi, kontrol grubunun ise 3 tanesi ikiz idi. (Tablo 3)

4.2.1. Çocuğun Gelişimine Ait Bilgiler

Çalışmamıza katılan OSB'li olguların 5'i (%16,7), kardeşlerin 3'ü (%10) ve kontrol grubunun 1'i (%3,3) erken doğum öyküsüne sahip iken; diğerleri zamanında doğmuştu. 90 katılımcının % 42,2'si (n=38) sezaryan ile doğmuş ve %20'si (n=18) perinatal dönemde tıbbi sorun ile karşılaşarak tedavi görmüştü.

Katılımcıların anne sütü ile beslenme ay ortalaması 18(±10,1) olup; %38,9'u (n=35) hazır mama takviyesi almıştı. Olgu grubundan 2 çocukta (%6,7), kardeş grubundan ise 3 (%10) çocukta tıbbi komorbidite tespit edilmişti. Çalışmaya dâhil edilen tüm çocuklar, ülkemizde uygulanan rutin aşı ve gıda takviyesi uygulamalarını almıştı. 7 (%7,8) çocuğun standart uygulama dışında bebeklik döneminde ek gıda takviyesi (omega 3) aldığı, 19'unun (%21,1) hastaneye yatarak tedavi aldığı ve 14 (%15,5) çocuğun ise doğumdan sonraki ilk 6 ay içerisinde antibiyotik kullanımı olduğu görülmüştür. Bu üç durum için gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (p=0,697; p=0,662).

OSB'li bireylerin %76,7'sinin (n=23) konuşma becerisinin olmadığı ve %40'ının (n=12) hala tuvalet alışkanlığı kazanamadığı görüldü. Konuşma becerisi ve tuvalet eğitimi kazananların ise bu yetileri diğer iki gruba göre daha geç kazandığı tespit edildi. Çocukların gelişimine ait bilgiler Tablo 4, 5 ve 6'da özetlenmiştir.

4.2.2. Anneye Ait Tanımlayıcı Bilgiler

Çalışmaya dâhil edilen annelerin sosyodemografik özellikleri karşılaştırıldığında; olgu ve kardeş grubunun annelerinin yaş ortalaması 34,9 (±5,3); kontrol grubunun annelerinin ise 38,16(±5,3) olarak bulunmuş ve gruplar arasında

anlamlı fark tespit edilememiştir(p=0,061). Annelerin eğitim yılı ortalaması ise 6,8 (±4,51) idi ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktaydı (p=<0,001).

Olgu ve kardeş grubunun annelerinin hepsi ev hanımı iken, kontrol grubunun annelerinin 17'si (%56,7) ev hanımı idi. Olguların annelerinde psikiyatrik hastalık oranı %10 (n=3), fiziksel hastalık oranı %26,7 (n=8) iken; kontrol grubunun annelerinde psikiyatrik hastalık oranı %6,7 (n=2), fiziksel hastalık oranı %20(n=6) idi. Her iki grup arasında psikiyatrik ve fiziksel hastalıklar açısından anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,64;p=0,542). Sigara kullanma alışkanlıkları karşılaştırıldığında; olguların annelerinden 4'ünün (%13,3); kontrol grubu annelerinden ise 12'sinin (%40) sigara kullandığı ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görülmüştür (p=0,02).

OSB'li olguların 8'inin ve kardeş grubunun 2'sinin anneleri hamilelik süresince bazı tıbbi sorunlar yaşadıklarını; kontrol grubunun anneleri ise gebeliklerinde herhangi bir sorun ile karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir. Bu durum gruplar arasında anlamlı fark göstermiştir(p=0,003). Çalışmadaki annelere ait özetleyici bilgiler Tablo 7'de gösterilmiştir.

4.2.3. Babaya Ait Tanımlayıcı Bilgiler

Babaların sosyodemografik özelliklerine bakıldığında; olgu (kardeş) grubu ile kontrol grubundaki babaların yaş ortalaması sırasıyla 39,9 (±5,1) ve 42,7 (±6,7) olarak tespit edilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Babalrın eğitim yılı ortalaması 9,26 (±4,2) idi ve olgu ve kardeşlerin babalarını, kontrol grubunun babalarına göre daha düşük eğitim seviyesine sahiptiler (p= <0,001). Çalışmaya katılan babalarda herhangi bir psikiyatrik hastalık bulunmazken; fiziksel hastalık oranı olgu ve kontrol grubunun babalarında %16,7 (n=5) olarak birbiri ile eşit bulunmuştur. Her iki grubun babalarının sigara kullanma alışkanlığı arasında fark bulunmamıştır (p=0,417). (Tablo 8)

Tablo 3. Çocuğa ait tanımlayıcı bilgiler

		OLGU (n=30)		KARDEŞ (n=30)		KONTROL (n=30)		GENEL (n=90)		*P* değeri
Değişken	**Grup**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	
Cinsiyet	Kız	4	11,30%	14	46,70%	17	56,70%	35	38,90%	**0,002[a]**
	Erkek	26	86,70%	16	53,30%	13	43,30%	55	61,10%	
İkiz eşi	Var	5	16,70%	5	16,70%	3	10%	13	14,40%	0,805[b]
	Yok	25	83,30%	25	83,30%	27	90%	77	85,60%	
Doğum zamanı	Prematür	5	16,70%	3	10%	1	3,30%	9	10%	0,284 [b]
	Zamanında	25	83,30%	27	90%	29	96,70%	81	90%	
Doğum Şekli	Sezaryan	10	33,30%	11	36,70%	17	56,70%	38	42,20%	0,141[a]
	Normal	20	66,70%	19	63,30%	13	43,30%	52	57,80%	
Doğumda sorun	Var	8	26,70%	4	13,30%	6	20%	18	20%	0,435[a]
	Yok	22	73,30%	26	86,70%	24	80%	72	80%	

	OLGU GRUBU		**KARDEŞ GRUBU**		**KONTROL GRUBU**		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
YAŞ	7,3 ±2,0	7(4-12)	9,4±2,8	10 (4-14)	8,5± 2,1	9 (4-11)	**0,005**
BKI	17,73±3,01	17,20 (13,4-24,3)	17,45 ±4,16	16,45 (12,8-29)	17,12± 3,23	16,6 (11,4-28,10)	0,719
KARDEŞ SAYISI	3,2± 1,3	3 (2-7)	3,1±1,3	3 (2-7)	2,6±1,4	3 (1-5)	0,636

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

Tablo 4. Çocuğun Gelişimine Ait Bilgiler I

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
Formüla mama ile beslenme	Var	15	50,0%	8	26,7%	12	40,0%	35	38,90%	
	Yok	15	50,0%	22	73,3%	18	60,0%	55	61,10%	0,177[a]
Gıda alerjisi	Var	4	13,3%	0	0,0%	2	6,7%	6	6,70%	
	Yok	26	86,7%	30	100,0%	28	93,3%	84	93,30%	0,159[b]
Ek gıdaya geçerken yeme reddi	Var	11	36,7%	0	0,0%	0	0,0%	11	12,2%	
	Yok	19	63,3%	30	100,0%	30	100,0%	79	87,80%	**0,00[b]**
Yemek seçme	Var	19	63,3%	2	6,7%	1	3,3%	22	24,40%	
	Yok	11	36,7%	28	93,3%	29	96,7%	68	75,60%	**0,00[a]**
Bebeklik dön.(ilk 6 ay) Antibiotik kullanımı	Var	5	17,2%	3	10,7%	6	20,0%	14	16,10%	
	Yok	24	82,8%	25	89,3%	24	80,0%	73	83,90%	0,667[b]
Olgu tıbbi hst	Var	2	6,7%	3	10,0%	0	0,0%	5	5,60%	
	Yok	28	93,3%	27	90,0%	30	100,0%	85	94,40%	0,126[a]
Hastaneye yatarak tedavi olma	Evet	10	33,3%	4	13,3%	5	16,7%	19	21,1%	
	Hayır	20	66,7%	26	86,7%	25	83,3%	71	78,8%	0,126[a]
Bebeklik döneminde gıda takviyesi	Var	3	10,0%	3	10,0%	1	3,3%	7	7,80%	
	Yok	27	90,0%	27	90,0%	29	96,7%	83	92,2%	0,692[b]

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

Tablo 5. Çocuğun Gelişimine ait bilgiler -II

	OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
	mean±std	**medyan(min/max)**	**mean±std**	**medyan(min/max)**	**mean±std**	**medyan(min/max)**	**P değeri**
Anne sütü alma(ay)	19,1 ± 12,6	18 (0-60)	17,9 ± 8,7	18 (0-36)	16,3 ± 8,7	20 (2-26)	0,873
Yürüme başlama(ay)	21,6 ± 13,4	16,5 (11-60)	13,3± 3,2	12 (10-24)	11,9 ± 1,3	12 (9-14)	**0,00**
Tek kelime söyleme(ay)	40,9 ± 20,7	36 (9-84)	17,4±14,1	12 (8 - 72)	10,5 ± 2,4	10 (7-15)	**0,00**
Tuvalet eğitimi (ay)	56,2 ± 28,3	54 (24-120)	28,4 ± 5,5	27,5 (18-36)	29,4 ± 7,2	30 (18-48)	**0,00**

Tablo 6. Çocuğun Gelişimine ait bilgiler -III

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
konuşma becerisi	Var	8	26,7%	30	100,0%	30	100,0%	68	75,50%	
	Yok	22	73,3%	0	0,0%	0	0,0%	22	24,50%	**0,00[a]**
cümle kurma becerisi	Var	7	23,3%	30	100,0%	30	100,0%	67	74,40%	
	yok	23	76,7%	0	0,0%	0	0,0%	23	25,60%	**0,00[a]**
tuvalet eğitimi	Var	18	60,0%	30	100,0%	30	100,0%	78	86,70%	
	Yok	12	40,0%	0	0,0%	0	0,0%	12	13,30%	**0.00[b]**

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

Tablo 7. Anneye ait Tanımlayıcı Bilgiler

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
Eğitim	okuma-yazma yok	6	20,00%	6	20,00%	0	0,00%	12	13,30%	**<0,001**
	İlkokul	18	60,00%	18	60,00%	5	16,70%	41	45,50%	
	Ortaokul	4	13,30%	4	13,30%	6	20,00%	14	15,50%	
	Lise	1	3,30%	1	3,30%	7	23,30%	9	10,00%	
	Üniversite	1	3,30%	1	3,30%	12	40,00%	14	15,50%	
Çalışma durumu	Çalışmıyor	30	100,00%	30	100,00%	17	56,70%	77	85,60%	**<0,001[b]**
	Çalışıyor	0	0,00%	0	0,00%	13	43,30%	13	14,40%	
Psikiyatrik hastalık	Var	3	10,00%	3	10,00%	2	6,70%	8	8,90%	1,00[b]
	Yok	27	90,00%	27	90,00%	28	93,30%	82	91,10%	
Fiziksel hastalık	Var	8	26,70%	8	26,70%	6	20,00%	22	24,40%	0,786[a]
	Yok	22	73,30%	22	73,30%	24	80,00%	68	75,60%	
Sigara Kullanımı	Yok	26	86,70%	26	86,70%	18	60,00%	70	77,80%	**0,016[a]**
	Var	4	13,30%	4	13,30%	12	40,00%	20	22,20%	
Gebelikte tıbbi sorun	Var	8	26,70%	2	6,70%	0	0,00%	10	11,10%	**0,003[b]**
	Yok	22	73,30%	28	93,30%	30	100,00%	80	88,90%	

	OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
ANNE YAŞI	34,9 ±5,3	35 (25-44)	34,9 ±5,3	35 (25-44)	38,1± 5,3	38 (30-50)	0,065

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

Tablo 8. Babaya Ait Bilgiler

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
Eğitim	okuma-yazma yok	1	3,30%	1	3,30%	0	0,00%	2	2,20%	**<0,001**
	İlkokul	17	56,70%	17	56,70%	0	0,00%	34	37,70%	
	Ortaokul	2	6,70%	2	6,70%	2	6,70%	6	6,60%	
	Lise	9	30,00%	9	30,00%	8	26,70%	26	28,80%	
	Üniversite	1	3,30%	1	3,30%	20	66,70%	22	24,40%	
Çalışma durumu	Çalışıyor	30	100,00%	30	100,00%	30	100,00%	90	100%	
Psikiyatrik Hst	Yok	30	100,00%	30	100,00%	30	100,00%	90	100%	
Fiziksel hastalık	Var	5	16,70%	5	16,70%	5	16,70%	15	16,70%	1,00[a]
	Yok	25	83,30%	25	83,30%	25	83,30%	75	83,30%	
Sigara Kullanımı	Yok	12	40,00%	12	40,00%	9	30,00%	33	36,60%	0,65[a]
	Var	18	60,00%	18	60,00%	21	70,00%	57	63,30%	
Alkol Kullanımı	Yok	28	93,30%	28	93,30%	27	90,00%	83	92,20%	1,00[b]
	Var	2	6,70%	2	6,70%	3	10,00%	7	7,70%	

	OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
BABA YAŞI	39,9 ±5,1	40 (29-48)	39,9 ±5,1	40 (29-48)	42,7± 6,7	42 (30-58)	0,191

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

4.2.4. Aile Yapısına Ait Tanımlayıcı Bilgiler

Çalışmaya katılan ailelerin büyük çoğunluğunun (%84,7) çekirdek aile olarak; %15,3'ünün ise geniş aile olarak yaşadığı ve her iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü(p=0,079). Kontrol grubunun hepsi kentsel alanda yaşarken; olgu grubunun %40'ı (n=12) kırsal alanda yaşamaktaydı. Yerleşim yerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur(p=0,000). Olgu grubunun 5'inin (%16,7), kontrol grubunun ise 2'sinin (%6,7) ailesinde psikiyatrik hastalık olduğu öğrenilmiş ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,228).Olgu ve kardeş grubunun ailelerinin büyük çoğunluğunun aylık gelirleri (1000 ve altı; 1000-2000) düşüktü (n=26, %86,7).(Tablo 9)

Tablo 9. Aileye Ait Bilgiler

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
Ailetipi	Çekirdek aile	23	76,7%	23	76,7%	27	90,0%	73	81,10%	
	Geniş aile	7	23,3%	7	23,3%	2	6,7%	16	17,70%	
	Parçalanmış aile	0	0,0%	0	0,0%	1	3,3%	1	1,20%	0,181[b]
Ailede Psikiyatrik hst	Var	5	16,7%	5	16,7%	2	6,7%	12	13,30%	
	Yok	25	83,3%	25	83,3%	28	93,3%	78	86,60%	0,47[b]
Aile içi sorun	Hiç yok	10	33,3%	10	33,3%	3	10,0%	23	25,55%	
	Her evde olduğu kadar	19	63,3%	19	63,3%	23	76,7%	61	67,77%	
	Çok sık	1	3,3%	1	3,3%	4	13,3%	6	6,66%	0,083[b]
Yerleşim yeri	Kentsel	18	60,0%	18	60,0%	30	100,0%	66	73,30%	
	Kırsal	12	40,0%	12	40,0%	0	0,0%	24	26,60%	**0,00[a]**

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

4.2.5. Beslenme Alışkanlıklarına Ait Bilgiler

OSB'li bireylerin % 36,7'sinde (n=11) ek gıdaya geçerken yeme reddi olduğu; % 63,9'unun (n=19) ise yemeklerde seçici olduğu çoğunlukla karbonhidrat ağırlıklı, tek tip beslenmeyi tercih ettikleri öğrenildi. Her iki durum, OSB'li grup ile kardeş ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (p=0,00).

Gruplar arasında günlük süt ve süt ürünleri tüketimi (yoğurt, kefir, ayran, peynir vb.) (p=0,197), hayvansal gıda alımı (yumurta, et, tavuk vb.) (p=0,064) ve günlük tüketilen ekmek dilim sayısı (p=0,162) bakımından anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca haftalık sebze tüketimi (p=0,054), haftalık turşu yeme alışkanlığı (p=0,162) ve çiğ soğan-sarımsak yeme durumu (p=0,782) da gruplar arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Katılımcıların günlük ev yapımı meyve suyu tüketimi (p=0,029), günlük ekşili meyve (mandalina, limon, portakal vb.) yeme alışkanlığı (p=0,042) ve haftalık kurubaklagil (nohut, fasulye, mercimek) tüketimi (p=0,009) gruplar içerisinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi.

Ev yapımı meyve suyu tüketmeyen 5 çocuğun, ekşili meyve sevmeyen 6 çocuğun ve kurubaklagil yemeyen 6 çocuğun tamamının OSB'li grupta olduğu görüldü. Haftalık sebze tüketimi bakımından gruplar arasında analmlı farklılık saptanmamasına rağmen; sebze tüketmeyen çocuklardan %75'inin (n=9) de olgu grubunda olduğu saptandı. Katılımcıların diyet alışkanlıklarına ait bilgiler Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10. Diyet İçeriği

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
Süt ve süt ürünleri tüketimi	Günde 1-2 kez	12	40,00%	14	46,70%	16	53,30%	0,197
	Günde 3-4 kez	8	26,70%	11	36,70%	13	43,30%	
	Günde 5 ve fazla	2	6,70%	2	6,70%	0	0,00%	
	Tüketmez	5	16,70%	2	6,70%	0	0,00%	
	Nadir	3	10,00%	1	3,30%	1	3,30%	
Hayvansal protein tüketimi (et, tavuk, balık, yumurta)	Günde 1-2 kez	21	70,00%	16	53,30%	23	76,70%	0,064
	Günde 3-4 kez	4	13,30%	8	26,70%	6	20,00%	
	Tüketmez	3	10,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Nadir	2	6,70%	6	20,00%	1	3,30%	
Ev yapımı meyve suyu tüketimi	Günde 1-2 kez	9	30,00%	12	40,00%	13	43,30%	**0,029**
	Günde 3-4 kez	5	16,70%	6	20,00%	1	3,30%	
	Tüketmez	5	16,70%	0	0,00%	0	0,00%	
	Nadir	11	36,70%	12	40,00%	16	53,30%	
Ekmek dilimi	Günde 1-2 dilim	8	26,70%	6	20,00%	13	43,30%	0,162
	Günde 3-4 dilim	9	30,00%	14	46,70%	9	30,00%	
	Günde 5 ve fazla	10	33,30%	10	33,30%	8	26,70%	
	Nadir	3	10,00%	0	0,00%	0	0,00%	
Sebze	Haftalık 1-2 kez	10	33,30%	16	53,30%	17	56,70%	0,054
	Haftalık 3-4 kez	7	23,30%	10	33,30%	8	26,70%	
	Haftalık 5 ve fazla	1	3,30%	1	3,30%	0	0,00%	
	Tüketmez	9	30,00%	2	6,70%	1	3,30%	
	Nadir	3	10,00%	1	3,30%	4	13,30%	
Turşu yeme sıklığı	Haftalık 1-2 kez	7	23,30%	14	46,70%	12	40,00%	0,162
	Haftalık 3-4 kez	2	6,70%	4	13,30%	4	13,30%	
	Haftalık 5 ve fazla	1	3,30%	2	6,70%	0	0,00%	
	Nadir	20	66,70%	10	33,30%	14	46,70%	
Çiğ soğan-sarımsak yeme	Yer	10	33,30%	8	26,70%	11	36,70%	0,782
	Yemez	20	66,70%	22	73,30%	19	63,30%	
Kurubaklagil (nohut,fasulye,mercimek) tüketimi	Günde 1-2 kez	20	66,70%	26	86,70%	14	46,70%	**0,017**
	Günde 3-4 kez	4	13,3%	4	13,30%	16	53,30%	
	Tüketmez	6	20%	0	0%	0	0%	
Ekşili meyve (limon, mandalina) tüketimi	Haftalık 1-2 kez	6	20%	13	43,30%	7	23,30%	**<0,001**
	Haftalık 3-4 kez	9	30%	11	36,70%	17	56,70%	
	Haftalık 5 ve fazla	3	10%	1	3,30%	3	10%	
	Tüketmez	6	20%	0	0%	0	0%	
	Nadir	6	20%	5	16,70%	3	10%	

4.3. Otizm Klinik Belirti Şiddeti İle Gastrointestinal Semptomlar Arasındaki İlişki

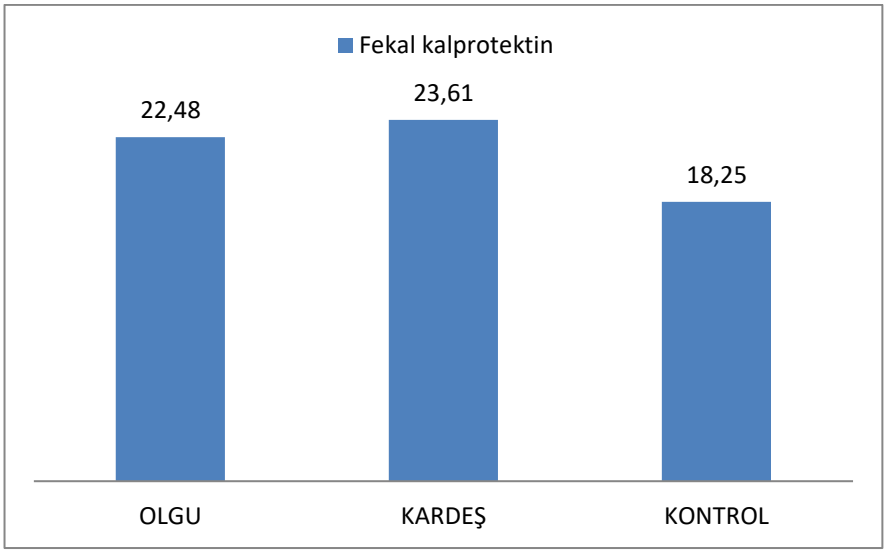
Tüm katılımcılara doldurulan Gastrointestinal Sistem Semptom Şiddet Ölçeği(GSI), OSB'li grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0,000). Kardeş grubunun tamamının, kontrol grubunun ise %96,7'sinin (n=29) GSI puanları düşük şiddette (≤ 3) belirlenmiştir. Olgu grubunun ise %43,3'ünün (n=13) GSI puanları yüksek şiddette saptanmıştır. GSI puanları yüksek olan çocukların aldıkları puanların ortalaması 3 (±2,5)olarak tespit edilmiştir.

