



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANISI ALAN
ÇOCUKLARDA KAN ZONULİN DÜZEYLERİ, İNFLAMATUAR
SÜREÇLER ve NÖRONAL DEĞİŞİKLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Gülşen KARTALCI

**ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Arzu ÇALIŞKAN DEMİR**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
2020/2006 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2021



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU TANISI ALAN
ÇOCUKLARDA KAN ZONULİN DÜZEYLERİ, İNFLAMATUAR
SÜREÇLER ve NÖRONAL DEĞİŞİKLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Gülşen KARTALCI
ORCID ID: 0000-0002-7276-6174**

**ÇOCUK VE ERGEN RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Arzu ÇALIŞKAN DEMİR**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
2020/2006 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Otizm Spektrum Bozukluğu	4
2.1.1. Tanım- tarihçe.....	4
2.1.2. Tanı ve Klinik Özellikler	5
2.1.3. OSB'ye Eşlik Eden Komorbid Durumlar	9
2.1.4. Ayırıcı Tanı.....	10
2.1.5. Klinik Seyir.....	10
2.1.6. Epidemiyoloji.....	10
2.1.7. Etyoloji.....	11
2.1.7.1. Psikodinamik ve Psikolojik Kuramlar	11
2.1.7.2. Genetik.....	12
2.1.7.3. Nöroanatomik Değişiklikler	13
2.1.7.4. Nörokimyasal değişiklikler.....	13
2.1.7.5. Nörofizyolojik Faktörler	14
2.1.7.6. Çevresel Etmenler.....	15
2.2. Otizm ve Gut-Beyin Aksı	17
2.2.1. Bağırsak Duvar Geçirgenliğinde Artma (Sızdıran bağırsak hipotezi, leaky gut)	18
2.2.1.1. Zonulin.....	18
2.2.1.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Disbiyozis.....	21
2.2.1.3. Yiyecek Antijenleri ve Gluten İntoleransı	24
2.2.1.4. Sistemik Dolaşımdaki İmmün Değişiklikler.....	25
2.2.1.5. Kan Beyin Bariyeri Değişimleri	26

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1. Araştırmanın Örneklemi	30
3.2. Araştırmanın Deseni	30
3.3. Deneklerin Seçimi.....	30
3.3.1. Araştırma grubu için dahil edilme kriterleri	30
3.3.2. Araştırma grubu için dışlanma kriterleri.....	31
3.3.3. Kontrol grubu için dahil edilme kriterleri.....	31
3.3.4. Kontrol grubu için dışlanma kriterleri	31
3.4. Yöntem.....	31
3.4.1. Antropometrik ölçümler	32
3.4.2. Kan alma ve Biyokimyasal Analiz	32
3.4.3. Gereçler.....	32
3.4.3.1. Sosyodemografik Veri Formu	32
3.4.3.2. Gelişim Değerlendirme Formu	32
3.4.3.3. Çocukluk Çağı Otizmi Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ).....	33
3.5. İstatistiksel yöntem	33
4. BULGULAR.....	35
4.1. Katılımcıların ve Ailelerinin Sosyodemografik Özellikleri.....	35
4.1.1. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri.....	35
4.1.2. Katılımcıların ailelerine ilişkin sosyodemografik veriler	36
4.2. Çocukların Antropometrik Ölçümlerine İlişkin Bulgular.....	39
4.3. Katılımcıların Prenatal Gelişim Özelliklerine İlişkin Bulgular	39
4.4. Katılımcıların Natal(Doğum) Özelliklerine İlişkin Bulgular.....	40
4.5. Katılımcıların Postnatal Özelliklerine İlişkin Bulgular	41
4.5.1. Katılımcıların Motor Gelişim Özelliklerine İlişkin Bulgular	41
4.5.2. Katılımcıların Beslenme Özelliklerine İlişkin Bulgular	42
4.6. Katılımcıların GIS şikayetlerine İlişkin Bulgular	43
4.7. Katılımcıların Biyokimyasal Değerlerine İlişkin Bulgular.....	44
4.7.1. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri ile ÇODÖ puanları arasındaki ilişkiye ait veriler	45
4.7.2. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle GIS Şikayetleri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	46
4.7.3. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle BMI'leri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler.....	47