OSB'li bireylere doldurulan CARS ölçeği puan ortalaması 40,8(±5,3) idi. Otizmli çocukların 23'ü (% 76,70) CARS puanlarına göre ağır düzeyde klinik belirtilere sahip idi.

Otizm klinik belirti şiddetini gösteren CARS ölçek puanları ile gastrointestinal semptomları arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir (r=0,512/p=0,004 orta düzeyde korelasyon). (Tablo 11)

4.4. Gruplar Arası İnflamasyon Düzeyine İlişkin Veriler

Fekal kalprotektinin en yüksek medyan değeri kardeş grubunda, en düşük medyan değeri ise kontrol grubunda tespit edilmiştir (Grafik 1). Gruplar içerisindeki bu dağılım, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir (p=0,947). (Tablo 12)

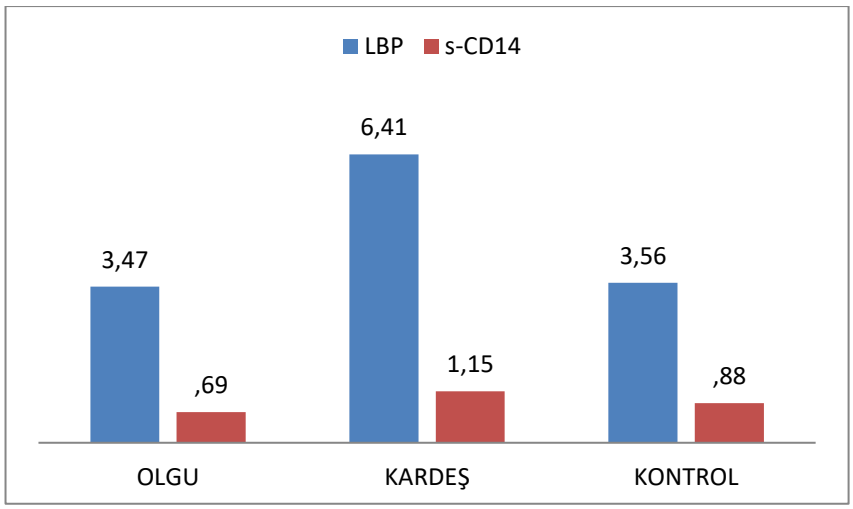


Grafik 1. İnflamasyon marker düzeyinin gruplar içerisinde dağılımı

4.5. Gruplar Arası Bakteriyel Translokasyon Belirteçlerinin Dağılımı

s-CD 14 ve LBP düzeylerine ait en yüksek medyan değer kardeş grubunda, en düşük medyan değer ise olgu grubunda ölçülmüştür (Grafik 2).

Kardeş grubunun değerleri, olgu ve kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılık göstermiştir (sırasıyla LBP için p=0,001/p=0,000; s-CD14 için p=0,000/p=0,001). Ancak, s-CD14 ve LBP değerleri bakımından, olgu ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla LBP için p=0,658; s-CD14 için p=0,320). (Tablo 12)



Grafik 2. Bakteriyel translokasyon ve bağırsak duvar geçirgenliğini gösteren belirteçlerin serum düzeylerinin gruplar içerisinde dağılımı

Tablo 11. Otizm klinik belirti şiddeti ve Gastrointestinal semptom belirti şiddeti

		OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		GENEL		
Değişken	**Gruplar**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**P değeri**
CARS Otizm şidddet düzeyi	Hafif-orta	7	23,30%							
	Ağır	23	76,70%							
Gastrointestinal semptom şiddet düzeyi (GSI)	Düşük	17	56,70%	30	100,00%	29	96,70%	76	84,40%	**0,00[b]**
	Yüksek	13	43,30%	0	0,00%	1	3,30%	14	15,60%	

	OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
GSI puanları	3±2,5	2 (0-8)	0,3±0,5	0 (0-2)	0,3±0,5	0 (0-2)	**0,00**
CARS puanı	40,8 ± 5,3	40,8 (30-51,5)					

Tablo 12. Gruplar arası biyolojik belirteçlerin dağılımna ilişkin veriler

	OLGU GRUBU		KARDEŞ GRUBU		KONTROL GRUBU		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
LBP (µg/ml)	4,09±1,80	3,47(2,00-8,74)	6,16±2,40	6,41(2,19-12,19)	3,73±1,32	3,56 (2,00-6,93)	**0,00[a]**
s-CD14(mg/L)	0,83±0,44	0,68 (0,39-2,29)	1,25±0,46	1,14 (0,54-2,24)	0,86±0,34	0,88 (0,48-1,73)	**0,00[a]**
Fekal kalprotektin (µg/g)	161,93±465,72	22,48 (0,00-2140)	100,26±386,93	23,60 (0,07-2140)	109,85±271,85	18,24 (0,00-1002,08)	0,947

a. Pearson Chi-Square Test b. Fisher's Exact Test

Tablo 13. Gruplar arası Bağırsak Bakteri Florasına ilişkin veriler

	OLGU GRUBU (copy/ml)		KARDEŞ GRUBU (copy/ml)		KONTROL GRUBU (copy/ml)		
	mean±std	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**mean±std**	**medyan(min-max)**	**P değeri**
Genel	517.027.008	74.247.689	194.785.677	35.828.620	717.239.032	298.488.444	**0,001**
	±1.660.780.878	(2.000.000-8.984.695.665)	±551.273.423	(2.215.731-2.979.875.717)	±1.350.996.316	(11.217.079-6.984.695.665)	
Bacteroidetes	371168367	27.992.404	224.653.854	14.250.240	822.175.369	52.560.485	0,13
	±1.556.857.990	(564.098-7.675.217.201)	±812.088.256	(464.927-4.420.025.041)	±2.590.292.172	(464.927-13.774.451.836)	
Firmicutes	539311852	97.834.925	175.618.100	39.039.690	600.582.912	170.520.562	**0,008**
	±1.421.283.726	(2.184.443-7.524.211.445)	±320.431.860	(848.698-1.204.720.831)	±1.460.551.869	(16.006.133-7.990.946.627)	
Bifidobacterium	5468718	1.229.250	2.867.128	1.249.694	18.042.112	5.272.356	**0,000**
	±9.097.939	(5.741-39.087.718)	±5.934.948	(21.458-29.523.989)	±29.260.693	(125.499-94.425.832)	
Lactobacillus	477394	80,32	695,716	62,596	822,026	160	0,359
	±1.128.103	(4.421-5.749.040)	±2.256.540	(5.034-10.583.703)	±1.926.126	(8.110-8.393.395)	
Clostridium cluster	11713782	3.131.148	11.422.126	462,82	14.439.021	1.370.996	0,185
	±18.701.308	(3.583-75.173.911)	±27.888.902	(4.075-114.511.417)	±29.157.945	(3.803-114.511.417)	
S.thermophilus	676352	12,407	160,399	16,279	143,857	23,939	0,536
	±2.473.099	(174-12.940.906)	±353.222	(935-1.227.783)	±303.641	(193-1.227.783)	
Desulfovibrio	46020630	5.603.298	10.123.782	1.932.847	29.716.180	4.501.074	0,412
	±177.220.204	(66.935-971.586.780)	±19.554.389	(66.935-74.161.713)	±102.758.245	(140.369-565.792.764)	
Bacter./Firmicut.	0,780±0,865	0,432 (0,01-3,03)	6,152 ±28,66	0,46 (0,01- 157,52)	2,74± 9,79	0,38 (0,00-54,18)	0,892

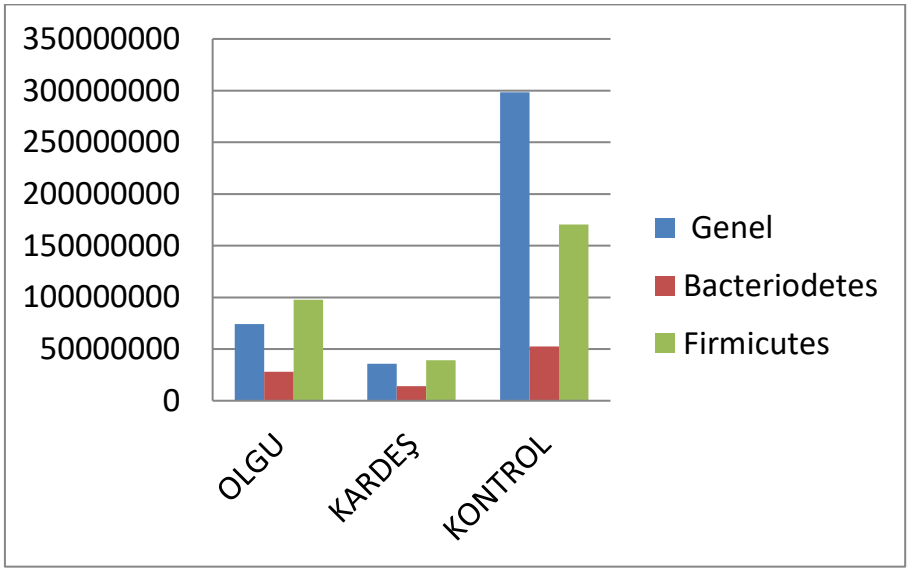
4.6. Gruplar Arası Bağırsak Bakteri Florasına İlişkin Veriler

Genel bakteriyal yük miktarı medyan değerlerine bakıldığında, kontrol grubunun bakteriyal yükünün diğer iki gruba kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,001).

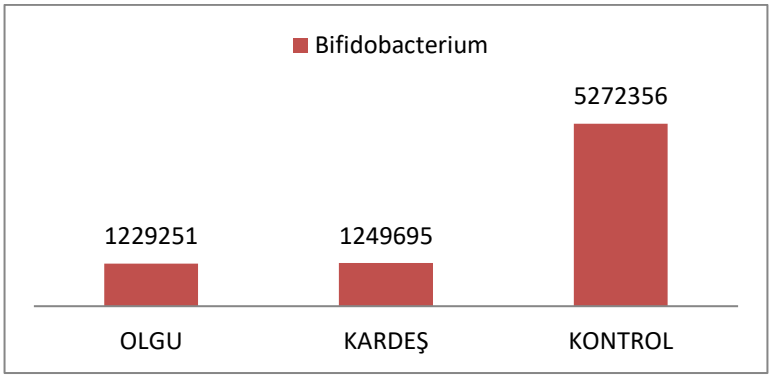
Bakteri alt türleri incelendiğinde *Bacteroidetes*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Desulfovibrio* türleri ve *S. thermophilus* alt türü arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken*; Firmicutes ve Bifidobacterium* türleri arasında fark bulunmuştur.

Firmicutes şubesi kopya sayısının medyan değeri en çok kontrol grubunda (170.520.562 (min16.006.133- max 7.990.946.627)) en az ise kardeş grubunda (39.039.690 (min 848.698- max1.204.720.831)) tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile kardeş grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken(p=0,008); olgu grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Bifidobacterium cinsinin medyan değerine bakılıdığında ise olgu ve kardeş gruplarında bu değerin azaldığı ve bu durumun, kontrol grubu ile kardeş ve olgu grupları arasında istatsitiksel farklılık gösterdiği bulunmuştur.(p=0,000). Tablo 13'de bağırsak mikrobiyota alt türlerine ait veriler bulunmaktadır.



Grafik 3. Gruplar arası Bağırsak Bakteri Florası dağılımı



Grafik 4. Bifidobacterium türünün gruplar içerisinde dağılımı

4.7. İnflamasyon Düzeyi Ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti Arasındaki Ilişkiye Ait Veriler

Fekal kalprotektin ile olgu grubunun CARS puanları arasında pozitif korelasyon saptanmış (r=0,369/p= 0,049zayıf korelasyon). CARS alt ölçek puanlarına bakıldığında ise ilişki kurma, bedenin kullanımı, görsel tepki ve sözel iletişim maddeleri arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır. (sırasıyla r=0,389 p=0,037; r=0,400 p=0,032/ r=0,444 p= 0,016; r=0,515 p=0,004) Sözel iletişim maddesi orta düzeyde korelasyon gösterirken; diğerleri zayıf düzeyde korelasyon göstermiştir (r=0,515 p=0,004)

4.8 Bakteriyel Translokasyon ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastroinetstinal Semptomlar Arasındaki Ilişkiye ait veriler

LBP ile s-CD14 değerleri kendi içerisinde pozitif korelasyon göstermektedir (r=0,621/p=0,000orta düzeyde korelasyon). LBP ile CARS ve GSI skorları arasında herhangi bir ilişki saptanmamış iken; s-CD14, CARS puanı ile zayıf ilişki göstermiştir (r=0,407/p=0,026zayıf korelasyon). CARS alt ölçeklerine bakıldığında ise LBP beden kullanımı ile, s-CD14 ise sözel iletişim ile zayıf düzeyde ilişkili bulunmuştur.(sırasıyla r=0,387 p=0,35; r= 0,416 p=0,22)

Ayrıca, CARS ölçek puanları ile GSI puanları arasında pozitif korelasyon da tespit edilmiştir (r=0,512/p=0,004 orta düzeyde korelasyon).

Biyolojik belirteçler ile CARS ve GSI ölçekleri arasındaki ilişki Tablo 14 ve 15'te verilmiştir.

Tablo 14. Bakteriyel Translokasyon ile Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastroinetstinal Semptomlar Arasındaki İlişkiye ait veriler

		CARS	GSI	s-CD14	LBP	Fekal Kalp
LBP	R	0,292	0,024	**0,596**		0,029
	P	0,118	0,823	**0,00**		0,793
s-CD14	R	**0,407**	-0,148		**0,596**	0,036
	P	**0,026**	0,165		**0,00**	0,74
Fekal Kalp	R	**0,369**	0,126	0,036	0,029	
	P	**0,049**	0,247	0,74	0,793	
CARS	R		**0,512**	**0,407**	0,292	**0,369**
	P		**0,004**	**0,026**	0,118	**0,049**
GSI	R	**0,512**		-0,148	0,024	0,126
	P	**0,004**		0,165	0,823	0,247

Tablo 15. Biyolojik belirteçler ile CARS alt ölçek puanlarının korelasyonu

Biyolojik belirteç		CARS puan	İnsan İlişkileri	Taklit	Duygusal tepkiler	Beden Kullanımı	Nesne Kullanımı	Değişikliğe uyum	Görsel Tepki	Dinleme tepkisi	Tatma, koklama, dokunma	Korku/ sinirlilik	Sözel iletişim	Sözel olmayan iletişim	Etkinlik düzeyi	Zihinsel tepki düzeyi	Genel izlenim
LBP	R	,292	,095	,148	,107	**,387***	,221	,261	,038	,133	,188	,186	,310	,046	,294	,262	,180
	P	,118	,616	,437	,574	**,035**	,241	,164	,843	,484	,319	,326	,096	,810	,115	,162	,342
s-CD14	R	**,407***	,216	,303	,277	,351	,279	,299	,248	,203	,151	,224	**,416***	,124	,335	,433*	,308
	P	**,026**	,252	,104	,138	,057	,135	,108	,186	,282	,427	,233	**,022**	,515	,070	,017	,098
Fecal Calp cons	R	**,369***	**,389***	,271	,306	**,400***	,351	,083	**,444***	,268	,097	,073	**,515****	,254	,134	-,131	,294
	P	**,049**	**,037**	,155	,107	**,032**	,062	,670	**,016**	,160	,618	,705	**,004**	,184	,488	,498	,121

4.9. Bağırsak Mikrobiyota Değişiklikleri ile Bakteriyel Translokasyon Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Bağırsak duvar geçirgenliği ve nöroinflamasyonun olası bir göstergesi olan LBP, OSB'li grupta Clostridium cluster ve Bifidobacterium ile negatif korelasyon (sırasıyla C. cluster için r= -0,520,p=0,005 orta düzeyde ilişki; Bifidobacterium için r= -0,397, p=0,030 zayıf korelasyon) göstermiştir. Kardeş grubunda ise LBP genel bakteri kopya sayısı ile zayıf negatif korelasyon göstermiştir (r= -0,426, p=0,019).Kontrol grubunda ise LBP ile herhangi bir korelasyon saptanmamıştır.

Bağırsak duvar geçirgenliğinin bozulmasının ve immun aktivasyonun olası erken belirteci olan s-CD14'ün kıyaslamalarına bakıldığında; OSB'li grupta Firmicutes şubesi, Bifidobacterium ve Clostridum cluster ile aralarında ters yönlü bir ilişki saptanmıştır. (sırasıyla Firmicutes için r= -0,385, p=0,036 zayıf korelasyon; Bifidobacterium için r= -0,396, p=0,030 zayıf korelasyon; C.cluster için r= -0,483,p=0,009 zayıf korelasyon) Kontrol grubunda herhangi bir ilişki bulunmamış iken; kardeş grubunda s-CD14 ile genel kopya sayısı, Firmicutes şubesi ve Desulfovibrio arasında negatif korelasyon bulunmuştur. (sırasıyla genel kopya sayısı için r= -0,375, p=0,041 zayıf korelasyon; Firmicutes için r= -0,412, p=0,024 zayıf korelasyon; Desulfovibrio için r= -0,445,p=0,014 zayıf korelasyon)

4.10. Bağırsak Mikrobiyota Değişiklikleri ile İnflamasyon Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Bağırsaktaki lokal inflamasyonun olası göstergesi olan fekal kalprotektin, OSB'li grupta Clostridium cluster ile ters yönlü zayıf bir ilişki (r=- 0,393, p=0,043 zayıf korelasyon) gösterirken; kontrol grubunda ise Streptococus thermophilus ile pozitif bir ilişki göstermiştir (r=0,586, p=0,002 orta düzeyde pozitif korelasyon). Kardeş grubunda ise herhangi bir anlamlı korelasyon saptanamamıştır.

Gruplar içerisinde LBP,s-CD14 ve fekal kalprotektinin, genel mikrobiyota yükü ve bakteri alt türleri ile kıyaslanması sonucunda elde edilen veriler Tablo 16'da özetlenmiştir.

4.11. Bağırsak Mikrobiyorta Değişiklikleri İle Otizm Klinik Belirti Şiddeti ve Gastrointestinal Semptomlar Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

GSI ve CARS puanları ile bağırsak bakteri florası arasındaki ilişkiye bakıldığında anlamlı bir korelayon saptanmamıştır.

Ayrıca CARS toplam puanı hafif-orta ile ağır olanlar arasında ve GSI puanları yüksek ile düşük olanlar arasında bağırsak mikrobiyotası ve biyolojik belirteçler kıyaslanmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 17)

Tablo 16. Gruplar arası Biyolojik Belirteçler ile Bağırsak Bakteri Florası arasındaki ilişkiye ait veriler

GRUP			Genel	Bacteroide-tes	Firmicutes	Bifidobac-terium	Lactobacil-lus	Clostridum cluster	S.thermo-philus	Desulfo-vibrio
OLGU	LBP	R	-,181	-,088	-,283	**-,397***	-,128	**-,520****	-,050	-,149
		P	,339	,683	,130	**,030**	,515	**,005**	,797	,432
	s-CD14	R	-,255	-,063	**-,385***	**-,396***	-,156	**-,483****	,046	-,160
		P	,174	,770	**,036**	**,030**	,427	**,009**	,811	,399
	Fekal kalprotektin	R	-,216	-,028	-,241	-,210	-,327	**-,393***	,163	,101
		P	,260	,898	,207	,275	,090	**,043**	,397	,601
KARDEŞ	LBP	R	**-,426***	-,287	-,259	-,240	,073	-,368	,071	-,273
		P	**,019**	,124	,167	,218	,747	,059	,786	,145
	s-CD14	R	**-,375***	-,033	**-,412***	-,113	,047	-,263	,298	**-,445***
		P	**,041**	,864	**,024**	,567	,836	,185	,245	**,014**
	Fekal kalprotektin	R	,254	,188	,071	-,105	,008	,010	-,043	,093
		P	,175	,321	,708	,594	,970	,959	,870	,626
KONTROL	LBP	R	,221	,243	,211	,027	-,023	,182	-,214	,163
		P	,248	,204	,272	,890	,907	,346	,294	,397
	s-CD14	R	,364	,212	,200	-,085	-,016	,301	,023	,001
		P	,052	,270	,298	,663	,936	,112	,910	,997
	Fekal kalprotektin	R	,067	,101	,167	,137	-,134	,298	**,586****	,075
		P	,735	,610	,396	,487	,497	,123	**,002**	,703

Spearman's rho Korelasyon analizi

Tablo 17. Bağırsak mikrobiyorta değişiklikleri ile Otizm Klinik belirti şiddeti ve Gastrointestinal semptomlar arasındaki ilişkiye ait veriler

		Genel	Bacteroi-detes	Firmicutes	Bifidobac-terium	Lactobacil-lus	Clostridium cluster	S.thermophilus	Desulfovibrio
GSI	r	-,088	,052	,016	-,130	-,062	,127	-,121	-,020
	p	,411	,639	,883	,229	,583	,247	,309	,850
CARS	r	-,091	,285	-,090	-,276	,018	-,164	,297	,124
	p	,632	,176	,638	,139	,926	,405	,117	,515

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda OSB tanısı alan 4-12 yaş aralığındaki çocuklar, bu çocukların 4-12 yaş aralığındaki OSB'li olmayan kardeşleri ve yine aynı yaş aralığındaki sağlıklı çocukların bağırsak bakteri florası içerik ve yük miktarının incelenmesine yer verilmiştir. Bu çalışma ile otizm etiyopatogenezinde suçlanan anormal bağırsak bakteri flora içeriğinin gösterilmesi; bu durumun bağırsak duvar geçirgenliği, bakteriyel geçiş ve inflamasyon üzerine olası etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, meydana gelen bu değişiklikler ile otizm belirti şiddeti ve gastrointestinal semptomlar arasındaki ilişki de incelenmiştir. OSB'li bireyler ile benzer genetik yapı ve çevresel koşullara sahip olan kardeşlerin çalışmaya dâhil edilmesi çalışmamızı bu alanda yapılan çalışmalardan ayırmaktadır.

Çalışmamız ülkemizdeki OSB'li bireyler, kardeşleri ve kontrol gurubu üzerine yapılan ve bağırsak bakteri florası ile biyobelirteçler arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışma olarak görülebilir.

Çalışmaya katılan çocuklar cinsiyet açısından değerlendirildiğinde olgu grubunda erkek kız oranı 6,5 olarak saptanmıştır. Olgu grubu ile kardeş ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunurken($p=0,002$); kardeş ve kontrol grupları arasında anlamlı fark tespit edilememiştir. Bu durum, OSB'nin erkeklerde 3-4 kat daha fazla görüldüğü şeklindeki yazın bilgisiyle uyumludur(4).

Çalışmada yer alan çocuklar 4-12 yaş aralığında seçilmiştir. Bu yaş aralığının seçilmesinin birinci nedeni, çoğu OSB olgusunun 2-3 yaş civarında temel belirtilerinin belirginleşmesi;ikincisi ise bağırsak bakteri florasının doğumdan itibaren değişmeye başlaması ve 3 yaşından itibaren erişkin florasına benzemeye başlamasıdır (4, 317). Çalışmamızda olgu ve kardeş grubu arasında yaş ortalamasıistatistiksel anlamlılık gösterirken ($p=0,005$); kontrol ve kardeş grubu ile olgu ve kontrol grubu arasında fark görülmemiştir. Olgu grubunun çoğunun ikinci; kardeş grubunun ise çoğunun ilk çocuk olduğu ve aralarındaki ortalama yaş farkının 2,1(sırasıyla ortalama yaş değerleri $7,3\pm2,0$; $9,4\pm2,8$) olduğu görülmüştür. Bu durum ülkemizde çoğunlukla iki gebelik arasında olan 2 yıl farkıyla uyumludur.

Yapılan araştırmaların çoğunda OSB'li olguların %28-83'ünde DEHB eş tanısı bildirilmiştir(43, 318). Mukaddes ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, OSB'li çocuk ve ergenlerde en sık görülen anksiyete bozukluğunun özgül fobi olduğu ve bu durumun bazı olgularda duyusal hiposensitivite/hipersensitivite ile ilişkili olduğu belirtilmiştir(46). Farklı zamanlarda yapılan araştırmalarda ise ergen ve yetişkin OSB'lilerde en sık rastlanan psikiyatrik bozukluk depresyon olarak bildirilmiştir(45, 46). Olgu grubumuzun %73,3'ü (n=22) DEHB tanısı, % 6,7'si(n=2) özgül fobi ve %3,3'ü (n=1) depresyon tanısı almıştır. Çalışmamızdan elde edilen bu veriler, OSB komorbiditesi ile ilgili alan yazınıyla uyumludur.

Son zamanlarda yapılan araştırmalar OSB tanılı çocukların kardeşlerinin psikiyatik ve nörogelişimsel bozukluklar açısından daha fazla risk altında olduğunu göstermiştir(319-321).Bu sav, çalışmamızda kardeş grubunda DEHB ve Anlıksal Yeti Yitimi tanılarının üçer kişide (n=6 kişi, %20) tespit edilmesi ile desteklenmiştir.

Katılımcıların annelerine ait yaş, fiziksel hastalık ve psikiyatrik hastalık gibi tanımlayıcı verilere bakıldığında gruplar arasında anlamlı fark tespit edilememiştir. Ancak meslek, sigara kullanımı, eğitim durumu ve gebelik süresince tıbbı sorun ile karşılaşma durumlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmüştür.

Olgu ve kardeş grubunun annelerinin tümünün ev hanımı olduğu ve günün çoğunluğunda OSB'li çocuklarının bakımıyla ilgilendikleri dikkati çekmektedir. Nitekim otizmli çocuğu olan ebeveynlerin yaşadıkları zorlukları araştıran bir çalışmada, otizmli çocukların annelerinin sadece %6,42'sinin çalıştığı bildirilmektedir. Bu bilgi çalışmamızdan elde edilen veriler ile tutarlılık göstermektedir.

Çalışmaya katılan annelerin %26,7'sinin (n=16) düzenli olarak sigara kullandığı ve bu sayının kontrol grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür. 2008 yılı verilerine göre ülkemizde, 15-49 yaş arası bayanların %22'si düzenli olarak veya nadiren sigara kullanmaktadır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar kadınlarda eğitim seviyesi arttıkça sigara içme oranının arttığını; erkeklerde ise tam tersi bir durumun olduğu, işçilerin ve işsizlerin daha çok sigara kullandığını göstermektedir(322). Kontrol grubunun annelerine bakıldığında, hepsinin şehir merkezinde yaşadığı, daha

eğitimli oldukları ve %43,3'ünün (n=13)bir meslek dalında çalıştıkları dikkati çekmektedir. Bu özellikler, kadınların sigaraya ulaşmalarını ve başlamalarını kolaylaştırmış olabilir.

Otizmin etiyopatogenezine yönelik yapılan prenatal, doğumsal ve postnatal özelliklere ilişkin çok sayıda çalışmada, gebelik ve doğuma ait problemlerin (gestasyonel diyabet, ilaç (talidomit,valproat) kullanımı, viral enfeksiyon, düşük tehdidi, düşük doğum ağırlığı, prematürite, postmatürite) otizm belirtileri olan çocuklarda daha sık olduğu belirtilmiştir(323). Bizim çalışmamızda olgu grubunun 8'inin (%26,7) ve kardeş grubunun ise 2'sinin (%6,7) anneleri gebelik süresince düşük tehdidi, idrar yolu enfeksiyonu, suçiçeği, hiperemezis gravidarum, panik bozukluk gibi tıbbi veya psikiyatrik bir sorun ile karşılaşmıştır. Kontrol grubunun anneleri ise gebeliklerinde herhangi bir sorun ile karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmaya katılan çocukların babalarına ait yaş, meslek, ruhsal ve fiziksel hastalık durumu, sigara kullanımı gibi tanımlayıcı verilere bakıldığında her üç grup arasında anlamlı farklılık saptanmazken, eğitim durumu açısından farklılık saptanmıştır.

Ebeveynlerin eğitim durumunun, olgu ve kardeş grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu ve çoğunluğun ilkokul mezunu olduğu görülmüştür. Ankete dayalı yapılan bir çalışmada, 12 yıldan daha az eğitim gören ebeveynlerin çocuklarında daha şiddetli otizm belirtilerine sahip olduğu bildirilse de; ebeveyn eğitim durumu ve gelir düzeyi ile anlamlı ilişkisi olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur(324, 325).

Çalışmamızda gruplar arasında, ailede psikiyatrik hastalık öyküsü ve aile yapısı bakımından farklılık saptanmamıştır. Ancak bu aileler arasında yerleşim yeri ve gelir düzeyleri arasında farklılığa rastlanmıştır.

Kanner, otizmin sosyoekonomik durumu yüksek olan ailelerin çocukları arasında daha sık görüldüğünü savunmuş olsa da; sonraki yıllarda yapılan çalışmalar bu savı desteklememiştir. 2003 yılında yapılan bir çalışmada otizmin sosyoekonomik ve ırksal gruplar arasında farklılık göstermediği; ancak sosyoekonomik durumu

yüksek olan ebeveynlerin tanısal değerlendirmelere daha rahat ulaşmasının, toplum örneklemlerindeki orantısız dağılıma neden olmuş olabileceği iddia edilmiştir(326).Çalışmamızda otizmli çocuğa sahip olan 30 aileden 12'sinin kırsal alanda yaşadığı ve 26'sının aylık gelir düzeylerinin 2000 tl veya altındaolduğu görülmüştür. Elde edilen bu veriler, OSB'nin sosyoekonomik durumu yüksek olan ailelerde görüldüğü savını desteklememiştir.

Gelişimsel özellikler bakımından değerlendirildiğinde, OSB grubundaki çocukların kardeşlerine ve kontrollere göre dil gelişimi, tuvalet eğitimi ve yürümeye başlama zamanı bakımından gecikmeler yaşadıkları, bazılarının bu becerileri hiç kazanamadığı, bazılarının ise kazanılmış becerilerinin gerilediği görülmüştür.Bu durum, OSB'li olgulara zihinsel yetersizliğin sık eşlik etmesi ve genellikle ebeveynlerin olguların dil gelişimindeki gecikme nedeniyle hekime başvuru yaptıkları yazın bilgisiyle uyumludur(4).

OSB'li çocukların beslenme alışkanlıkları hakkında alan yazınında, tipik gelişen çocuklara göre daha fazla yeme bozukluklarına sahip oldukları, ebeveynlerinin daha fazla zorlandıkları ve farklı besin gruplarından sınırlı sayıda besin tükettikleri bildirilmiştir(327). Otizmli olguların sıklıkla seçici yeme davranışı (picky eating) gösterdikleri, meyve ve sebze gibi lifli gıda alımlarının daha az olduğu bilinmektedir(291).

OSB'li olguların beslenme durumunu etkileyen tıbbi/nutrisyonel ve davranışsal/bağlamsal birçok faktörden söz edilir. Gastrointestinal sisteme ait problemler, gıda alerjileri, ilaç yan etkileri, metabolik anomaliler ve vitamin eksiklikleri bu tıbbi/nutrisyonel faktörlerden bazılarıdır. Davranışsal/bağlamsal faktörler ise sorunlu yeme davranışları, duyusal işleme güçlükleri ve ailesel faktörler olmak üzere 3 alt kategoride incelenmektedir(327). Sorunlu yeme davranışları tipik gelişen çocuklara göre daha uzun sürmekte ve bu davranışları sürdürmek otizmli olgularda daha zor olmaktadır. Duyusal hipersensitivite (2/3'ü tat ve koku duyusunda), aynılıkta ısrarcılık gibi otizmin temel belirtilerinin katı yiyecekleri reddetme, çiğnememe, seçici yeme ve özellikle ek gıdaya geçerken karşılaşılan yeme reddi davranışlarının bir nedeni olabileceği düşünülmektedir. OSB'li olguların annelerinin, çocuklarının rahatsızlıklarından dolayı daha hassas oldukları ve

çocukların beslenme alışkanlıkları hakkında daha çok negatif görüş paylaştıkları bildirilmektedir. Ayrıca bu annelerin yeme davranışları üzerinde daha fazla kontrol sağlamaya çalıştıkları ve aşırı duygusal tepkiler verdikleri de dikkati çekmektedir(328).

Çalışmamıza katılan çocuklar beslenme alışkanlıkları açısından incelendiğinde, OSB'li olguların % 36,7'sinin (n=11) ek gıdaya geçerken yeme reddi yaşadığı; %63,3'ünde (n=19) ise yemek seçme davranışının sık olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, kardeş ve kontrol grupları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p=0,000). Ayrıca, yemek seçme davranışı olan 19 OSB'li olgudan 3'ünün, sadece sıvı gıdalar ile beslendiği, 2'sinde koku hassasiyetinin belirgin olduğu ve olgulardan birinin ise beyaz renkli gıdalar ile beslenmeyi tercih ettiği ebeveynlerinden öğrenilmiştir. Elde edilen bu veriler, alan yazınındaki otizmli olguların yaşadığı yeme sorunları ile benzerlik göstermiştir.

Katılımcıların diyet içerikleri değerlendirildiğinde ise, gruplar arasında haftalık kurubaklagil yeme, günlük ekşili meyve (mandalina, limon, portakal gibi turunçgiller) ve meyve suyu tüketimi bakımından anlamlı farklılık olduğu ve bu gıdaları tüketmeyen çocukların tamamının OSB grubunda yer aldığı dikkati çekmektedir. Lifli yapıda olan kuru baklagillerin, OSB'li grupta düşük oranda tüketilmesinin nedeni gastrointestinal sistem üzerindeki gaz yapıcı ve bağırsak hareketlerini arttırıcı etkisi olabilir. Ekşili meyvelerin asidik içerikleri mide yanmasına, ağız içinde yara olması halinde acı duyulmasına neden olduğu bildirilmektedir(329). Sözel iletişiminde sorun olan otizmli çocuklar, yaşadıkları gastrointestinal problemleri tam olarak ifade edemedikleri veya meyvelerin tüysü yapısı, tat ve kokusuna karşı oral bölgedeki hassasiyetlerinden dolayı bu ürünleri az tüketiyor veya tüketmiyor olabilir.

Araştırmaya dahil edilen çocukların seçiminde çocuklarda akut veya kronik enfeksiyon, gastrointestinal sisteme ait hastalık öyküsü ve nörolojik hastalık öyküsü olmamasına, son iki ay içerisinde antibiyotik kullanmamış olmasına, herhangi bir diyet veya prebiyotik/probiyotik gıda takviyesi almamasına özen gösterilmiştir. Ayrıca bağırsak bakteri flora içeriğini ve miktarını etkilediği bilinen durumlar da ebeveynlere sorulmuştur. Bunlar, doğum şekli (sezaryan/normal), doğum zamanı

(prematür/erken), BMI, anne sütü ile beslenme süresi, formüla mama ile beslenme, doğumdan sonraki ilk 6 ay antibiyotik kullanma,tıbbi hastalık öyküsü, hastaneye yatarak tedavi olma (son 6 ay hariç) ve gıda takviyesi alma olarak sıralanabilir(147, 317, 330). Çalışmamızda bu hususlarda gruplar arasında istatistiksel farklılıklara rastlanmamıştır.

Çalışmaya dâhil eden çocukların sosyodemografik özellikleri, gelişimine ait veriler ve gruplar arasında anlamlı farklılık gösteren sonuçlar da alan yazını ile uyumludur. (4)[280-290]. Bu durum randomizasyonun uygun yapıldığı şeklinde yorumlanabilir.

Gastrointetsinal(GI) sisteme ait belirtilerin (kabızlık, diyare, şişkinlik, reflü) otizm ile birlikteliğinin sık görülmesi ve bu belirtilerin otizmde görülen davranış problemleri ile ilişkili olabileceği görüşünün yaygınlaşması, otizmin etiyolojisinde GI sisteme yönelik çalışmaların artmasına sebep olmuştur. Bu ilişkiyi inceleyen çalışmalar, bu ilişkinin bağırsak bakteri florasındaki dengenin bozulmasından, stresse karşı oluşan endokrin yanıttan, beyin-bağırsak aksının işleyişindeki aksaklıklardan veya serotonin sistemindeki değişikliklerden kaynaklanmış olabileceğinibelirtse de aralarındaki ilişki hala netlik kazanmamıştır(331).

Son yapılan çalışmalar, OSB'li olguların tipik gelişen çocuklara ve kardeşlerine kıyasla daha fazla GI belirtilere sahip olduğunu ve prevalansının %23-70 arasında değiştiğini bildirmiştir. Bu geniş aralığın, GI belirtilerini kullanmak için tercih edilen kriterler ve çalışma yöntemlerinin farklılığından kaynaklanmış olabileceği iddia edilmektedir(332). 2011 yılında yapılan bir araştırma da 249 OSB'li olgunun %42'sinin, 163 kardeşin ise %12'sinin GI sisteme ait problemleri olduğu ve GI problemlerin otizm belirti şiddetiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir(333).Başka bir çalışmada ise OSB'li grubun %49,4'ünde GI semptomları bulunmuştur. Yine aynı çalışmada GI semptomları olan ve olmayan OSB'li çocuklar karşılaştırılmış ve GI semptomları olan grupta daha çok davranış problemleri ve duygusal sorunlar saptanmıştır(334).GI semptomlarının otizmde görülen sosyal ilişki problemleri, dikkat sorunları, öfke nöbetleri (frusturasyon), anksiyete belirtileri ile ilişkili olduğunu ileri süren çalışmalarda bulunmaktadır(306).

Çalışmamızda alan yazınıyla uyumlu olarak, OSB'li çocukların %43,3'ünde (n=13) GI sistemine ait bir probleme rastlanmıştır. OSB'li grupta GSI puan ortalaması 3 (±2,5) olarak bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır(p=0,00). Kardeş ve kontrol gruplarındaki gastrointestinal belirtiler ise yok denecek kadar azdır ve ortalama GSI puanları aynıdır (0,3 ±0,5). Ayrıca çalışmamızda toplam CARS puanı ve GSI puanları arasında orta düzeyde anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir (r=0,512, p=0,004).

LBP, gram negatif hücre duvar yapısında bulunan lipopolisakkaridleri (endotoksin) bağlayan bir akut faz reaktanıdır(335). s-CD14 ise LBP'ye bağlanan lipopolisakkraid yapının reseptörüdür(297). s-CD14 ve LBPimmun aktivasyonun, inflamasyonun veya bakteriyel translokasyonun göstergesi olarak çeşitli çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır(239). Yapılan çalışmalar, LBP ile s-CD14 serum düzeyleri arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir(336). Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar da bu savı destekler niteliktedir (r=0,596, p=0,000).