4.7.4. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Ailelerin Aylık Geliri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	48
4.7.5. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Besin Seçiciliği Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	49
4.7.6. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle İlaç Kullanımı Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	50
4.7.7. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Cinsiyet Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	51
4.7.8. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Yaş Arasındaki İlişkiye Ait Veriler	52
4.7.9. Katılımcıların Biyokimyasal Değerlerinin Korelasyon Analizine Ait Veriler	53
5. TARTIŞMA	55
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR	75
EKLER.....	94
EK-1. Sosyodemografik Veri Formu.....	94
EK-2. Gelişim Değerlendirme Ölçeği	95
EK-3. CARS Çocukluk Otizminin Derecelendirme Ölçeği	97

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, İnönü Üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD başkanı Prof. Dr. Özlem ÖZCAN'a,

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesi süreçlerinde zamanını ve yardımlarını esirgemeyen, ayrıca uzmanlık eğitimimin her konusunda desteğini hissettiren tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Arzu ÇALIŞKAN DEMİR'e,

Asistanlığım boyunca eğitimim konusunda büyük emeği olan Dr. Öğr. Üyesi İlknur UCUZ ve Doç. Dr. Yunus Emre DÖNMEZ'e,

Erişkin Ruh sağlığı ve Hastalıkları ve Çocuk Nöroloji rotasyonum boyunca eğitimime büyük katkılar sağlayan saygıdeğer hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Tezimin biyokimyasal analizleri sırasında destek olan Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ, Doç. Dr. Harika GÖZÜKARA ve Arş. Grv. Nuray ÜREMİŞ'e,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım asistan ve psikolog arkadaşlarıma, sekreteryamıza, hemşirelerimize ve personellerimize,

Çalışmaya katılmayı kabul eden tüm çocuklara ve ailelerine,

Hayatımın her alanında yanımda olan, bu aşamaya gelmemde büyük payı olan annem ve ablama,

Tanıdığım günden beri hayatımı güzelleştiren, sevgi ve sabrıyla asistanlık ve tez sürecimde de yanımda olan sevgili eşim Şükrü KARTALCI'ya ve hayatıma kattığı güzelliği kelimelerle anlatamayacağım kızım Beril'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gülşen KARTALCI

Mart 2021, MALATYA

ÖZET

Otizm Spektrum Bozukluğu Tanısı Alan Çocuklarda Kan Zonulin Düzeyleri, İnflamatuvar Süreçler, Nöronal Değişikliklerin Değerlendirilmesi

Amaç: Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sosyal iletişim ve etkileşimde bozulmayla giden nörogelişimsel bir bozukluktur. Sebebi henüz net bilinmemekle birlikte, etiolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı öne sürülmektedir. Son yıllarda, çevresel faktörlerden immün-inflamatuvar sistemin de bu hastalıkta rolünün olabileceği vurgulanmaktadır. Bu çalışmada, OSB tanısı almış hastalarda bağırsak geçirgenliğinin, besin antijenlerine ve bakteri duvarına karşı oluşan antikor düzeylerinin, inflamatuvar süreçlerin ve nöron hasarlarına ait değişikliklerin değerlendirilmesi ve kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya DSM-5 tanı kriterlerine göre OSB tanısı konulan 3-12 yaş aralığında 35 hasta ve 35 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. Tüm katılımcıların boy ve kiloları ölçülmüş ve araştırma grubuna Çocukluk Otizmi Derecelendirme Ölçeği (ÇODÖ) uygulanmıştır. Ayrıca ebeveynlerle birlikte Sosyodemografik Veri Formu (SDVF) ve Gelişim Değerlendirme Formu (GDF) doldurulmuştur. OSB ve kontrol gruplarından venöz kan örnekleri alınarak, serum zonulin, anti-gliadin IgA-IgG, anti-LPS IgG, IL6, TNF-alfa, TGF-B, S100B ve NSE seviyeleri enzim benzeri immüno-sorbent testi (ELISA) ile ölçülmüştür.