Son zamanlarda psikiyatrik hastalıkların etiyolojisinde yer alan sızdıran bağırsak (leaky gut) ve düşük düzey süregen infalamasyon (low-grade endotoksemi) hipotezleri, bu belirteçler kullanılarak araştırılmaya başlanmıştır. Bu belirteçlerin her birinin kullanıldığı ayrı çalışmalar olduğu gibi ikisinin aynı anda kullanıldığı yayınlar da mevcuttur.

Şizofreni ve Bipolar Affektif Bozukluk etiyolojisinde inflamasyon ve bakteriyel translokasyonun etkinliğini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalardan birinde LBP ve sCD14 serum düzeylerine bakılmıştır. sCD14, şizofreni ve bipolar grubunda daha yüksek saptanır iken; gruplar arasında LBP düzeyleri bakımından istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir(239). Psikotik bozukluklarda Beyin-Omurilik sıvısında (BOS) mikroglia ve nörodejeneratif belirteçlerin bakıldığı bir ikiz çalışmasında ise, hastalıklı ikizlerde s-CD14 seviyesi daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca, s-CD 14 ile negatif semptomlar, paranoya ve şizotipal kişilik özellikleri arasında da bir korelasyon tespit edilmiştir. Elde bu veriler yazar tarafından s-CD14'ün, şizofreni ve bipolar bozukluğun klinik belirti şiddeti ile ilişkili olarak artabileceği şeklinde yorumlanmıştır(337).

Otizm Spektrum Bozukluğunda düşük düzeyde süregen inflamasyon varlığının araştırıldığı bir başka çalışmada ise, 22 şiddetli otizmli erişkin ile 28 sağlıklı erişkin kontrol grubu arasında serum endotoksin(lipopolisakkarid) düzeyi, s-CD14 ile IL-1β, IL-6 ve IL-10 gibi sitokinler karşılaştırılmıştır. Serum endotoksin düzeyi, erişkin otizmlilerde anlamlı düzeyde daha yüksek saptanırken; IL-1β ve IL-6 değerlerindeki yükseklik istatiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Aynı şekilde s-CD14 ve IL-10'un serum düzeyleri gruplar arasında da anlamlı farklılığa rastlanmamıştır. Üstelik bu çalışmada serum endotoksin düzeyi ile Vineland Adaptive Behavioral Ölçek- Sosyolizasyon alt başlığı ve ADI-R Sosyal alt basamağı arasında bağımsız bir ilişki saptanmıştır. Araştırmacılar, s-CD14'ün serum endotoksinini nötralize edici etkisi olmasına rağmen, şiddetli otizmi olan erişkin bireylerde endotoksine inflamatuar yanıtın düzenlenmesinde rol oynamadığını ileri sürmüşlerdir(289).

Erişkin OSB, Şizofreni, Bipolar Affektif Bozukluk gibi psikiyatrik hastalıklarda çalışma yapılmış olmasına karşın, OSB'li çocuklarda bu belirteçlerin kullanımı sınırlıdır. Çalışmamızda s-CD14 ve LBP değerleri OSB, kardeş ve sağlıklı çocuklardan oluşan üç grup içerisinde karşılaştırılmıştır. Serum s-CD14 ve LBP değerleri en yüksek kardeş grubunda, en düşük ise OSB'li grupta tespit edilmiştir. Kardeş grubu ile olgu ve kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanırken (her iki değer için de p=0,000); olgu ve kontrol grubu arasında ise anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca s-CD14 düzeyleri, OSB'li olgularda CARS toplam puanı ile ilişkili bulunmuştur (r=0,596 p=0,026). Çalışmamızın grupları arasında farklılık saptanan yaş, cinsiyet ve yerleşim yerinin bu biyolojik belirteçlerin serum değerlerini etkilemediği görülmüştür.

Çeşitli çalışmalarda OSB'li bireylerde inflamasyon belirteçlerinde artış gösterilmiştir(306, 307). Gaitada bakılan infalamasyon belirteçlerinin, serum belirteçlerine kıyasla bağırsaklarda oluşan lokal inflamasyonu belirlemede daha duyarlı olduğu bildirilmektedir(307). Bu bağlamda, bağırsaklardaki inflamasyonu gösteren fekal kalprotektin kullanılmaya başlanılmıştır.

2010 yılında yapılan bir çalışmada, OSB'li olgularda fekal kalprotektin ortalama değerleri yüksek saptanmış ve bu durum bağırsaklarda hafif derecede

inflamasyon varlığının göstergesi olarak yorumlanmıştır(338).Sağlıklı kontroller ile şiddetli ve hafif derecede davranış problemi olan OSB'li bireylerin kıyaslandığı başka bir çalışmada, fekal kalprotektin medyan değerleri normalin üstünde tespit edilmiş, ancak gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır(306). Kushak ve arkadaşları da yaptıkları araştırmada fekal kalprotektin değerlerine bakmışlar ve diğer çalışmalar ile benzer olarak OSB'li bireyler ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark saptamadıklarını bildirmişlerdir(339). Slovakya'da yapılan bir çalışmada ise, 87 OSB olgusu ile 51 sağlıklı çocuk (29 kardeş; 22'si akraba olmayan sağlıklı çocuk) karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmamakla birlikte grupların medyan değerleri normal aralıkta tespit edilmiştir. OSB, kardeş ve kontrol grubu ayrı olarak değerlendirildiğinde ise en yüksek median değer kardeş grubunda; en düşük medyan değer ise akraba olmayan kontrol grubunda tespit edilmiştir. Ayrıca, fekal kalprotektin değeri ile ADI-R'ın üç alt kategerisi (karşılıklı sosyal etkileşin (A); iletişim (B); kısıtlayıcı, tekrarlayıcı ve stereotipik davranışlar (C)) arasında zayıf bir korelasyon saptanmıştır (307).

Her biri 30 katılımcıya sahip olan olgu, kardeş ve kontrol gruplarından oluşan çalışmamızda, fekal kalprotektin medyan değerleri her üç grupta benzer şekilde normal sınırlarda saptanmış olup, en yüksek medyan değer kardeş grubunda (medyan 23,6µ/g min-max: 0,07-2140); en düşük medyan değer ise kontrol grubunda (medyan 18,24 µ/g min-max: 0,000-1002,08) ölçülmüştür. OSB'li grubun medyan değeri ise kontrol grubundan yüksek saptanmıştır (medyan değeri 22,48; min-max 0,00-2140). Yapılan araştrımalar ile benzer olarak gruplar arasında istatistiksel farka rastlanmamıştır. Ayrıca, çalışmamızda gruplar arasındaki yaş ve cinsiyet farkının fekal kalprotektin değerlerini de etkilemediği görülmüştür. Fekal kalprotektin ile CARS ölçeği arasındaki ilişkiye bakıldığında ise,fekal kalprotektin değerleri ile CARS toplam puanı ve insanlarla ilişki kurma, bedenin kullanımı, görsel tepki ve sözel iletişim maddeleri arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır.(sırasıyla r=0,369 p=0,049; r=0,389 p=0,037; r=0,400 p=0,032/ r=0,444 p= 0,016; r=0,515 p=0,004) Sözel iletişim maddesi orta düzeyde korelasyon gösterirken; diğerleri zayıf düzeyde korelasyon göstermiştir (r=0,515 p=0,004).CARS ölçeğinin ilişkili çıkan alt maddeleri, Tomova ve arkadaşlarının çalışmalarında korelasyon gösterdikleri ADI-R'ın alt maddeleri ile benzerlik göstermiştir.

Elde ettiğimiz bu veriler, ‘leaky gut’ ve ‘low-grade endotoxemi’ varsayımlarına farklı bir bakış açısı kazandırmıştır.Kardeş grubunda biyolojik belirteçler daha yüksek belirlenirken; olgu ve kontrol grubunun biyolojik belirteç seviyeleri birbirine benzerlik göstermekteydi. Bu durum OSB etiyolojisinde inflamasyonun tek başına yeterli olmadığını ve kardeş grubunda koruyucu nitelikte kompansatuar mekanizmaların etkili olmuş olabileceğini düşündürmüştür. Fekal kalprotektin ve s-CD14’ün CARS ölçeği toplam puanı ile pozitif korelasyonu, bu belirteçlerinotizm klinik belirti şiddetinin olası bir göstergesi olabileceğini düşündürmüştür. Ancak bu savın desteklenmesi için daha geniş örneklemli ve çok merkezli ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bağırsak bakteri florasının OSB etiyolojisindeki rolü son zamanlarda sıkça araştırılmaktadır. OSB’li çocuklarda bağırsak bakteri florasının değiştiği, sağlıklı kontrollere göre farklı içerik ve miktarda bulunduğu ileri sürülmektedir(138). Mikrobiyom ve spesifik mikroorganizmaların belirlenmesinin, OSB’li bireylere sıklıkla eşlik eden GI semptomlarının ve davranış problemlerinin olası tedavisi için hedef olabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda her üç grup içerisinde genel bakteri yükü, bağırsak bakteri florasında baskın olan iki bakteri şubesi (Bacteroidetes ve Firmicutes), Lactobacillus, Bifidobacterium gibi faydalı bakteri cinsleri ve Clostridium, Desulfovibrio gibi önceki çalışmalarda otizm etiyolojisinde olası etkileri bildirilen bakteri türleri değerlendirilmiştir. Bağırsak bakteri florası ile ilgili elde edilen bu verileri inceleyelim.

Genel bakteri yükü, en yüksek kontrol grubunda; en düşük ise kardeş grubunda tespit edilmiş olup, gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır(p=0,0001). Tomova ve arkadaşları ise olgu, kardeş ve kontrol gruplarının yer aldığı çalışmalarında genel bakteri sayıları bakımından gruplar arasında fark bildirmemişlerdir. Çalışmada kullandığımız örneklem grubunun, bahsedilen çalışmaya göre daha fazla sayıda olması istatistiksel farkı açıklayabilir. Aynı çalışmada kontrol grubuna kıyasla, Bacteroidetes/Firmicutes oranında önemli bir azalma olduğu ve bunun Bacteroidetes şubesindeki azalmadan kaynaklandığı bildirilmiştir(255).

Bizim çalışmamızda ise Bacteroidetes ve Firmicutes şubelerinin kopya sayısı, otizmli olgularda akraba olmayan sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük saptanırken; kardeş grubundan ise daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca Firmicutes şubesinin kardeş ve kontrol grupları arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,008).Bağırsak florasında baskın olarak görülen bu iki şubenin birbirine oranı (Bacteroidetes/Firmicutes) çalışmamızda otizmli olgularda kontrollerden yüksek olarak tespit edilmişitr. Alan yazınında, Bacteroidetes/Firmicutes oranının azaldığını gösteren (340)çalışmalar olduğu gibi arttığını bildiren çalışmalarda mevcuttur(249). Çeşitli çalışmalarda farklı sonuçların bulunmasıkatılımcıların yaş gruplarının, diyet alışkanlıklarının ve yaşadıkları coğrafi bölgelerin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Nitekim gençlerin bağırsak bakteri florasındaBacteroidetes'in nispeten daha az olduğunu(341); Avrupa'da yaşayan nüfusun bağırsak florasında ise Firmicutes hâkimiyetini bildiren çalışmalarda mevcuttur(342). Farklı araştırmalarda, Bacteriodetes ve Firmicutes sayılarının ve birbirine oranlarının obezite ve diyet alışkanlığı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda üç grubun BMI oranları arasında istatitiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır. Ayrıca, gruplar içerisindeki yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri farkının genel kopya sayısı, *Bacteroidetes, Firmicutes* miktarlarını ve *Bacteroidetes/Firmicutes* oranını etkilemediği görülmüştür. Gruplar içerisinde görülen Firmicutes baskınlığı, ülkemizin Avrupa'ya yakın coğrayada bulunması ve diyet alışkanlığı ile ilişkilendirilebilir.

Bağırsak bakteri florası içerisinde insan vücuduna yararlı olduğu bilinen, pek çok probiyotik maddesinde yer alan Bifidobacterium, Lactobacillus, S. Thermophilus gibi laktik asit bakterileri otizmli grupta ve kardeşlerinde daha az bulunmuştur. Ancak sadece Bifidobacterium cinsi gruplar arasında istatistiksel anlamlılık göstermiştir (p=0,000). Bazı çalışmalar verilerimiz ile tutarlı şekilde Bifidobacterium cinsinin otizmli grupta azaldığını bildirirken (249, 250, 254); bazıları ise otizmli olgularda daha fazla miktarda Lactobacillus cinsi bulunduğunu bildirmektedir (252, 253, 255).

Son zamanlarda OSB etiyolojisinde sıkça bahsedilen Clostridia ve Desulfovibrio bakteri cinsleri, çalışmamızda da en çok otizmli grupta saptanmış;

ancak gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,185/ p=0,412). Desulfovibrio türünün diğer bakteri türleri üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, Desulfovibiro türündeki artışın Bifidobacterium türlerinde azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir(272). Çalışmamızda OSB'li grupta gözlemlenen Desulfovibrio türündeki artış ve Bifidobacterium türündeki anlamlı azalma, yukarıda bahsedilen çalışmanın sonucunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler Clostridium cluster I türü toksin veya pro-inflamatuar sitokinleri üretilmesini tetikleyen bakterilerin arttığını; Bifidobacterium, Lactobacillus gibi anti-inflamatuar özellik gösteren bakterilerin ise azaldığını göstermiştir. Sitokinler arasında bozulan bu denge, OSB etiyolojisindeki inflamasyon varsayımını destekler niteliktedir.

Tomova ve arkadaşlarının, otizmli çocuklarda Bacteroidetes/Firmicutes oranlarındaki azalma ve Lactobacillus miktarındaki artış olarak tanımladıkları disbiyozis kavramı(255); bizim çalışmamızda genel bakteri sayısında ve Bifidobacterium miktarında anlamlı azalma şeklinde tanımlanabilir.

Kardeş grubunun bağırsak bakteri florasına baktığımızda; sağlıklı kontrollerden ziyade otizmli çocukların bağırsak bakteri florası ile daha çok benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç, Finegold ve arkadaşları (2010) ile Wang ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan iki ayrı çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur(249, 343). Finegold, bu benzerliği otizmli çocuklar ile kardeşlerinin benzer bağırsak mikrobiyom özelliklerine ve beslenme alışkanlıklarına sahip olma ve kişiler arası bakteri bulaşına neden olan ailesel faktörler ile açıklamıştır(249). Otizmli çocuklar ile kardeş grubu arasında belirgin fark, Desulfovibirio ile Clostridum cluster I türlerinde görülmüş ve bu durum otizmin gelişiminde bu bakteri türlerinin olası etkilerinin desteklemiştir.

Bağırsak bakteri flora içeriğinin ve yükünün değişmesi ile oluşan disbiyozisin bağırsak bakteri duvar yapısının geçirgenliğini etkilediği, lümen içerisindeki bakterilerin ve metabolitlerin sistemik dolaşıma geçerek inflamasyonu tetiklediği ileri sürülmektedir. Bu varsayım, çalışmamızda değişen bakteriyel içerik ve yük ile biyolojik belirteçler arasında ilişki olup olmadığına bakılarak değerlendirilmiştir.

Değerlendirme sonucunda otizmli olgularda LBP ve s-CD14 belirteçleri ile *Bifidobacterium* ve *Clostridium cluster I* türleri arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır(sırasıyla LBP için r=-0,397 p=0,030 hafif düzeyde negatif korelasyon/ r= -0,520 p=0,005 orta düzeyde negatif korelasyon) (s-CD14 için sırasıyla r= -0,396 p= 0,030/ r= -0,483 p= 0,043 hafif düzeyde negatif korelasyon). Ayrıca s-CD14 ile *Firmicutes*(r= -0,385 p=0,036 hafif düzeyde negatif korelasyon) ve fekal kalprotektin ile *Clostridium cluster I*(r=-0,393 p= 0,043 hafif düzeyde negatif korelasyon) arasında da benzer şekilde ters yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir. Sadece otizmli grupta görülen bu korelasyonlar, otizmin patofizyolojisinde Clostridium, Bifidobacterium gibi spesifik bakterilerin değişen oranlarının daha etkili olabileceğini gösterebilir. Ancak bu etkileşimin detaylandırılması için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Alan yazınına bakıldığında, bakteri alt türleri ile biyolojik belirteçler arasındaki ilişkiye dair yayınlar oldukça sınırlıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, laktik asid üreten bakterilerin ve Bifidobacterium suşlarının hidrofobik yüzey özelliklerinin endotoksin (lipopolisakkarid-LPS) yapısını bağlama özelliği olduğunu göstermiştir. Bu bakteri türlerini içeren gıdaların, bağırsaklardan kaynaklanan septik şok, bakteriyel translokasyon, nekrotizan enterokolit, infalmatuar bağırsak hastalıkları gibi endotoksin (LPS) ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir(344). *Bifidobacterium breve'*nin inflamatuar genlerin üretimi üzerindeki etkisini inceleyen hayvan çalışmasında ise, infant ratlara *Bifidobacterium breve* içeren probiyotik verildiğinde lipoprotetin lipaz, glutatyon peroksidaz 2(Gpx2) ve lipopolisakkarid bağlayan proteini (LBP) sentezleyen inflamasyon ile ilişkili genlerin üretiminin azaldığı görülmüştür(345). Elde edilen bu bilgiler, OSB'li grupta azalan *Bifidobacterium* miktarına karşılık artan LBP ve s-CD14 düzeylerini açıklayabilir.

Firmicutes şubesine ait olan, gram pozitif bakteri Clostridium'un birçok alt kümesi vardır. C. Tetani, C. Perfirengis gibi tıbbi hastalıklar ile ilişkili patojen ve non-patojen bakterileriden oluşan cluster I'in biyolojik belirteçler ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu ilişkinin, bakterilerin toksinleri veya propiyonik asit,

bütirat gibi metabolitlerinin etkisiyle açıklanabileceği düşünülmektedir. Ancak bizim çalışmamızdan elde edilen veriler bu nedenselliği kurmak için yeterli değildir.

Kardeş grubunda, s-CD14 ile genel bakteri sayısı, *Firmicutes, Desulfovibrio* arasında negatif bir ilişki tespit edilirken (sırasıyla r=-0,375 p=0,041/ r=-0,412 p=0,024/ r=-0,445 p=0,014 hafif düzeyde negatif korelasyon); LBP ile sadece genel kopya sayısı arasında ters yönlü bir ilişki saptanmıştır (r=-0,426 p=0,019 hafif düzeyde negatif korelasyon). En düşük genel bakteri sayısı ile en yüksek LBP ve s-CD14 düzeylerinin kardeş grubunda rastlanmıştır. Artan bağırsak duvar geçirgenliğinin fazla olması, sistemik dolaşıma geçen bakteri miktarının artmasına ve bağırsak lümeninde tespit edilen bakteriyel yükün azalmasına neden olmuş olabilir. Sızdıran bağırsak hipotezi (leaky gut), bağırsak mikrobiyota değişikliğinin bir sonucu mu yoksa epitel hücreleri arasındaki hücreler arası bağlantı yapılarının genetik varyasyonları nedeniyle meydana gelen geçirgenlik artışından dolayı mı bağırsak bakteri popülasyonu değişiyor hâlâ tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda OSB tanısı olmayan kardeş grubundan elde edilen bu veriler, bu tartışmayı destekler niteliktedir. Ayrıca, bağırsak geçirgenliği görece daha yüksek olan kardeş grubunda otizm tanısının bulunmaması, kardeşlerin koruyucu mekanizmalara sahip olduğunu ve sızdıran bağırsak hipotezinin tek başına otizm etiyolojisinde yeterli olmadığını gösterebilir.

Kontrol grubunda ise fekal kalprotektin ile *S. thermophilus* arasında orta düzeyde pozitif bir ilişki saptanmıştır (r=0,586 p=0,002). *S.thermophilus,* yoğurt, peynir gibi fermente ürünlerde bulunan,anti infalamatuar ve mukoza koruyucu etkisi olduğu bilinen bir laktik asit bakterisidir(346). Konuyla ilgili literatür taramasında, S.thermophilus türü ile fekal kalprotektin arasındaki ilişkiye yönelik bir bilgiye ulaşamadık.

Çalışmamızda dikkat çeken hususlardan bir diğeri ise otizmli grupta kardeş grubundan daha fazla *Clostridium* ile *Desulfovibrio* bakterilerinin saptanmasıydı. Bu durum, otizm etiyolojisinde yer alan bu iki bakteriyi destekler nitelikteydi(147). Kardeş grubunda ise Bifidobacterium, S.thermophilus gibi anti-inflamatuar özellikli bakterilerin OSB'li gruba göre daha yüksek bulunması, kardeşler için koruyucu bir durum oluşturmuş olabilir.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri, çocuklara OSB tanısını koymak için kullanılan ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule) ve ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised) gibi yapılandırılmış araçların ülkemizde geçerlik ve güvenirlilik çalışmalarının henüz yapılmamış olmasından dolayı çalışmamızda kullanılamamış olmasıdır. Ayrıca, çalışmamızda OSB'li olgulara eşlik eden Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB), Bilişsel Gelişme Gecikmesi (BGG), Anlıksal yetiyitimi gibi diğer psikiyatrik komorbiditelerin sonuçlara olası etkisi araştırılamamıştır.

Bir diğer kısıtlılığımız ise örneklemimizi oluştururken bağırsak mikrobiyotasının etkileyen birçok faktöre dikkat edilmiş olsa da diyet alışkanlığı ve yerleşim yeri bakımından gruplar arası homojenite sağlanamamış olmasıdır. Çalışmamızda gruplar arası farklılık gösteren yaş ve cinsiyetin ise biyolojik belirteçlerin düzeyini ve bakteri flora içerik ve sayısını etkilemediği istatistiksel analizler ile gösterilmiştir.

Bağırsak mikrobiyotası çevresel şartlar, beslenme alışkanlıkları, yerleşim yeri, kültür ve etnik yapı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Ülkemizde henüz OSB tanılı çocuklarda bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ile ilgili yapılan başka çalışma olmadığı için elde edilen veriler, farklı ülkelerde yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bunula birlkte,örneklem sayımızın az olması ve gaita numunesinin aynı koşullarda alınamaması çalışmamızın diğer kısıtlılıkları arasında sayılabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Otizm Spektrum Bozukluğu etiyolojisini açıklamak amacıyla bugüne kadar birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, bu rahatsızlığın nedeni henüz tam olarak tespit edilebilmiş değildir. Bu çalışmada OSB etiyopatogenezinde bağırsak bakteri florasının rolü araştırılmıştır. Bağırsak bakteri florasının bağırsak duvar geçirgenliği, bakteriyel translokasyon ve inflamasyon üzerine olası etkileri incelenmiştir.

Çalışmamız, ülkemizde OSB tanılı çocuklar ile OSB tanısı almayan kardeşlerinin ve sağlıklı kontrollerin bağırsak bakteri flora içeriklerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızda OSB'li olgularda gastrointestinal sisteme ait problemlerin daha sık görüldüğünü ve bu problemlerin, otizmin klinik belirti şiddetiyle korele olduğunu göstermeye çalıştık. Bağırsak mikrobiyota genel bakteri sayısının, Firmicutes şubesinin ve Bifidobacterium türlerinin sağlıklı kontrollerde, OSB ve kardeş gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksek olduğunu tespit ettik. Bağırsak duvar geçirgenliğini ve bakteriyel translokasyonu belirlemek için ölçtüğümüz serum LBP ve s-CD14 düzeyleri, kardeş grubunda anlamlı ölçüde yüksek farklılık göstermiştir. Fekal kalprotektin düzeyi ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiş fakat en yüksek oran kardeş grubunda belirlenmiştir.

Gruplar içerisinde bağırsak mikrobiyotası ile biyolojik belirteçler arasındaki ilişkiye baktığımızda ise OSB tanılı bireylerde *Clostridium* ile LBP, s-CD14 ve fekal kalprotektin değerleri arasında; *Bifidobacterium* ile LBP ve s-CD14 değerleri arasında ve *Firmicutes* ile sadece s-CD14 arasında ters yönlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Otizm klinik belirti şiddet ölçeği CARS toplam puanı ile fekal kalprotektin ve s-CD14 değerleri arasında pozitif korelasyonsaptanmıştır. Bu korelasyon özellikle fekal kalprotektin ile insanlarla ilişki kurma becerisi, beden kullanımı, görsel tepki ve sözel iletişim alt gruplarında belirgin iken; s-CD 14 değeri sadece sözel iletişim alt grubunda belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, GSI ve CARS toplam puanları ile bağırsak mikrobiyota kompozisyonu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Sonuçlarımızdan yola çıkarak;

Ülkemiz Doğu Anadolu bölgesinde, OSB'li grupta görülen disbiyozis, genel bakteri sayısı ve Bifidobakterium türünde azalma şeklinde tanımlanabilir.

Kardeş grubunun, olgu grubu ile benzer bağırsak mikrobiyota kompozisyonuna sahip olmasına ve yine bu grupta biyolojik belirteçlerin olgu grubundan daha yüksek saptanmasına rağmen kardeşlerin otizm tanısı almamış olmaları, kardeş grubunda koruyucu nitelikte kompansatuar mekanizmaların etkili olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamız, OSB olgularında gastrointestinal problemlerin sık olarak görüldüğü ve otizm belirti şiddeti ve davranış semptomları ile ilişkili olduğu savını desteklemiştir. Bu doğrultuda, klinikte karşılaştığımız tedaviye dirençli davranış problemleri olan otizmli olgularda, gastrointestinal sisteme ait şikâyetlerin sorgulanmasının ve lüzum halinde pediatri hekimine konsülte edilmesinin faydalı olabileceği kanaatine ulaşılmıştır.

Önerilen diyet programlarının otizmi değil, otizme eşlik eden gastrointetsinal problemlere iyi geldiğini ve bu sayede otizmin klinik belirti şiddetinde düşme ve davranış problemlerinde iyileşme sağlandığını düşünmekteyiz.

Bağırsak mikrobiyota kompozisyonun, otizmin klinik belirti şiddetini ve davranışlarını etkileyebileceği ancak etiyolojisine yönelik etkisinin belirlenmesi için yerleşim yeri ve diyet bakımından aynı şartlara sahip gruplar içerisinde geniş örneklemli çalışmalara ihtiyaç vardır. Elde edilen veriler, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında daha sağlıklı sonuçlara ulaşılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Association AP. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®): American Psychiatric Pub; 2013.
2. Zablotsky B, Black LI, Maenner MJ, Schieve LA, Blumberg SJ. Estimated prevalence of autism and other developmental disabilities following questionnaire changes in the 2014 National Health Interview Survey. 2015.
3. Autism, Investigators DDMNSYP. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries. 2014;63(2):1-21.
4. Mukaddes N. Otizm spektrum bozuklukları tanı ve takip. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul. 2013.
5. Coury DL, Ashwood P, Fasano A, Fuchs G, Geraghty M, Kaul A, et al. Gastrointestinal conditions in children with autism spectrum disorder: developing a research agenda. Pediatrics. 2012;130(Supplement 2):S160-S8.
6. Santocchi E, Guiducci L, Fulceri F, Billeci L, Buzzigoli E, Apicella F, et al. Gut to brain interaction in Autism Spectrum Disorders: a randomized controlled trial on the role of probiotics on clinical, biochemical and neurophysiological parameters. BMC psychiatry. 2016;16(1):183.
7. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux J-J, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;105(43):16731-6.
8. Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain–gut–microbe communication in health and disease. Frontiers in physiology. 2011;2:94.
9. Yalçın SS, Kanatlı MÇ. İntestinal mikrobiyota transplantasyonu; neden, kime, nasıl? 2015.
10. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. Pharmacological Research. 2013;69(1):75-86.

11. Smits LP, Bouter KE, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. Gastroenterology. 2013;145(5):946-53.
12. Mulle JG, Sharp WG, Cubells JF. The gut microbiome: a new frontier in autism research. Current psychiatry reports. 2013;15(2):337.
13. Mayer EA, Padua D, Tillisch K. Altered brain-gut axis in autism: Comorbidity or causative mechanisms? Bioessays. 2014;36(10):933-9.
14. Dietert RR, Dietert JM, DeWitt JC. Environmental risk factors for autism. Emerging health threats journal. 2011;4(1):7111.
15. Black DW, Grant JE. DSM-5® guidebook: the essential companion to the diagnostic and statistical manual of mental disorders: American Psychiatric Pub; 2014.
16. Wing L, Gould J, Gillberg C. Autism spectrum disorders in the DSM-V: better or worse than the DSM-IV? Research in developmental disabilities. 2011;32(2):768-73.
17. Frazier TW, Youngstrom EA, Speer L, Embacher R, Law P, Constantino J, et al. Validation of proposed DSM-5 criteria for autism spectrum disorder. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2012;51(1):28-40. e3.
18. McPartland JC, Reichow B, Volkmar FR. Sensitivity and specificity of proposed DSM-5 diagnostic criteria for autism spectrum disorder. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2012;51(4):368-83.
19. Kurita H. How to deal with the transition from Pervasive Developmental Disorders in DSM-IV to Autism Spectrum Disorder in DSM-V. Psychiatry and clinical neurosciences. 2011;65(7):609-10.
20. Wing L. The history of ideas on autism: legends, myths and reality. Autism. 1997;1(1):13-23.
21. Kuhn R, Cahn CH. Eugen Bleuler's concepts of psychopathology. History of Psychiatry. 2004;15(3):361-6.
22. Asperger H, psychisch abnormale Kind D. The psychically abnormal child. Wien Klin Wochenschr. 1938;51:1314-7.

23. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. Nervous child. 1943;2(3):217-50.
24. Volkmar FR, Paul R, Klin A, Cohen DJ. Handbook of autism and pervasive developmental disorders, diagnosis, development, neurobiology, and behavior: John Wiley & Sons; 2005.
25. Asperger H, Frith UT. 'Autistic psychopathy'in childhood. 1991.
26. Kanner L, Eisenberg L. Early infantile autism, 1943-1955. Psychiatric research reports. 1957(7):55.
27. İncekaş S. Çocukluk otizmini derecelendirme ölçeği türkçe formu geçerlik ve güvenirlik çalışması: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009.
28. Rutter M. Diagnosis and definition of childhood autism. Journal of autism and childhood schizophrenia. 1978;8(2):139-61.
29. Wing L, Gould J. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification. Journal of autism and developmental disorders. 1979;9(1):11-29.
30. Volkmar FR, Bregman J, Cohen DJ, Cicchetti DV. Dsm-Iii and Dsm-Iii-R diagnoses of autism. The American journal of psychiatry. 1988;145(11):1404.
31. Spitzer RL, Williams JB, Skodol AE. DSM-III: The major achievements and an overview. The American Journal of Psychiatry. 1980.
32. American Psychiatric Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV2000.
33. Kim YS, Leventhal BL, Koh Y-J, Fombonne E, Laska E, Lim E-C, et al. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. American Journal of Psychiatry. 2011;168(9):904-12.
34. Fein D. The neuropsychology of autism. New York: Oxford University Press; 2011.
35. Fombonne E. The epidemiology of pervasive developmental disorders. Recent Developments in Autism Research, MF Casanova, ed(New York, Nova Science Publishers Inc). 2005:1-25.
36. Volkmar FR, Martin A. Essentials of Lewis's Child and Adolescent Psychiatry: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.

37. Lord C, Rutter M, Goode S, Heemsbergen J, Jordan H, Mawhood L, et al. Austism diagnostic observation schedule: A standardized observation of communicative and social behavior. Journal of autism and developmental disorders. 1989;19(2):185-212.
38. Hergüner S, Özbaran B. Çocukluk Otizmini Derecelendirme Ölçeği. Çocuk ve Ergen Psikiyatrisinde Ölçütler ve Ölçekler: Yaygın Gelişimsel Bozukluklar Yıkıcı Davranım Bozuklukları. 2010:37-40.
39. Gillberg C. The ESSENCE in child psychiatry: early symptomatic syndromes eliciting neurodevelopmental clinical examinations. Research in developmental disabilities. 2010;31(6):1543-51.
40. Sporn AL, Addington AM, Gogtay N, Ordoñez AE, Gornick M, Clasen L, et al. Pervasive developmental disorder and childhood-onset schizophrenia: comorbid disorder or a phenotypic variant of a very early onset illness? Biological psychiatry. 2004;55(10):989-94.
41. Ozaydin L. Teaching Play Skills to Visually Impaired Preschool Children: Its Effect on Social Interaction. Educational Sciences: Theory and Practice. 2015;15(4):1021-38.
42. Mazefsky CA, Oswald DP, Day TN, Eack SM, Minshew NJ, Lainhart JE. ASD, a psychiatric disorder, or both? Psychiatric diagnoses in adolescents with high-functioning ASD. Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology. 2012;41(4):516-23.
43. Simonoff E, Pickles A, Charman T, Chandler S, Loucas T, Baird G. Psychiatric disorders in children with autism spectrum disorders: prevalence, comorbidity, and associated factors in a population-derived sample. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2008;47(8):921-9.
44. Ghaziuddin M, Weidmer-Mikhail E, Ghaziuddin N. Comorbidity of Asperger syndrome: a preliminary report. Journal of intellectual disability research. 1998;42(4):279-83.
45. Ghaziuddin M. Mental health aspects of autism and Asperger syndrome: Jessica Kingsley Publishers; 2005.

46. Mukaddes NM, Hergüner S, Tanidir C. Psychiatric disorders in individuals with high-functioning autism and Asperger's disorder: similarities and differences. The World Journal of Biological Psychiatry. 2010;11(8):964-71.
47. Hofvander B, Delorme R, Chaste P, Nydén A, Wentz E, Ståhlberg O, et al. Psychiatric and psychosocial problems in adults with normal-intelligence autism spectrum disorders. BMC psychiatry. 2009;9(1):35.
48. Mukaddes NM, Fateh R. High rates of psychiatric co-morbidity in individuals with Asperger's disorder. The World Journal of Biological Psychiatry. 2010;11(2-2):486-92.
49. Leyfer OT, Folstein SE, Bacalman S, Davis NO, Dinh E, Morgan J, et al. Comorbid psychiatric disorders in children with autism: interview development and rates of disorders. Journal of autism and developmental disorders. 2006;36(7):849-61.
50. van Steensel FJ, Bögels SM, Perrin S. Anxiety disorders in children and adolescents with autistic spectrum disorders: a meta-analysis. Clinical child and family psychology review. 2011;14(3):302.
51. Mehtar M, Mukaddes NM. Posttraumatic stress disorder in individuals with diagnosis of autistic spectrum disorders. Research in Autism Spectrum Disorders. 2011;5(1):539-46.
52. Tuchman R. Autism and social cognition in epilepsy: implications for comprehensive epilepsy care. Current opinion in neurology. 2013;26(2):214-8.
53. MUKADDES NM. Otistik Spektrum Bozukluklarında Psikiyatrik Komorbidite. Turkiye Klinikleri Journal of Pediatric Sciences. 2007;3(3):25-30.
54. Gillberg C, Coleman M. The biology of the autistic syndromes: Cambridge University Press; 2000.
55. Magiati I, Tay XW, Howlin P. Cognitive, language, social and behavioural outcomes in adults with autism spectrum disorders: a systematic review of longitudinal follow-up studies in adulthood. Clinical psychology review. 2014;34(1):73-86.
56. Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. Nature Reviews Genetics. 2008;9(5):341.

57. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. Psychological medicine. 1995;25(1):63-77.
58. Szatmari P, MacLean JE, Jones MB, Bryson SE, Zwaigenbaum L, Bartolucci G, et al. The familial aggregation of the lesser variant in biological and nonbiological relatives of PDD probands: a family history study. The Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines. 2000;41(5):579-86.
59. Lauritsen MB, Pedersen CB, Mortensen PB. Effects of familial risk factors and place of birth on the risk of autism: a nationwide register-based study. Journal of Child Psychology and Psychiatry. 2005;46(9):963-71.
60. Orsmond GI, Seltzer MM. Siblings of individuals with autism spectrum disorders across the life course. Mental retardation and developmental disabilities research reviews. 2007;13(4):313-20.
61. Stefanatos GA. Regression in autistic spectrum disorders. Neuropsychology review. 2008;18(4):305-19.
62. Spence SJ, Schneider MT. The role of epilepsy and epileptiform EEGs in autism spectrum disorders. Pediatric research. 2009;65(6):599.
63. Lamb JA. Autism Spectrum Disorders. Whole Genome Linkage and Association Analyses2012.
64. Miles JH, Takahashi TN, Bagby S, Sahota PK, Vaslow DF, Wang CH, et al. Essential versus complex autism: Definition of fundamental prognostic subtypes. American Journal of Medical Genetics Part A. 2005;135A(2):171-80.
65. Miles JH, Hillman RE. Value of a clinical morphology examination in autism. American journal of medical genetics. 2000;91(4):245-53.
66. Klei L, Sanders SJ, Murtha MT, Hus V, Lowe JK, Willsey AJ, et al. Common genetic variants, acting additively, are a major source of risk for autism. Molecular autism. 2012;3(1):9.
67. Rapin I. Autism Spectrum Disorders. IntroductionAutism Turns 65: A Neurologist's Bird's Eye View2012.
68. Wolff S, Narayan S, Moyes B. Personality characteristics of parents of autistic children: a controlled study. Journal of Child Psychology and Psychiatry. 1988;29(2):143-53.

69. Schopler E, Andrews CE, Strupp K. Do autistic children come from upper-middle-class parents? Journal of Autism and Developmental Disorders. 1979;9(2):139-52.
70. Premack D, Woodruff G. Does the chimpanzee have a theory of mind? Behavioral and brain sciences. 1978;1(4):515-26.
71. Leslie AM. Pretense and representation: The origins of" theory of mind.". Psychological review. 1987;94(4):412.
72. Baron-Cohen S, Leslie AM, Frith U. Does the autistic child have a “theory of mind”? Cognition. 1985;21(1):37-46.
73. Frith U. Autism: Explaining the Enigma2003.
74. Ozonoff S, Pennington BF, Rogers SJ. Executive function deficits in high-functioning autistic individuals: relationship to theory of mind. Journal of child Psychology and Psychiatry. 1991;32(7):1081-105.
75. Baron-Cohen S. Autism: the empathizing–systemizing (E-S) theory. Annals of the New York Academy of Sciences. 2009;1156(1):68-80.
76. Baron-Cohen S. Editorial Perspective: Neurodiversity–a revolutionary concept for autism and psychiatry. Journal of Child Psychology and Psychiatry. 2017;58(6):744-7.
77. Peterson BS, Panksepp J. Biological basis of childhood neuropsychiatric disorders. Textbook of biological psychiatry. 2004:393.
78. Kemper TL, Bauman M. Neuropathology of infantile autism. Journal of neuropathology and experimental neurology. 1998;57(7):645-52.
79. Bailey A, Luthert P, Dean A, Harding B, Janota I, Montgomery M, et al. A clinicopathological study of autism. Brain: a journal of neurology. 1998;121(5):889-905.
80. Rojas DC, Bawn SD, Benkers TL, Reite ML, Rogers SJ. Smaller left hemisphere planum temporale in adults with autistic disorder. Neuroscience letters. 2002;328(3):237-40.
81. Mink JW, McKinstry RC. Volumetric MRI in autism Can high-tech craniometry provide neurobiological insights? Neurology. 2002;59(2):158-9.
82. Foster NE, Doyle-Thomas KA, Tryfon A, Ouimet T, Anagnostou E, Evans AC, et al. Structural gray matter differences during childhood development in

autism spectrum disorder: a multimetric approach. Pediatric neurology. 2015;53(4):350-9.