Bulgular: Serum zonulin seviyeleri OSB grubunda anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. İnflamatuvar faktörlerden IL-6 ve TGF- β seviyeleri çalışma grubunda anlamlı olarak yüksektir. Serum Antigliadin Ig-A, Antigliadin Ig-G, Anti-LPS Ig-G ve TNF- α değerlerinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Yine NSE ve S100B seviyeleri OSB ve kontrol grupları arasında benzer bulunmuştur. ÇODÖ'nün entelektüel düzeyi değerlendiren 14. alt ölçeği ile Anti-LPS, IL-6, TGF-Beta, S100B değerleri arasında pozitif bir korelasyon gözlemlendi. Ek olarak, zonulin ile IL-6, Anti-LPS, TNF-alfa, TGF-Beta, NSE, S100B arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışmada OSB'de bağırsak geçirgenliğinin bir göstergesi olan zonulin düzeyleri kontrollere göre daha düşük bulunmuştur. Ancak gıda antijenlerine veya bakteri duvarına karşı antikor seviyeleri kontrol grubu ile benzer bulunmuştur. Ayrıca OSB'de inflamatuvar sürecin arttığı gösterilse de nöronal hasarı gösteren parametrelerde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Bu sonuçlar zonulin düzeylerinin, özellikle komorbid GIS bozuklukları dışlandığında, otizmlili hastalarda düşük olabileceğini ve bunun inflamatuvar süreçlerle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ancak bu bulguların desteklenmesi için daha büyük örneklemli izlem çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Otizm; zonulin; inflamasyon; nöronal hasar

ABSTRACT

Evaluation of Blood Zonulin Levels, Inflammatory Processes and Neuronal Changes in Children with Autism Spectrum Disorder

Aim: Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder with impaired social communication and interaction. Although the cause is not yet known, it has been suggested that genetic and environmental factors play a role in its etiology. In recent years, it has been emphasized that the immune-inflammatory system, one of the environmental factors, may also play a role in this disease. In this study, it was aimed to evaluate intestinal permeability, antibody levels against food antigens and bacterial wall, inflammatory processes and changes in neuron damage in patients diagnosed with ASD and to compare them with the control group.

Method: 35 patients who were diagnosed with ASD according to DSM-5 diagnostic criteria and 35 healthy children between the ages of 3-12 were included in the study. The height and weight of all the participants were measured and Childhood Autism Rating Scale (CARS) was applied to the study group. In addition, the Sociodemographic Data Form (SDF) and the Development Assessment Form (DAF) were filled with the parents. Venous blood samples were taken from ASD and control groups, serum zonulin, anti-gliadin IgA-IgG, anti-LPS IgG, IL6, TNF-alpha, TGF-B, S100B and NSE levels were measured by enzyme-like immuno-sorbent test (ELISA).

Results: Serum zonulin levels were significantly lower in the ASD group. IL-6 and TGF- β levels among inflammatory factors were significantly higher in the study group. No statistically significant difference was observed between the two groups in terms of serum Antigliadin Ig-A, Antigliadin Ig-G, Anti-LPS Ig-G and TNF- α values. Again, NSE and S100B levels were similar between ASD and control groups. A positive correlation was observed between the 14th subscale of CARS, evaluating the intellectual level, and the values of Anti-LPS, IL-6, TGF-Beta, S100B. In addition, a positive relationship was found between zonulin and IL-6, Anti-LPS, TNF-alpha, TGF-Beta, NSE, S100B.

Conclusion: In this study, zonulin levels, which is an indicator of intestinal permeability in ASB, were found to be lower than controls. However, antibody levels against food antigens or bacterial wall were similar to the control group. In addition, although it has been shown that the inflammatory process increases in ASD, no change in neuronal damage indicators was detected. These results indicate that zonulin levels may be low in patients with autism, especially when comorbid GIS disorders are excluded, and this may be associated with inflammatory processes. However, larger sample size follow-up studies are needed to support these findings.

Keywords: Autism; zonulin; inflammation; neuronal damage

KISALTMALAR

BDNF	: Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BMI	: Body Mass Index
ÇODÖ	: Çocukluk Otizmini Değerlendirme Ölçeği
DEHB	: Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DSM	: The Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders Ruhsal Bozuklukların Tanısal Ve İstatistiksel El Kitabı
EEG	: Elektroensefalografi
ELİSA	: Enzim Bağımlı İmmunabsorbant
GABA	: Gama Aminobutirik Asit
GIS	: Gastrointestinal Sistem
HPA	: Hipotalamo-Hipofiz-Adrenokortikal
IL	: İnterlökin
LPS	: Lipopolisakkarid
MSS	: Merkezi Sinir Sistemini
NSE	: Nöron Spesifik Enolaz
OSB	: Otizm Spektrum Bozuklukları
PANDAS	: Pediatrik Otoimmün Nöropsikiyatrik Bozukluklar
SED	: Sosyoekonomik durum
TGF-β	: Transforming Growth Faktör-Beta
TLR	: Tool-Like Reseptör
TJ	: Tight Junction
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
YGB	: Yaygın Gelişimsel Bozukluklar