83. D'Mello AM, Crocetti D, Mostofsky SH, Stoodley CJ. Cerebellar gray matter and lobular volumes correlate with core autism symptoms. NeuroImage: Clinical. 2015;7:631-9.
84. Casanova MF, van Kooten IA, Switala AE, van Engeland H, Heinsen H, Steinbusch HW, et al. Minicolumnar abnormalities in autism. Acta neuropathologica. 2006;112(3):287.
85. Geschwind DH, Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. Current opinion in neurobiology. 2007;17(1):103-11.
86. Minshew NJ, Williams DL. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. Archives of neurology. 2007;64(7):945-50.
87. Stoner R, Chow ML, Boyle MP, Sunkin SM, Mouton PR, Roy S, et al. Patches of disorganization in the neocortex of children with autism. New England Journal of Medicine. 2014;370(13):1209-19.
88. Kana RK, Libero LE, Moore MS. Disrupted cortical connectivity theory as an explanatory model for autism spectrum disorders. Physics of life reviews. 2011;8(4):410-37.
89. Schumann CM, Nordahl CW. Bridging the gap between MRI and postmortem research in autism. Brain research. 2011;1380:175-86.
90. Rapin I, Tuchman RF. Autism: definition, neurobiology, screening, diagnosis. Pediatric Clinics of North America. 2008;55(5):1129-46.
91. Jeste SS, Nelson CA. Event related potentials in the understanding of autism spectrum disorders: an analytical review. Journal of autism and developmental disorders. 2009;39(3):495.
92. Amaral D, Geschwind D, Dawson G. Autism spectrum disorders: Oxford University Press; 2011.
93. Volkmar FR, Lord C, Bailey A, Schultz RT, Klin A. Autism and pervasive developmental disorders. Journal of child psychology and psychiatry. 2004;45(1):135-70.

94. Chugani DC. Neuroimaging and neurochemistry of autism. Pediatric Clinics. 2012;59(1):63-73.
95. van Engeland H, Buitelaar JK. Autism spectrum disorders. Rutter's child and adolescent psychiatry. 2008:759-81.
96. McDougle CJ, Erickson CA, Stigler KA, Posey DJ. Neurochemistry in the pathophysiology of autism. The Journal of clinical psychiatry. 2005;66:9-18.
97. Gillberg C. Endogenous opioids and opiate antagonists in autism: brief review of empirical findings and implications for clinicians. Developmental Medicine & Child Neurology. 1995;37(3):239-45.
98. Nagy E, Loveland KA. Prolonged brainstem auditory evoked potentials: an autism-specific or autism-nonspecific marker. Archives of general psychiatry. 2002;59(3):288-9.
99. Fatemi SH, Halt AR, Stary JM, Kanodia R, Schulz SC, Realmuto GR. Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices. Biological psychiatry. 2002;52(8):805-10.
100. Rubenstein J, Merzenich MM. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. Genes, Brain and Behavior. 2003;2(5):255-67.
101. Kern JK, Jones AM. Evidence of toxicity, oxidative stress, and neuronal insult in autism. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. 2006;9(6):485-99.
102. Geier DA, Kern JK, Geier MA. A Prospective Study of Oxidative Stress Biomarkers in Autistic Disorders. E-Journal of Applied Psychology. 2009;5(1).
103. Young LJ. Oxytocin and vasopressin as candidate genes for psychiatric disorders: lessons from animal models. American journal of medical genetics. 2001;105(1):53-4.
104. Andari E, Duhamel J-R, Zalla T, Herbrecht E, Leboyer M, Sirigu A. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(9):4389-94.
105. Parker KJ, Oztan O, Libove RA, Sumiyoshi RD, Jackson LP, Karhson DS, et al. Intranasal oxytocin treatment for social deficits and biomarkers of response

in children with autism. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2017;114(30):8119-24.

106. Geier DA, Geier MR. A clinical trial of combined anti-androgen and anti-heavy metal therapy in autistic disorders. Neuroendocrinology Letters. 2006;27(6):833.
107. Davis EP, Pfaff D. Sexually dimorphic responses to early adversity: implications for affective problems and autism spectrum disorder. Psychoneuroendocrinology. 2014;49:11-25.
108. Rutter M. Genetic influences and autism. Handbook of autism and pervasive developmental disorders. 2005;1:425-52.
109. Taylor JL, Corbett BA. A review of rhythm and responsiveness of cortisol in individuals with autism spectrum disorders. Psychoneuroendocrinology. 2014;49:207-28.
110. Rossignol DA, Frye RE. Melatonin in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. Developmental Medicine & Child Neurology. 2011;53(9):783-92.
111. Won J, Jin Y, Choi J, Park S, Lee TH, Lee S-R, et al. Melatonin as a Novel Interventional Candidate for Fragile X Syndrome with Autism Spectrum Disorder in Humans. International journal of molecular sciences. 2017;18(6):1314.
112. Kim S, Kim H, Yim YS, Ha S, Atarashi K, Tan TG, et al. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring. Nature. 2017;549(7673):528.
113. Masi A, Glozier N, Dale R, Guastella AJ. The immune system, cytokines, and biomarkers in autism spectrum disorder. Neuroscience bulletin. 2017;33(2):194-204.
114. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. Neurotoxicology and teratology. 2013;36:67-81.
115. Edmonson CA, Ziats MN, Rennert OM. A non-inflammatory role for microglia in autism spectrum disorders. Frontiers in neurology. 2016;7:9.

116. Schmitz C, Rezaie P. The neuropathology of autism: where do we stand? Neuropathology and applied neurobiology. 2008;34(1):4-11.
117. Yang X, Liang S, Wang L, Han P, Jiang X, Wang J, et al. Sialic acid and anti-ganglioside antibody levels in children with autism spectrum disorders. Brain research. 2018;1678:273-7.
118. Li X, Chauhan A, Sheikh AM, Patil S, Chauhan V, Li X-M, et al. Elevated immune response in the brain of autistic patients. Journal of neuroimmunology. 2009;207(1-2):111-6.
119. Careaga M, Van de Water J, Ashwood P. Immune dysfunction in autism: a pathway to treatment. Neurotherapeutics. 2010;7(3):283-92.
120. Xu N, Li X, Zhong Y. Inflammatory cytokines: potential biomarkers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. Mediators of inflammation. 2015;2015.
121. Croonenberghs J, Bosmans E, Deboutte D, Kenis G, Maes M. Activation of the inflammatory response system in autism. Neuropsychobiology. 2002;45(1):1-6.
122. Gupta S, Aggarwal S, Rashanravan B, Lee T. Th1-and Th2-like cytokines in CD4+ and CD8+ T cells in autism. Journal of neuroimmunology. 1998;85(1):106-9.
123. Comi AM, Zimmerman AW, Frye VH, Law PA, Peeden JN. Familial clustering of autoimmune disorders and evaluation of medical risk factors in autism. Journal of child neurology. 1999;14(6):388-94.
124. Corrales M, Herbert M. Autism and environmental genomics: synergistic systems approaches to autism complexity. Autism spectrum disorders. 2011:875-92.
125. Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. Canadian Medical Association Journal. 2006;174(3):341-8.
126. Kubota T, Miyake K, Hariya N, Mochizuki K. Epigenetics as a basis for diagnosis of neurodevelopmental disorders: challenges and opportunities. Expert review of molecular diagnostics. 2014;14(6):685-97.

127. DiCicco-Bloom E, Lord C, Zwaigenbaum L, Courchesne E, Dager SR, Schmitz C, et al. The developmental neurobiology of autism spectrum disorder. Journal of Neuroscience. 2006;26(26):6897-906.
128. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. The British journal of psychiatry. 2009;195(1):7-14.
129. Sandin S, Schendel D, Magnusson P, Hultman C, Surén P, Susser E, et al. Autism risk associated with parental age and with increasing difference in age between the parents. Molecular Psychiatry. 2016;21(5):693.
130. Janecka M, Mill J, Basson M, Goriely A, Spiers H, Reichenberg A, et al. Advanced paternal age effects in neurodevelopmental disorders—review of potential underlying mechanisms. Translational psychiatry. 2017;7(1):e1019.
131. Meltzer A, Van de Water J. The role of the immune system in autism spectrum disorder. Neuropsychopharmacology. 2017;42(1):284.
132. Lintas C, Altieri L, Lombardi F, Sacco R, Persico AM. Association of autism with polyomavirus infection in postmortem brains. Journal of neurovirology. 2010;16(2):141-9.
133. Mazina V, Gerdts J, Trinh S, Ankenman K, Ward T, Dennis MY, et al. Epigenetics of autism-related impairment: copy number variation and maternal infection. Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP. 2015;36(2):61-7.
134. Brucato M, Ladd-Acosta C, Li M, Caruso D, Hong X, Kaczaniuk J, et al. Prenatal exposure to fever is associated with autism spectrum disorder in the boston birth cohort. Autism Research. 2017;10(11):1878-90.
135. Geier DA, Kern JK, Geier MR. A two-phase case-control study of autism risk among children born from the late 1990s through the early 2000s in the United States. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2016;22:5190.
136. Zhu X, Han Y, Du J, Liu R, Jin K, Yi W. Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. Oncotarget. 2017;8(32):53829.
137. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 2008;134(2):577-94.

138. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagiuoli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. World J Gastroenterol. 2016;22(1):361-8.
139. Linares DM, Ross P, Stanton C. Beneficial microbes: the pharmacy in the gut. Bioengineered. 2016;7(1):11-20.
140. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. Cell. 2014;157(1):121-41.
141. Takahashi K. Influence of bacteria on epigenetic gene control. Cellular and Molecular Life Sciences. 2014;71(6):1045-54.
142. Van de Wiele T, Van Praet JT, Marzorati M, Drennan MB, Elewaut D. How the microbiota shapes rheumatic diseases. Nature Reviews Rheumatology. 2016;12(7):398.
143. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. Science. 2012;336(6086):1262-7.
144. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. The Lancet. 2003;361(9356):512-9.
145. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. Nature reviews immunology. 2009;9(5):313.
146. Aslan FG, Altındiş M. İnsan Mikrobiyom Projesi, Mikrobiyotanın Geleceği ve Kişiye Özel Tıp Uygulamaları. Journal of Biotechnology and Strategic Health Research. 2017;1:1-6.
147. Rieder R, Wisniewski PJ, Alderman BL, Campbell SC. Microbes and mental health: A review. Brain Behav Immun. 2017;66:9-17.
148. Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney R, Shanahan F, et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. Molecular psychiatry. 2013;18(6):666.
149. Heijtz RD, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011;108(7):3047-52.

150. Furness J. Types of neurons in the enteric nervous system. Journal of the autonomic nervous system. 2000;81(1-3):87-96.
151. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. Nature reviews neuroscience. 2012;13(10):701.
152. Mayer EA. Gut feelings: the emerging biology of gut–brain communication. Nature Reviews Neuroscience. 2011;12(8):453.
153. Li Q, Han Y, Dy ABC, Hagerman RJ. The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. Front Cell Neurosci. 2017;11:120.
154. Sherwin E, Sandhu KV, Dinan TG, Cryan JF. May the force be with you: the light and dark sides of the microbiota–gut–brain axis in neuropsychiatry. CNS drugs. 2016;30(11):1019-41.
155. Konsman JP, Luheshi GN, Bluthé RM, Dantzer R. The vagus nerve mediates behavioural depression, but not fever, in response to peripheral immune signals; a functional anatomical analysis. European Journal of Neuroscience. 2000;12(12):4434-46.
156. Mayer EA, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. The Journal of clinical investigation. 2015;125(3):926-38.
157. Goehler LE, Park SM, Opitz N, Lyte M, Gaykema RP. Campylobacter jejuni infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. Brain, behavior, and immunity. 2008;22(3):354-66.
158. Lyte M, Li W, Opitz N, Gaykema RP, Goehler LE. Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia Citrobacter rodentium. Physiology & behavior. 2006;89(3):350-7.
159. Wang X, Wang B-R, Zhang X-J, Xu Z, Ding Y-Q, Ju G. Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. World journal of gastroenterology. 2002;8(3):540.
160. Forsythe P, Kunze WA. Voices from within: gut microbes and the CNS. Cellular and molecular life sciences. 2013;70(1):55-69.

161. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Innate immune recognition of the indigenous microbial flora. Mucosal immunology. 2008;1(1s):S10.
162. Bates JM, Akerlund J, Mittge E, Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. Cell host & microbe. 2007;2(6):371-82.
163. Bouskra D, Brézillon C, Bérard M, Werts C, Varona R, Boneca IG, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. Nature. 2008;456(7221):507.
164. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. Proceedings of the Nutrition Society. 2003;62(1):67-72.
165. Vella A, Farrugia G, editors. D-lactic acidosis: pathologic consequence of saprophytism. Mayo Clinic Proceedings; 1998: Elsevier.
166. YEŞİL E, ÇELİK A. Yağ Asitleri ve Antioksidanlar. Turkiye Klinikleri Journal of Cardiology Special Topics. 2017;10(4):274-80.
167. Bazinet RP, Layé S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. Nature Reviews Neuroscience. 2014;15(12):771.
168. Tüfekçi Alphan E, Yılmaz N. The effect of endocannabinoid system on energy metabolism and obesity. 2007.
169. Holmes E, Kinross J, Gibson GR, Burcelin R, Jia W, Pettersson S, et al. Therapeutic modulation of microbiota-host metabolic interactions. Science translational medicine. 2012;4(137):137rv6-rv6.
170. MacFabe DF. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. Microb Ecol Health Dis. 2015;26:28177.
171. Kuwahara A. Contributions of colonic short-chain fatty acid receptors in energy homeostasis. Frontiers in endocrinology. 2014;5:144.
172. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. Journal of lipid research. 2013;54(9):2325-40.

173. MacFabe DF. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders. Microbial ecology in health and disease. 2012;23(1):19260.
174. Canani RB, Di Costanzo M, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. World journal of gastroenterology: WJG. 2011;17(12):1519.
175. Varma GS. Major Depresif Bozuklukta Nöroinflamatuvar Hipotez/Neuroinflammatory Hypothesis in Major Depressive Disorder. Psikiyatride Guncel Yaklasimlar. 2014;6(1):1.
176. Tamam L, Zeren T. Depresyonda serotonerjik düzenekler. Klinik Psikiyatri Dergisi. 2002;5(Supp: 4):11-8.
177. Song C, Lin A, Bonaccorso S, Heide C, Verkerk R, Kenis G, et al. The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. Journal of affective disorders. 1998;49(3):211-9.
178. Schröcksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. Clinica chimica acta. 2006;364(1-2):82-90.
179. Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic Bifidobacterium infantis in the maternal separation model of depression. Neuroscience. 2010;170(4):1179-88.
180. BEDEL HA, COŞKUN A, USTA C. Kinürenin Yolağı ve İlişkili Nörodejeneratif Hastalıklar. Turkiye Klinikleri Journal of Neurology. 2018;13(2):35-46.
181. Kurnasov O, Jablonski L, Polanuyer B, Dorrestein P, Begley T, Osterman A. Aerobic tryptophan degradation pathway in bacteria: novel kynurenine formamidase. FEMS microbiology letters. 2003;227(2):219-27.
182. Agudelo LZ, Femenía T, Orhan F, Porsmyr-Palmertz M, Goiny M, Martinez-Redondo V, et al. Skeletal muscle PGC-1α1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. Cell. 2014;159(1):33-45.
183. Fiş NP, Berkem M. Nörotransmitter Sistemlerinin Gelişimi ve Psikopatolojiye Yansımaları. Klinik Psikofarmakoloji Bulteni. 2009;19(3).

184. Akdemir A, ÖRSEL S, KARAOĞLAN A. Depresyon Etiyolojisinde Nöropeptidler. Klinik Psikiyatri Dergisi. 2002;5(Supp: 4):24-9.
185. Bercik P, Verdu EF, Foster JA, Macri J, Potter M, Huang X, et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. Gastroenterology. 2010;139(6):2102-12. e1.
186. Barrett E, Ross R, O'toole P, Fitzgerald G, Stanton C. γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. Journal of applied microbiology. 2012;113(2):411-7.
187. Gatto CL, Broadie K. Genetic controls balancing excitatory and inhibitory synaptogenesis in neurodevelopmental disorder models. Frontiers in synaptic neuroscience. 2010;2:4.
188. Smith-Hicks CL. GABAergic dysfunction in pediatric neuro-developmental disorders. Frontiers in cellular neuroscience. 2013;7:269.
189. Lakhani R, Vogel KR, Till A, Liu J, Burnett SF, Gibson KM, et al. Defects in GABA metabolism affect selective autophagy pathways and are alleviated by mTOR inhibition. EMBO molecular medicine. 2014:e201303356.
190. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011:201102999.
191. Lam KS, Aman MG, Arnold LE. Neurochemical correlates of autistic disorder: a review of the literature. 2006.
192. Nathan KI, Schatzberg AF. Mood disorders. Review of Psychiatry. 1994;13.
193. Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey III JF, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. The FASEB Journal. 2014;29(4):1395-403.
194. Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. Brain research reviews. 2004;45(2):104-14.
195. Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. Pharmacological reviews. 2012;64(2):238-58.

196. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. Gastroenterology. 2011;141(2):599-609. e3.
197. Esworthy RS, Smith DD, Chu F-F. A strong impact of genetic background on gut microflora in mice. International journal of inflammation. 2010;2010.
198. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. The Journal of physiology. 2004;558(1):263-75.
199. Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. Gut. 2011;60(3):307-17.
200. Neufeld K-AM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior. Communicative & integrative biology. 2011;4(4):492-4.
201. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. nature. 2012;486(7402):222.
202. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature. 2014;505(7484):559.
203. Heberling CA, Dhurjati PS, Sasser M. Hypothesis for a systems connectivity model of autism spectrum disorder pathogenesis: Links to gut bacteria, oxidative stress, and intestinal permeability. Medical hypotheses. 2013;80(3):264-70.
204. Tükel R, Alkın T. Anksiyete bozuklukları. Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları. 2000;1:551-2.
205. Aydemir Ö, Ergün H, Soygür H, Kesebir S, Tulunay C. Major Depresif Bozuklukta Yaşam Kalitesi: Kesitsel Bir Çalişma. Turk Psikiyatri Dergisi. 2009;20(3).
206. Dinan TG, Cryan JF. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? Neurogastroenterology & Motility. 2013;25(9):713-9.

207. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. Nature neuroscience. 2015;18(10):1353.
208. Ervatan SÖ, Özel A, Türkçapar H, Atasoy N. Depresif hastalarda tedaviye uyum: doğal izlem çalışması. Klinik Psikiyatri Dergisi. 2003;6:5-11.
209. Kelly JR, Borre Y, O'Brien C, Patterson E, El Aidy S, Deane J, et al. Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. Journal of psychiatric research. 2016;82:109-18.
210. O'Mahony SM, Marchesi JR, Scully P, Codling C, Ceolho A-M, Quigley EM, et al. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. Biological psychiatry. 2009;65(3):263-7.
211. Liu Y-W, Liu W-H, Wu C-C, Juan Y-C, Wu Y-C, Tsai H-P, et al. Psychotropic effects of Lactobacillus plantarum PS128 in early life-stressed and naïve adult mice. Brain research. 2016;1631:1-12.
212. Bailey MT, Coe CL. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology. 1999;35(2):146-55.
213. Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V, et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. Psychoneuroendocrinology. 2014;42:207-17.
214. Wang T, Hu X, Liang S, Li W, Wu X, Wang L, et al. Lactobacillus fermentum NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. Beneficial microbes. 2015;6(5):707-17.
215. Jiang H, Ling Z, Zhang Y, Mao H, Ma Z, Yin Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. Brain, behavior, and immunity. 2015;48:186-94.
216. Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, Sekelja M, Linløkken A, Wilson R, et al. Correlation between the human fecal microbiota and depression. Neurogastroenterology & Motility. 2014;26(8):1155-62.

217. Bastiaanssen TF, Cowan CS, Claesson MJ, Dinan TG, Cryan JF. Making sense of… the microbiome in psychiatry. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2018;22(1):37-52.
218. Steenbergen L, Sellaro R, van Hemert S, Bosch JA, Colzato LS. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. Brain, behavior, and immunity. 2015;48:258-64.
219. Savignac H, Kiely B, Dinan T, Cryan J. B ifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. Neurogastroenterology & Motility. 2014;26(11):1615-27.
220. Maes M, Kubera M, Leunis J-C, Berk M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. Journal of affective disorders. 2012;141(1):55-62.
221. Romijn AR, Rucklidge JJ, Kuijer RG, Frampton C. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of Lactobacillus helveticus and Bifidobacterium longum for the symptoms of depression. Australian & New Zealand Journal of Psychiatry. 2017;51(8):810-21.
222. MacQueen G, Surette M, Moayyedi P. The gut microbiota and psychiatric illness. Journal of psychiatry & neuroscience: JPN. 2017;42(2):75.
223. Rowland AS, Lesesne CA, Abramowitz AJ. The epidemiology of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a public health view. Mental retardation and developmental disabilities research reviews. 2002;8(3):162-70.
224. Camcioğlu T, Yildiz Ö, Ağaoğlu B. DEHB tanısı konmuş çocukların anne babalarında DEHB sıklığı. Anatolian Journal of Psychiatry/Anadolu Psikiyatri Dergisi. 2011;12(3).
225. Millichap JG, Yee MM. The diet factor in attention-deficit/hyperactivity disorder. Pediatrics. 2012;129(2):330-7.
226. Cenit MC, Sanz Y, Codoñer-Franch P. Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. World journal of gastroenterology. 2017;23(30):5486.

227. Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Cradock MM, Anand K. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. Jama. 2002;288(6):728-37.
228. Johnson S, Hollis C, Kochhar P, Hennessy E, Wolke D, Marlow N. Psychiatric disorders in extremely preterm children: longitudinal finding at age 11 years in the EPICure study. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2010;49(5):453-63. e1.
229. Curran EA, O'neill SM, Cryan JF, Kenny LC, Dinan TG, Khashan AS, et al. Research review: birth by caesarean section and development of autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. Journal of Child Psychology and Psychiatry. 2015;56(5):500-8.
230. Curran EA, Khashan AS, Dalman C, Kenny LC, Cryan JF, Dinan TG, et al. Obstetric mode of delivery and attention-deficit/hyperactivity disorder: a sibling-matched study. International journal of epidemiology. 2016;45(2):532-42.
231. Pärtty A, Kalliomäki M, Wacklin P, Salminen S, Isolauri E. A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: a randomized trial. Pediatric research. 2015;77(6):823.
232. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. Nature medicine. 2014;20(2):159.
233. Tandon R, Gaebel W, Barch DM, Bustillo J, Gur RE, Heckers S, et al. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. Schizophrenia research. 2013;150(1):3-10.
234. Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, Lennox BR, Yolken R, Jones PB. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment. The Lancet Psychiatry. 2015;2(3):258-70.
235. Bhadra R, Cobb DA, Weiss LM, Khan IA. Psychiatric disorders in toxoplasma seropositive patients—the CD8 connection. Schizophrenia bulletin. 2013;39(3):485-9.

236. Molloy MJ, Grainger JR, Bouladoux N, Hand TW, Koo LY, Naik S, et al. Intraluminal containment of commensal outgrowth in the gut during infection-induced dysbiosis. Cell host & microbe. 2013;14(3):318-28.
237. Brown AS, Derkits EJ. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. American Journal of Psychiatry. 2009;167(3):261-80.
238. Severance EG, Alaedini A, Yang S, Halling M, Gressitt KL, Stallings CR, et al. Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. Schizophrenia research. 2012;138(1):48-53.
239. Severance EG, Gressitt KL, Stallings CR, Origoni AE, Khushalani S, Leweke FM, et al. Discordant patterns of bacterial translocation markers and implications for innate immune imbalances in schizophrenia. Schizophrenia research. 2013;148(1-3):130-7.
240. Schwarz E, Maukonen J, Hyytiäinen T, Kieseppä T, Orešič M, Sabunciyan S, et al. Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response. Schizophrenia research. 2018;192:398-403.
241. Castro-Nallar E, Bendall ML, Pérez-Losada M, Sabuncyan S, Severance EG, Dickerson FB, et al. Composition, taxonomy and functional diversity of the oropharynx microbiome in individuals with schizophrenia and controls. PeerJ. 2015;3:e1140.
242. Yolken RH, Severance EG, Sabunciyan S, Gressitt KL, Chen O, Stallings C, et al. Metagenomic sequencing indicates that the oropharyngeal phageome of individuals with schizophrenia differs from that of controls. Schizophrenia bulletin. 2015;41(5):1153-61.
243. O'neill SM, Curran EA, Dalman C, Kenny LC, Kearney PM, Clarke G, et al. Birth by caesarean section and the risk of adult psychosis: a population-based cohort study. Schizophrenia bulletin. 2015;42(3):633-41.
244. Lv F, Chen S, Wang L, Jiang R, Tian H, Li J, et al. The role of microbiota in the pathogenesis of schizophrenia and major depressive disorder and the possibility of targeting microbiota as a treatment option. Oncotarget. 2017;8(59):100899.

245. Slyepchenko A, Maes M, Jacka FN, Köhler CA, Barichello T, McIntyre RS, et al. Gut microbiota, bacterial translocation, and interactions with diet: pathophysiological links between major depressive disorder and non-communicable medical comorbidities. Psychotherapy and psychosomatics. 2017;86(1):31-46.
246. Jørgensen BP, Krych L, Pedersen TB, Plath N, Redrobe JP, Hansen AK, et al. Investigating the long-term effect of subchronic phencyclidine-treatment on novel object recognition and the association between the gut microbiota and behavior in the animal model of schizophrenia. Physiology & behavior. 2015;141:32-9.
247. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. science. 2005;307(5717):1915-20.
248. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO reports. 2006;7(7):688-93.
249. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. Anaerobe. 2010;16(4):444-53.
250. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism–comparisons to typical children and correlation with autism severity. BMC gastroenterology. 2011;11(1):22.
251. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen M-L, Bolte E, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. Clinical Infectious Diseases. 2002;35(Supplement_1):S6-S16.
252. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. Journal of medical microbiology. 2005;54(10):987-91.
253. Song Y, Liu C, Finegold SM. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. Applied and environmental microbiology. 2004;70(11):6459-65.
254. De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, De Giacomo A, Serrazzanetti DI, et al. Fecal microbiota and metabolome of children with

autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. PloS one. 2013;8(10):e76993.

255. Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. Physiol Behav. 2015;138:179-87.
256. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of Sutterella species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. MBio. 2012;3(1):e00261-11.
257. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen M-L, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. Journal of child neurology. 2000;15(7):429-35.
258. Kinney DK, Munir KM, Crowley DJ, Miller AM. Prenatal stress and risk for autism. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2008;32(8):1519-32.
259. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. Cell. 2013;155(7):1451-63.
260. Machado CJ, Whitaker AM, Smith SE, Patterson PH, Bauman MD. Maternal immune activation in nonhuman primates alters social attention in juvenile offspring. Biological psychiatry. 2015;77(9):823-32.
261. Persico AM, Napolioni V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. Neurotoxicology and teratology. 2013;36:82-90.
262. de Theije CG, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J, et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. Brain, behavior, and immunity. 2014;37:197-206.
263. Felice VD, O'Mahony SM. The microbiome and disorders of the central nervous system. Pharmacol Biochem Behav. 2017;160:1-13.
264. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. The American journal of clinical nutrition. 2004;80(6):1611-7.

265. Geier DA, Kern JK, Garver CR, Adams JB, Audhya T, Geier MR. A prospective study of transsulfuration biomarkers in autistic disorders. Neurochemical research. 2009;34(2):386.
266. Geier DA, Geier MR. A clinical and laboratory evaluation of methionine cycle-transsulfuration and androgen pathway markers in children with autistic disorders. Hormone Research in Paediatrics. 2006;66(4):182-8.
267. Alberti A, Pirrone P, Elia M, Waring RH, Romano C. Sulphation deficit in "low-functioning" autistic children: a pilot study. Biological psychiatry. 1999;46(3):420-4.
268. Phillips T. The role of methylation in gene expression. Nature Education. 2008;1(1):116.
269. Khachatryan ZA, Ktsoyan ZA, Manukyan GP, Kelly D, Ghazaryan KA, Aminov RI. Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota. PloS one. 2008;3(8):e3064.
270. Dicksved J, Halfvarson J, Rosenquist M, Järnerot G, Tysk C, Apajalahti J, et al. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. The ISME journal. 2008;2(7):716.
271. Gibson GR, Macfarlane G, Cummings J. Sulphate reducing bacteria and hydrogen metabolism in the human large intestine. Gut. 1993;34(4):437.
272. Newton D, Cummings J, Macfarlane S, Macfarlane G. Growth of a human intestinal Desulfovibrio desulfuricans in continuous cultures containing defined populations of saccharolytic and amino acid fermenting bacteria. Journal of applied microbiology. 1998;85(2):372-80.
273. MacFabe DF, Cain DP, Rodriguez-Capote K, Franklin AE, Hoffman JE, Boon F, et al. Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. Behavioural brain research. 2007;176(1):149-69.
274. MacFabe DF, Cain NE, Boon F, Ossenkopp K-P, Cain DP. Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: relevance to autism spectrum disorder. Behavioural brain research. 2011;217(1):47-54.

275. Thomas RH, Meeking MM, Mepham JR, Tichenoff L, Possmayer F, Liu S, et al. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. Journal of neuroinflammation. 2012;9(1):153.
276. Kratsman N, Getselter D, Elliott E. Sodium butyrate attenuates social behavior deficits and modifies the transcription of inhibitory/excitatory genes in the frontal cortex of an autism model. Neuropharmacology. 2016;102:136-45.
277. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. Dig Dis Sci. 2012;57(8):2096-102.
278. Buffington SA, Di Prisco GV, Auchtung TA, Ajami NJ, Petrosino JF, Costa-Mattioli M. Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. Cell. 2016;165(7):1762-75.
279. Poutahidis T, Kearney SM, Levkovich T, Qi P, Varian BJ, Lakritz JR, et al. Microbial symbionts accelerate wound healing via the neuropeptide hormone oxytocin. PloS one. 2013;8(10):e78898.
280. MARUNGRUANG N. Gut microbiota to counteract metabolic disorders and neuroinflammation.
281. Liu Z, Li N, Neu J. Tight junctions, leaky intestines, and pediatric diseases. Acta paediatrica. 2005;94(4):386-93.
282. Teshima CW, Meddings JB. The measurement and clinical significance of intestinal permeability. Current gastroenterology reports. 2008;10(5):443-9.
283. Kranich J, Maslowski KM, Mackay CR, editors. Commensal flora and the regulation of inflammatory and autoimmune responses. Seminars in immunology; 2011: Elsevier.
284. Watts T, Berti I, Sapone A, Gerarduzzi T, Not T, Zielke R, et al. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2005;102(8):2916-21.
285. Aktories K, Just I. Clostridial Rho-inhibiting protein toxins. Bacterial Virulence Factors and Rho GTPases: Springer; 2005. p. 113-45.

286. de Theije CG, Wu J, da Silva SL, Kamphuis PJ, Garssen J, Korte SM, et al. Pathways underlying the gut-to-brain connection in autism spectrum disorders as future targets for disease management. European journal of pharmacology. 2011;668:S70-S80.
287. Cunningham C, Wilcockson DC, Campion S, Lunnon K, Perry VH. Central and systemic endotoxin challenges exacerbate the local inflammatory response and increase neuronal death during chronic neurodegeneration. Journal of Neuroscience. 2005;25(40):9275-84.
288. Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong JS, et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. Glia. 2007;55(5):453-62.
289. Emanuele E, Orsi P, Boso M, Broglia D, Brondino N, Barale F, et al. Low-grade endotoxemia in patients with severe autism. Neurosci Lett. 2010;471(3):162-5.
290. Berding K, Donovan SM. Microbiome and nutrition in autism spectrum disorder: current knowledge and research needs. Nutrition reviews. 2016;74(12):723-36.
291. Berding K, Donovan SM. Diet can impact microbiota composition in children with autism spectrum disorder. Frontiers in neuroscience. 2018;12.
292. Lien E, Aukrust P, Sundan A, Müller F, Frøland SS, Espevik T. Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. Blood. 1998;92(6):2084-92.
293. Funda DP, Tučková L, Farré MA, Iwase T, Moro I, Tlaskalová-Hogenová H. CD14 is expressed and released as soluble CD14 by human intestinal epithelial cells in vitro: lipopolysaccharide activation of epithelial cells revisited. Infection and immunity. 2001;69(6):3772-81.
294. Korpelainen S, Intke C, Hämäläinen S, Jantunen E, Juutilainen A, Pulkki K. Soluble CD14 as a diagnostic and prognostic biomarker in hematological patients with febrile neutropenia. Disease markers. 2017;2017.
295. Martinez-Lopez DG, Funderburg NT, Cerissi A, Rifaie R, Aviles-Medina L, Llorens-Bonilla BJ, et al. Lipopolysaccharide and soluble CD14 in cord blood

plasma are associated with prematurity and chorioamnionitis. Pediatric research. 2014;75(1-1):67.

296. Dinh DM, Volpe GE, Duffalo C, Bhalchandra S, Tai AK, Kane AV, et al. Intestinal microbiota, microbial translocation, and systemic inflammation in chronic HIV infection. The Journal of infectious diseases. 2014;211(1):19-27.
297. Jiang NM, Tofail F, Ma JZ, Haque R, Kirkpatrick B, Nelson III CA, et al. Early life inflammation and neurodevelopmental outcome in Bangladeshi infants growing up in adversity. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2017;97(3):974-9.
298. Hosein SR. The importance of soluble CD14 and inflammation.
299. González-Sarrías A, Romo-Vaquero M, García-Villalba R, Cortés-Martín A, Selma MV, Espín JC. The Endotoxemia Marker Lipopolysaccharide-Binding Protein is Reduced in Overweight-Obese Subjects Consuming Pomegranate Extract by Modulating the Gut Microbiota: A Randomized Clinical Trial. Molecular nutrition & food research. 2018;62(11):1800160.
300. Gutsmann T, Müller M, Carroll SF, MacKenzie RC, Wiese A, Seydel U. Dual role of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein in neutralization of LPS and enhancement of LPS-induced activation of mononuclear cells. Infection and immunity. 2001;69(11):6942-50.
301. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. Endocrine reviews. 2010;31(6):817-44.
302. Moreno-Navarrete J, Blasco G, Puig J, Biarnés C, Rivero M, Gich J, et al. Neuroinflammation in obesity: circulating lipopolysaccharide-binding protein associates with brain structure and cognitive performance. International Journal of Obesity. 2017;41(11):1627.
303. Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: a mini-review. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2015;29(3):157-63.
304. Bjarnason I. The use of fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. Gastroenterology & hepatology. 2017;13(1):53.

305. Ikhtaire S, Shajib MS, Reinisch W, Khan WI. Fecal calprotectin: its scope and utility in the management of inflammatory bowel disease. Journal of gastroenterology. 2016;51(5):434-46.
306. Pusponegoro HD, Ismael S, Sastroasmoro S, Firmansyah A, Vandenplas Y. Maladaptive Behavior and Gastrointestinal Disorders in Children with Autism Spectrum Disorder. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2015;18(4):230-7.
307. Babinská K, Tomova A, Celušáková H, Babková J, Repiská G, Kubranská A, et al. Fecal Calprotectin Levels Correlate With Main Domains of the Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) in a Sample of Individuals With Autism Spectrum Disorders From Slovakia. Physiological research. 2017;66(Supplementum 4):S517-S22.
308. Schopler E, Reichler RJ, Renner BR. The childhood autism rating scale (CARS): Western Psychological Services Los Angeles, CA; 2002.
309. Rellini E, Tortolani D, Trillo S, Carbone S, Montecchi F. Childhood Autism Rating Scale (CARS) and Autism Behavior Checklist (ABC) correspondence and conflicts with DSM-IV criteria in diagnosis of autism. Journal of autism and developmental disorders. 2004;34(6):703-8.
310. Teal MB, Wiebe MJ. A validity analysis of selected instruments used to assess autism. Journal of Autism and Developmental Disorders. 1986;16(4):485-94.
311. Mesibov GB, Schopler E, Schaffer B, Michal N. Use of the childhood autism rating scale with autistic adolescents and adults. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 1989;28(4):538-41.
312. Yılmaz K, Altındiş M. Sindirim Sistemi Mikrobiyotasi Ve Fekal Transplantasyon. Nobel Medicus Journal. 2017;13(1).
313. Gassaloğlu Sİ, Baykara B, Avcil S, Demiral Y. Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği Türkçe Formunun Geçerlik ve Güvenilirlik Çalışması. 2016.
314. Dursun O, Guvenir T, Aras S, Ergin C, Mutlu C, Baydur H, et al. A new diagnostic approach for Turkish speaking populations DAWBA Turkish Version. Epidemiology and psychiatric sciences. 2013;22(3):275-82.
315. Goodman R, Ford T, Richards H, Gatward R, Meltzer H. The Development and Well-Being Assessment: description and initial validation of an integrated

assessment of child and adolescent psychopathology. The Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines. 2000;41(5):645-55.

316. Schneider CK, Melmed RD, Barstow LE, Enriquez FJ, Ranger-Moore J, Ostrem JA. Oral human immunoglobulin for children with autism and gastrointestinal dysfunction: a prospective, open-label study. Journal of autism and developmental disorders. 2006;36(8):1053-64.
317. Aslan NN, Yardimci H. Anne Sütü ve Mikrobiyota. Turkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics. 2017;3(2):95-100.
318. Frazier JA, Biederman J, Bellordre CA, Garfield SB, Geller DA, Coffey BJ, et al. Should the diagnosis of attention-deficit/hyperactivity disorder be considered in children with pervasive developmental disorder? Journal of Attention Disorders. 2001;4(4):203-11.
319. Jokiranta-Olkoniemi E, Cheslack-Postava K, Sucksdorff D, Suominen A, Gyllenberg D, Chudal R, et al. Risk of psychiatric and neurodevelopmental disorders among siblings of probands with autism spectrum disorders. JAMA psychiatry. 2016;73(6):622-9.
320. Rankin JA, Tomeny TS, Barry TD. Multi-informant assessment of siblings of youth with autism spectrum disorder: Parent-child discrepancies in at-risk classification. Research in developmental disabilities. 2017;68:78-87.
321. Ghirardi L, Brikell I, Kuja-Halkola R, Freitag CM, Franke B, Asherson P, et al. The familial co-aggregation of ASD and ADHD: a register-based cohort study. Molecular psychiatry. 2018;23(2):257.
322. Bilir N, Aslan DD. Türkiye'de ve Hacettepe'de tütün kontrol çalışmaları. Hacettepe Tıp Dergisi. 2005;36:75-9.
323. Rutter MJ, Bishop D, Pine D, Scott S, Stevenson JS, Taylor EA, et al. Rutter's child and adolescent psychiatry: John Wiley & Sons; 2011.
324. Bishop DV, Maybery M, Maley A, Wong D, Hill W, Hallmayer J. Using self-report to identify the broad phenotype in parents of children with autistic spectrum disorders: a study using the Autism-Spectrum Quotient. Journal of child psychology and psychiatry. 2004;45(8):1431-6.

325. Kogan MD, Blumberg SJ, Schieve LA, Boyle CA, Perrin JM, Ghandour RM, et al. Prevalence of parent-reported diagnosis of autism spectrum disorder among children in the US, 2007. Pediatrics. 2009;124(5):1395-403.
326. McPartland J, Volkmar FR. Autism and related disorders. Handbook of clinical neurology. 106: Elsevier; 2012. p. 407-18.
327. ÖZ NS. Tipik Gelişen ve Otizm Spektrum Bozukluğu Olan Çocuklarin Yeme Davranişlari ve Ebeveynlerin Yemek Zamani Tutumlarinin Arasindaki Ilişkinin Incelenmesi: Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2019.
328. Ünal G, Özenoğlu A. Nörogelişimsel bozukluklarda beslenme. 2016.
329. Karaağaoğlu N, Samur GE. Anne ve çocuk beslenmesi. Ankara, Pegem Akademi. 2011.
330. Özdemir A, Demirel ZB. Beslenme ve Mikrobiyota İlişkisi. Journal of Biotechnology And Strategic Health Research. 2017;1:25-33.
331. Hsiao EY. Gastrointestinal issues in autism spectrum disorder. Harv Rev Psychiatry. 2014;22(2):104-11.
332. Yang XL, Liang S, Zou MY, Sun CH, Han PP, Jiang XT, et al. Are gastrointestinal and sleep problems associated with behavioral symptoms of autism spectrum disorder? Psychiatry Res. 2018;259:229-35.
333. Badalyan V, Schwartz RH. Mealtime feeding behaviors and gastrointestinal dysfunction in children with classic autism compared with normal sibling controls. Open Journal of Pediatrics. 2012;02(02):150-60.
334. Zhu J, Guo M, Yang T, Lai X, Lei YY, He ML, et al. [Association between behavioral problems and gastrointestinal disorders among children with autism spectrum disorder]. Zhonghua Er Ke Za Zhi. 2017;55(12):905-10.
335. Nier A, Engstler AJ, Maier IB, Bergheim I. Markers of intestinal permeability are already altered in early stages of non-alcoholic fatty liver disease: Studies in children. PLoS One. 2017;12(9):e0183282.
336. Berner R, Fürll B, Stelter F, Dröse J, Müller H-P, Schütt C. Elevated levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis. Clinical and diagnostic laboratory immunology. 2002;9(2):440-5.