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 4.1. Katılımcıların sayısı ve ortalama yaşları	35
Tablo 4.2. Katılımcıların cinsiyet açısından dağılımı	35
Tablo 4.3. Katılımcıların sosyodemografik özellikleri	36
Tablo 4.4. Katılımcıların ailelerine ilişkin sosyodemografik veriler	38
Tablo 4.5. Ebeveynlerin katılımcıların doğumundaki yaşları açısından karşılaştırılmasına ait veriler	38
Tablo 4.6. Katılımcıların antropometrik ölçümlerine ait veriler	39
Tablo 4.7. Katılımcıların prenatal gelişim özellikleri	40
Tablo 4.8. Katılımcıların natal öyküleri	41
Tablo 4.9. Çocukların motor gelişim öyküleri	42
Tablo 4.10. Katılımcıların Beslenme özellikleri	43
Tablo 4.11. Katılımcıların GIS şikayetlere ilişkin bulgular	44
Tablo 4.12. Katılımcıların serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri.....	45
Tablo 4.13. Otizm grubunun ÇODÖ ölçek puanları ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki.....	46
Tablo 4.14. Katılımcıların GIS şikayetleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler.....	47
Tablo 4.15. Katılımcıların BMI ölçümleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler.....	48
Tablo 4.16. Katılımcıların ailelerinin aylık geliri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler	49
Tablo 4.17. Katılımcıların bebekliğinde besin seçiciliği ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki.....	50

Tablo 4.18. Otizm grubunda düzenli ilaç kullanımı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki	51
Tablo 4.19. Katılımcılarda cinsiyeti ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler	52
Tablo 4.20. Katılımcıların yaşı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler	53
Tablo 4.21. Katılımcıların serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki korelasyon ilişkisi	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Zonulin etki mekanizmasının şematik görünümü	20
Şekil 2.2. Bağırsak-Beyin Aksı	28



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB), çocuklukta başlayıp yaşam boyu süren, dil, sosyal iletişim ve bilişsel işlevlerdeki bozulmalarla giden, nöropsikiyatrik bir bozukluk grubunu tanımlamaktadır [1]. Zeka geriliğinden sonra çocukluk çağında en sık görülen psikopatoloji olan OSB'nin birçok faktörün etkisiyle yıllar içinde sıklığının arttığı gözlenmiştir [2]. İlk tanındığı 1960'lı yıllarda OSB sıklığı 1/2500 iken, 2000'li yıllarda %1-2 gibi yüksek oranlar bildirilmiştir [3,4].

Diğer nörogelişimsel hastalıklarda da olduğu gibi OSB'nin etiyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastalığın sıklığındaki artış gözönünde bulundurulduğunda, genetik etkenlerin yanı sıra çevresel risk faktörlerinin de rolünün olabileceği düşünülmektedir [5].

OSB'de kabızlık, şişkinlik, karın ağrısı, ishal gibi gastrointestinal sistem (GIS) semptomların sık görülmesi araştırmacıları bağırsak ve OSB arasındaki ilişkiye yönlendirmiştir [6]. Gut-beyin aksı hipotezine göre; bağırsakta meydana gelen değişiklikler beyin ve davranışları etkileyebilmektedir. Bu hipoteze göre bariyerin herhangi bir nedenle bozulmasıyla, bağırsak duvarının geçirgenliği artmakta (sızdıran bağırsak, leaky gut) ve bağırsak lümeninden kan dolaşımına zararlı bazı maddeler kolayca sızabilmektedir. Sistemik dolaşıma geçen bu maddeler doğrudan ya da immün-inflamatuar değişikliklerle beyinde toksik etkilere yol açabilmektedir. Bağırsak bütünlüğündeki bu bozulma birçok hastalığın nedeni olarak araştırıldığı gibi son yıllarda OSB etyolojisinde de yoğun şekilde araştırılmaya başlanmıştır.