337. Johansson V, Jakobsson J, Fortgang RG, Zetterberg H, Blennow K, Cannon TD, et al. Cerebrospinal fluid microglia and neurodegenerative markers in twins concordant and discordant for psychotic disorders. European archives of psychiatry and clinical neuroscience. 2017;267(5):391-402.
338. de Magistris L, Familiari V, Pascotto A, Sapone A, Frolli A, Iardino P, et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2010;51(4):418-24.
339. Kushak RI, Buie TM, Murray KF, Newburg DS, Chen C, Nestoridi E, et al. Evaluation of intestinal function in children with autism and gastrointestinal symptoms. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2016;62(5):687-91.
340. Williams BL, Hornig M, Buie T, Bauman ML, Paik MC, Wick I, et al. Impaired carbohydrate digestion and transport and mucosal dysbiosis in the intestines of children with autism and gastrointestinal disturbances. PloS one. 2011;6(9):e24585.
341. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011;108(Supplement 1):4586-91.
342. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. nature. 2010;464(7285):59.
343. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. The relative abundance of the mucolytic bacterium Akkermansia muciniphila and Bifidobacterium spp. is lower in feces of children with autism. Applied and environmental microbiology. 2011:AEM. 05212-11.
344. Schiffrin E, Kociubinski G. Endotoxin binding lactic acid bacteria and bifidobacteria. Google Patents; 2009.
345. Ohtsuka Y, Ikegami T, Izumi H, Namura M, Ikeda T, Ikuse T, et al. Effects of Bifidobacterium breve on inflammatory gene expression in neonatal and weaning rat intestine. Pediatric research. 2012;71(1):46.

346. Ongol M. Lactic acid bacteria in health and disease. Rwanda Journal of Health Sciences. 2012;1(1):39-50.

EKLER

EK-1. Sosyodemografik Veri Formu

1. **Hastanın adı-soyadı:** Tarih:
2. Hastanın Cinsiyeti: Erkek ( ) Kız ( )
3. Doğum Tarihi:
4. Hastanın Yaşı:
5. Doğum Yeri:
6. Aile Tipi: Çekirdek Aile ( ) Geniş Aile ( ) Parçalanmış Aile ( )
7. **Kilo: Boy: BMI:**

Annenin:

8. Yaşı:
9. Eğitim Düzeyi: Okur yazar değil ( ) İlkokul ( ) Ortaokul ( ) Lise ( ) Üniversite ( )
10. Mesleği: Ev Hanımı ( ) Memur ( ) İşçi ( ) Serbest meslek ( ) Diğer:
11. Tedavi Gördüğü Psikiyatrik Rahatsızlık: Depresyon ( ) Anksiyete ( ) Bipolar Boz ( ) Şizofreni ( ) Diğer:
12. Bedensel Hastalık: Var ( ) Yok ( ) Varsa belirtiniz:
13. Sigara: İçmiyor ( ) Ara sıra içiyor ( ) Düzenli içiyor ( ) Alışkanlık düzeyinde içiyor ()
14. Alkol: İçmiyor ( ) Ara sıra içiyor ( ) Düzenli içiyor ( ) Alışkanlık düzeyinde içiyor()

Babanın:

15. Yaşı:
16. Eğitim Düzeyi: Okur yazar değil ( ) İlkokul ( ) Ortaokul ( ) Lise ( ) Üniversite ( )
17. Mesleği: Ev Hanımı ( ) Memur ( ) İşçi ( ) Serbest meslek ( ) Diğer:
18. Tedavi Gördüğü Psikiyatrik Rahatsızlık: Depresyon ( ) Anksiyete ( ) Bipolar Boz ( ) Şizofreni ( ) Diğer:
19. Bedensel Hastalık: Var ( ) Yok ( ) Varsa belirtiniz:
20. Sigara: İçmiyor ( ) Ara sıra içiyor ( ) Düzenli içiyor ( ) Alışkanlık düzeyinde içiyor ()
21. Alkol: İçmiyor ( ) Ara sıra içiyor ( ) Düzenli içiyor ( ) Alışkanlık düzeyinde içiyor ()

22. Ailede Psikiyatrik Hastalık öyküsü: Var ( ) Yok ( ) Varsa Tanıyı ve Tedaviyi Belirtin:
23. Aile içinde sorunlar yaşanır mı?: Hiç ( ) Her evde olduğu kadar ( ) Çok ( )
24. Ailenin toplam geliri: 1000tl ve altı ( ) 1000-2000tl ( ) 2000-5000 ( ) 5000tl üstü ( )

25. Oturulan yerin özelliği: İl Merkezi ( ) İlçe Merkezi ( ) Kasaba ( ) Köy ( )

26. Gebelik: Planlı ( ) Plansız ( )
27. Gebelik: İstenen ( ) İstenmeyen ( )
28. Hamilelik boyunca tıbbi veya psikiyatrik bir sorun yaşandı mı?
Var ( ) Yok ( ) Var ise:
29. Gestasyonel yaşı: Premature ( ) Zamanında ( ) Postmature ( )
30. Doğum: Normal ( ) Sezeryan ( )
Doğumda tıbbi sorun yaşandı mı? : Yok ( ) Erken Doğum ( ) Zor ya da Uzamış Doğum ( )
Suni Sancı ( ) Makat Gelişi ( ) Kordon dolanması ( ) Diğer:
31. Doğum sonrasında çocuğunuz tıbbi bir sorun yaşadı mı? :
Yok ( ) Sarılık ( ) Morarma ( ) Kaka Yutma ( )
Küvöz Bakımı ( ) Düşük doğum ağırlığı ( ) Yenidoğan Enfeksiyonu ( )
Solunum Yetmezliği ( ) Havale ( ) Diğer:
32. Bebeklik döneminde beslenme şekli:
Anne Sütü ( ) Ne kadar süre anne sütü ile beslendi?
Formula mama ( )
33. Çocuğunuza ek gıdaya geçerken herhangi bir sıkıntı yaşadınız mı?
Gıda Allerjisi: Var ( ) Yok ( )
Yeme reddi ( )
34. Çocuğunuz yemek seçer mi? Evet ( ) Hayır ( )
Evet ise hep aynı gıda çeşitlerini mi tercih eder; diğer gıda çeşitlerini yememe durumu var mı?
Var ise özellikle seçtiği ve yemediği gıdaları belirtiniz.

35. İlk 6 ayında çocuğunuza herhangi bir gıda takviyesi verdiniz mi ?
Vitamin ( ) Demir ( ) Omega3 ( ) Zn/Çinko ( ) Kalsiyum ( ) Diğer ( )

36. Çocuğunuzun doğumdan sonraki ilk 6 ayında antibiyotik kullandınız mı?
37. Çocuğunuzun herhangi bir tıbbi rahatsızlığı var mı?

38. Hastaneye yatarak tedavi aldı mı? Evet ( ) Kaç gün? Hayır ( )
39. Son 2 ay içinde antibiyotik kullandı mı?

40. Çocuğunuz kaç aylıkken başını tuttu? :
41. Çocuğunuz kaç aylıkken desteksiz oturdu? :
42. Çocuğunuz kaç aylıkken yürüdü? :
43. Çocuğunuz kaç aylıkken tek tek anlamlı kelimeler çıkardı? :
44. Çocuğunuz kaç yaşında cümle kurmaya başladı? :
45. Çocuğunuz kaç yaşında tuvalet eğitimi aldı? :
46. Çocuğun bakımıyla daha çok kim ilgilenir? : Anne ( ) Baba ( ) Diğer:

Kardeşler:

47. Yaşı: Cinsiyeti: Eğitim Durumu: Psikiyatrik veya Tıbbi Rahatsızlığı: Yok ( ) Var ( ) Belirtiniz:
48. Yaşı: Cinsiyeti: Eğitim Durumu: Psikiyatrik veya Tıbbi Rahatsızlığı: Yok ( ) Var ( ) Belirtiniz:
49. Yaşı: Cinsiyeti: Eğitim Durumu: Psikiyatrik veya Tıbbi Rahatsızlığı: Yok ( ) Var ( ) Belirtiniz:

Aynı evde yaşayan diğer bireyler:

50. Yakınlık Dercesi: Eğitim Durumu: Psikiyatrik veya Tıbbi Rahatsızlığı: Yok ( ) Var ( ) Belirtiniz:

Diyet alışkanlığı:

51. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla süt ve süt ürünlerini (Yoğurt, peynir, kefir, ayran) tüketir?
    Günde 1-2 kez ( ) Günde 3-4 kez ( ) Günde 5-6 kez ( ) Diğer ( )

52. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla protein yoğunluklu hayvansal ürünler (yumurta, et, balık, tavuk) tüketir?
    Günde 1-2 kez ( ) Günde 3-4 kez ( ) Günde 5-6 kez ( ) Diğer ( )

53. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla asitli olmayan meşrubat (meyve suyu) tüketir?
    Günde 1-2 kez ( ) Günde 3-4 kez ( ) Günde 5-6 kez ( ) Diğer ( )

54. Çocuğunuz turşu sever mi?
    Evet ise ne kadar sıklıkla yer?
    Haftada1-2 kez ( ) Haftada 3-4 kez ( ) Haftada 5 kez ve fazlası ( )
    Diğer ( )

55. Çocuğunuz günde kaç dilim ekmek (buğday, çavdar, kepek, bazlama, yulaf) yer?
    Günde 1-2 dilim ( ) Günde 3-4 dilim ( ) Günde 5 ve fazla dilim ( )
    Diğer ( )

56. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla kurubaklagil (nohut, fasulye, mercimek) tüketir?
    Haftada1-2 kez ( ) Haftada 3-4 kez ( ) Haftada 5 kez ve fazlası ( )
    Diğer ( )

57. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla **ekşili** meyve (özellikle mandalina, portakal, limon gibi turunçgil) tüketir?
Günde 1-2 kez ( ) Günde 3-4 kez ( ) Günde 5 ve fazla ( )
Diğer ( )

58. Çocuğunuz ne kadar sıklıkla sebze tüketir?
Haftada1-2 kez ( ) Haftada 3-4 kez ( ) Haftada 5 kez ve fazlası ( )
Diğer ( )

59. Çocuğunuz soğan, sarımsak, pırasa gibi sebzeleri çiğ olarak tüketir mi?
Evet ise ne kadar sıklıkla yer?
Haftada1-2 kez ( ) Haftada 3-4 kez ( ) Haftada 5 kez ve fazlası ( )
Diğer ( )

EK-2. Gastrointestinal Sistem Semptom Şiddet Indeksi

Bu indeks, çalışmaya katılanların gastrointestinal sisteme ait rahatsızlıklarının şiddetini ölçmek için kullanılmaktadır. Her bir kategori için skor, görüşmeden önceki 7 gün göz önüne alınarak değerlendirildi.

Semptomlar

KABIZLIK	0= + 5 gaita/ hafta 1= 3-4 gaita/ hafta 2= 0-2 gaita/ hafta	
DİARE	0= 0-1 Gevşek dışkılama/gün 1= 2-3 sulu dışkılama/ gün 2= + 4 sulu dışkılama/gün	
DIŞKININ KIVAMI (genel)	0= Şekilli 1= Gevşek / Şekilsiz; 3 veya daha fazla gün/haftada 2= Sulu; 3 veya daha fazla gün/haftada	
DIŞKININ KOKUSU	0= Normal 1= Anormal; 3 veya daha fazla gün/haftada 2= Çok Pis koku; 3 veya daha fazla gün/haftada	
ŞİŞKİNLİK (Gaz birikmesi)	0= Normal 1= 3 veya daha fazla gün /haftada 2= Günlük	
KARIN AĞRISI	0= Yok 1= Hafif; +3 kez/haftada 2= Orta- ağır düzeyde; +3 kez/haftada	
AÇIKLANAMAYAN GÜNDÜZ HUZURSUZLUK- SİNİRLİLİK	0= Yok 1= 1-2 kez/haftada 2= + 3 kez /haftada	
GECE UYANMA	0= Yok 1= 1-2 kez/haftada 2= + 3 kez /haftada	
ABDOMİNAL GERGİNLİK	0= Yok 1= Var	
	ŞİDDET SKORU:	

EK-3. Çocukluk çağı Otizm Değerlendirme Ölçeği (CARS)

ÇOCUKLUK OTİZM DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

Adı Soyadı: **Cinsiyeti:**

Doğum Tarihi: **Değerlendirme Tarihi:**

Değerlendiren:

Yönerge: Her bir kategori için, ölçeğin her maddesinin altında bırakılan yeri kullanınız. Çocuğu gözlemlemeyi bitirdikten sonra, ölçeğin maddelerinde yer alan davranışları değerlendiriniz. Her madde için çocuğu en iyi biçimde tanımlayan ifadenin numarasındı daire içine alınız. İki ifade arasında değerlendirmeniz gerekiyorsa 1,5; 2,5; 3,5 değerlerinden birini kullanabilirsiniz.

Kategorileri Derecelendirme Puanları

Her kategori için çocuğa verdiğiniz puanı aşağı yazın ve sonrasında toplayın.

1.İnsanlarla ilişki	
2. Taklit	
3. Duygusal Tepkiler	
4.Bedenin Kullanımı	
5.Nesne Kullanımı	
6.Değişikliğe Uyum	
7.Görsel Tepki	
8.Dinleme Tepkisi	
9.Tatma, Koklama, Dokunma, Tepkisi ve Kullanımı	
10.Korku ya da Sinirlilik	
11.Sözel İletişim	
12.Sözel Olmayan İletişim	
13.Etkinlik Düzeyi	
14.Zihinsek Tepkilerin Düzeyi ve Tutarlılığı	
15.Genel İzlenimler	
TOPLAM	

15-29: Otizm yok

30-36,5 Hafif-Orta Derecede Otistik

37-60: Aşırı Derecede Otistik

EK-4. Etik Kurul Onayı

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/43
Konu : Etik Kurul Kararı

15.02.2018

Sayın: Doç.Dr.Onur Burak DURSUN
Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **"Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (Microbiota) ile İlişkisinin Araştırılması"** isimli bilimsel çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için **Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan** izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		**Doç.Dr.Onur Burak DURSUN**
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		**Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (Microbiota) ile İlişkisinin Araştırılması**
KARAR BİLGİLERİ	**Toplantı Sayısı: 2 Karar No: 05**	**Tarih:** 15.02.2018
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin **BAP tarafından** karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. **Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.** Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.M.Hamidullah UYANIK
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Prof.Mustafa GÜL
Üye

Doç.Dr.Atilla ÇAYIR
Üye

Doç.Dr.İlker İNCE
Üye

Yrd.Doç.Dr.Zahide KOŞAN
Üye

Emrah MELETLİOĞLU
Üye

EK-5. Dahili Kurul Onayı

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DAHİLİ TIP BİLİMLERİ BÖL ÜM BAŞKANLIĞI
BÖLÜM KURUL KARARLARI

OTURUM TARİHİ : 31.01.2018
OTURUM SAYISI : 1

Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulumuz ***31 OCAK 2018*** *Tarihinde* ***ÇARŞAMBA Günü Saat : 13.05'de; Hastahanemiz 7. Kat 734 Nolu odada Prof.Dr. Şevki ÖZDEMİR*** *Başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almışlardır.*

Önce gündem maddeleri okundu, bunların haricinde tartışılmak ve görüşülmek istenen konuların olup olmadığı soruldu, ***İç Hastalıkları*** *Anabilim Dalı Başkanlığı araştırma görevlisi* ***Dr. Adil Furkan KILIÇ; Nöroloji*** *Anabilim Dalı Başkanlığı araştırma görevlileri* ***Dr. Yıldız DAĞCI*** *ile* ***Dr. Reyhan YÜKSEK'e*** *ait tez konularının gündem dışı olarak görüşülmek üzere gündeme alınması için oylama yapıldı ve mevcudun oy birliğiyle gündem dışı maddenin görüşülmek üzere gündeme alınması kabul edildi;*

KARAR NO : 1 *– Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının* ***21.12.2017*** *tarih ve* ***1700355952*** *sayılı araştırma görevlisi* ***Dr. Mehmet Akif AKINCI'nın " Suriye'li Sığınmacı Çocuklarda Ruhsal Bozukluklar ve Farklı İskân Alanlarının Sığınmacıların Ruh Sağlığı Üzerine Etkileri "*** *konulu tez çalışması ile ilgili yazısı görüşüldü,*

Dr. Mehmet Akif AKINCI'ya; *ait anılan tez çalışmasının* ***ilgili mercilerden gerekli izinler alındıktan sonra Bölüm Kurulumuza sunulması ve görüşülmesi gerektiği,***

KARAR NO : 2 *– Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının* ***19.01.2018*** *tarih ve* ***1800028056*** *sayılı araştırma görevlisi* ***Dr. Gülsüm YİTİK'in " Otizm Spektrum Bozukluğunun Bağırsak Bakteri Florası (Microbiota) ile ilişkisinin araştırılması "*** *konulu tez çalışması ile ilgili yazısı görüşüldü,*

Dr. Gülsüm YİTİK'e *ait anılan tez çalışmasının kabulüne ve tez yöneticiliğini,*
Doç.Dr. Onur Burak DURSUN'un, *yürütmesine,*

KARAR NO : 3 *– Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Başkanlığının* ***04.01.2018*** *tarih ve* ***1800004542*** *sayılı araştırma görevlisi* ***Dr. Köksal SARIHAN'ın " Fibromiyalji Tanılı Hastalarda Denge, Düşme Riski ve İlişkili Faktörlerin Değerlendirilmesi "*** *konulu tez çalışması ile ilgili yazısı görüşüldü,*

Dr. Köksal SARIHAN'a *ait anılan tez çalışmasının kabulüne ve tez yöneticiliğini,*
Doç.Dr. Hülya UZKESER'in, *yürütmesine,*

KARAR NO : 4 *– Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığının* ***05.01.2018*** *tarih ve* ***1800005550*** *sayılı araştırma görevlisi* ***Dr. Nagihan BÜLBÜL ÇOLAK'ın; " Erzurum İli ve İlçelerinde Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Seroprevalansının Araştırılması "*** *konulu tez çalışması ile ilgili yazısı görüşüldü,*

Dr. Nagihan BÜLBÜL ÇOLAK'a *ait anılan tez çalışmasının kabulüne ve tez yöneticiliğini,*
Doç.Dr. Ayşe ALBAYRAK'ın, *yürütmesine,*

.../...

Prof.Dr. Şevki ÖZDEMİR

DAHALİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜM BAŞKANI DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Prof.Dr. Şevki ÖZDEMİR

ADLİ TIP ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Prof.Dr. Mehmet PARLAK

ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Prof.Dr. Serhat VANÇELİK

HALK SAĞLIĞI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Prof.Dr. Akın LEVENT

RADYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANI (KATILMADI)

Prof.Dr. Leyla SAĞLAM

GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Doç.Dr. Hülya UZKESER

F. T. R. ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Prof.Dr. Zerrin ORBAK

ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Prof.Dr. Salim başol TEKİN

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Prof.Dr. Ahmet HACIMÜFTÜOĞLU

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANI (KATILMADI)

Prof.Dr. Fuat GÜNDOĞDU

KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANI (KATILMADI)

Prof.Dr. Abdulgani TATAR

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Abdullah Osman KOÇAK

ACİL TP ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Prof.Dr. Ali ŞAHİN

NÜKLEER TP ANABİLİM DALI BAŞKANI (KATILMADI)

Yrd.Doç.Dr. İbrahim Selçuk ESİN

ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Kenan TAŞTAN

AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Esat Fahri AYDIN

RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Burak ERDEMCİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Mustafa CELAN

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANI (İMZA)

RAPORTÖR

Mustafa TAŞDEMİR
DAHİLİ TIP BİLİMLERİ
BÖLÜM SEKRETERİ
31.01.2018

Yrd.Doç.Dr. Abdullah Osman KOÇAK

SUALTI HEKM VE HİPERBARİK TIP ANABİLİM DALI BAŞKANI.V. (İMZA)