Bağırsak bütünlüğündeki bozulmanın önemli sebeplerinden birisi kan zonulin düzeylerindeki değişikliklerdir. Zonulin, bağırsak epitel hücreleri arasında yer alan tight junction (TJ) adı verilen sıkı bağlantıların yapısında yer alır. Zonulinin bugün bilinen başlıca fonksiyonu, sıkı bileşkenin düzenlenmesi ile proksimal bağırsağı aşırı bakteriyel kolonizasyona karşı korumak ve özellikle makromoleküllerin bağırsak lümeninden geçişini engellemektir. Zonulin düzeyleri yükseldiğinde bağırsak hücreleri arasındaki parasellüler kaçağa yol açarak bağırsak geçirgenliğinin artışına sebep olur. Dolayısı ile Zonulin düzeyleri bağırsak bütünlüğü ve bağırsak geçirgenliğindeki artışın bir göstergesi olarak çölyak hastalığı, tip 1 diabetes, Crohn hastalığı gibi birçok hastalıkta araştırılmıştır [7-9]. Esnafoğlu ve ark. yaptığı bir çalışmada da zonulin bağırsak

geçirgenliğini ölçmek için bir belirteç olarak kullanılmış olup, OSB hastalarında zonulin düzeyi kontrollere oranla yüksek bulunmuştur [10].

Zonulin düzeylerini artıran ve bağırsak bütünlüğünün bozulmasına yol açan en önemli sebepler ise bağırsak mikrobiyatasındaki değişimler yani disbiyozis ve gluten gibi yiyecek antijenleridir [11-13]. Gluten duyarlılığı, gluten proteinlerine karşı artan bir immünolojik reaksiyon durumu ve onlara karşı artan antikor seviyeleri olarak tanımlanabilir. Gliadinler ise glutenin içerdiği proteinlerden birisidir [14]. Bazı çalışmalarda, genetik olarak duyarlı kişilerde gliadinin de bakteri toksinlerine benzer mekanizmayla zonulin salınımını tetiklediği tespit edilmiştir [15]. Çalışmalar otizm hastalarında çölyak hastalığı ya da çölyak tanısı olmadan gluten duyarlılığı olduğunu göstermiştir [16–18]. OSB'deki “bağırsak-beyin bağlantısı” teorisine göre, gluten ve kazeinin bağırsakta inflamasyonu tetikleyebildiği ve oluşan antijenlerin merkezi sinir sistemi ile çapraz reaksiyona yol açtığı düşünülmektedir [19].

İnflamasyon ve immün disfonksiyonun depresyon, şizofreni, streptokok ile ilişkili pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik bozukluklar (PANDAS) ve OSB dahil olmak üzere bir dizi nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkisine dair birçok kanıt vardır [20-22]. Otizmde immün sistem araştırmalarına ilgi son yıllarda artmıştır ve otizmin bir alttipinin immün sistemle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür [23]. Birçok çalışma anormal sitokin profilleri ve OSB arasında bir ilişki olduğunu, IL-6, TNF- α 'nın arttığı, TGF- β düzeylerinin azaldığını göstermiştir [24, 25]. Ayrıca IL-6 düzeylerinin zonulin ile ilişkili olduğu da düşünülmektedir [10].

Gut-beyin aksı hipotezine göre bağırsaktaki disbiyozis ve geçirgenliğin bozulmasının, kandaki inflamatuvar sitokinler aracılığıyla kan-beyin bariyerini etkilediği düşünülmektedir. Serumda S100B ve Nöron Spesifik Enolaz (NSE) düzeyleri, kan-beyin bariyerinin bozulduğunun ve nöron hasarının göstergesi olarak kabul edilebilecek biyobelirteçlerdir. S100B, başlıca astrositler tarafından eksprese edilse de başka birçok hücreden de sentez edilebilen hücre içi kalsiyum, çinko ve bakır bağlayan intraselüler bir glikoproteindir [26, 27]. S100B düşük konsantrasyonda nöroprotektif iken, yüksek konsantrasyonda nörotoksik etkisileri vardır ve S100B'nin proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak apoptozu tetiklediği bildirilmiştir [28]. S100B düzeyinin, travmatik beyin hasarları, psikiyatrik hastalıklar, serebrovasküler patolojiler ve nörodejeneratif hastalıklarda anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir [29, 30]. OSB ile S100B ilişkisini ilk gösteren çalışmalardan birinde OSB'de S100B proteininin sağlıklı kontrollere göre

anlamli biçimde yüksek olduğu ve OSB belirti Şiddeti ile arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir [31]. 3-12 yaş arası 43 otizm hastası ile sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada ise S100B, tau, NSE, active caspase-3, M30, and M65 seviyelerinin otizm hastalarında daha yüksek olduğu gözlenmiş ve S100B nin otizmdeki apoptozisin göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür [32]. Esnafoğlu ve ark. 2017’de yaptığı bir çalışmada 35 OSB’li ocuk ve 31 sağlıklı kontrol serum S100B ve NSE değerleri açısından karşılaştırılmış olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli farklılık saptanmadığı bildirilmiştir [33].

Sıkça suçlanan Microbiota-Gut-Brain Ekseni, son yıllarda birçok psikiyatrik hastalıkta olduğu gibi, otizmin etiyolojisine ışık tutacak yeni bir çalışma alanıdır. Bu çalışmada da OSB tanısı almış hastalarda bağırsak geçirgenliğinin, besin antijenlerine ve bakteri duvarına karşı oluşan antikor düzeylerinin, inflamatuvar süreçlerin ve nöron hasarlarına ait deėiŐikliklilerin değerlendirilmesi ve kontrol grubuyla karşılaştırılması, aralarındaki olası iliŐkilerin bütüncül bir yaklaŐımla değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otizm Spektrum Bozukluğu

2.1.1. Tanım- tarihçe

Tanım

Çocukluk çağı önemli nöropsikiyatrik bozukluklarından birisi olan OSB, karşılıklı sosyal iletişimde ve etkileşimde yetersizlikler ve kısıtlı, tekrarlayıcı, basmakalıp davranışlar, ilgi alanları ve aktivitelerle karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur [1].

Tarihçe

Tarihe bakıldığında ilk kez 18. yüzyılda M. Luther'in eserlerinde, 12 yaşındaki bir erkek çocuğun otizmi çağrıştıran davranışlar sergilediğinden bahsedilmiştir fakat otizm olarak tanımlanmamıştır [34]. Yunanca benlik, öz, kendi gibi anlamlara gelen “otos” sözcüğünden türetilen “Otizm” terimini ise ilk kez 1911 yılında İsviçreli psikiyatr Eugen Bleuler; dış dünyadan kendisini tümüyle soyutlamış olan bir birey için kullanmıştır. 1938 yılında Avusturyalı pediatrist Hans Asperger, entellektüel düzeyleri normalken sosyal ve davranışsal gariplikleri olan bir grup çocukta gördüğü bazı davranışları “Otistik Psikopatoloji” olarak adlandırmıştır [35]. Amerikalı çocuk psikiyatristi Leo Kanner de Asperger ile aynı dönemlerde bu alanda araştırmalar yapmış, 1943’de 11 vakayla “infantil otizmi” tanımını kullanmış ve vakalardaki ekolali, sosyal ilişki kurmada zorluk, tekrarlayıcı ve amaçsız davranışlar ve değişime direnç belirtileri bildirilmiştir [36]. 1979 yılında Wing ve Gould ilk olarak “Otizm Spektrum Bozukluğu” ifadesini kullanmışlar ve “soğuk- mesafeli, pasif ve aktif fakat tuhaf” olmak üzere üç gruba ayrılabilceğini paylaşmışlardır [37].

Amerika Psikiyatri Birliği tarafından yayınlanan Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-DSM)-1’de çocukluk şizofrenisinin bir tipinden bahsedilirken otizm tanımlanmakla birlikte otizm olarak isimlendirilmemiştir [38]. Otizm adıyla ise ilk kez 1980’de DSM-III’te yerini almıştır [39]. Daha sonra revize edilen DSM-III-R yayımlanmış ve “bebeklik otizmi” yerine “otistik bozukluk” terimi kullanılmıştır [40]. 1994 yılında yer alan DSM-IV’de ise Yaygın Gelişimsel Bozukluklar (YGB) başlığı altında; Otistik

Bozukluk, Asperger Bozukluğu, Rett Bozukluğu, Çocukluk Çağı Dezintegratif Bozukluğu ve Başka Türlü Adlandırılmayan YGB (atipik otizm) olmak üzere 5 kategori tanımlanmıştır [41].

2013'te yayınlanan DSM-5'te otizm alanında önemli değişiklikler yapılmıştır. Öncelikle "Yaygın Gelişimsel Bozukluk" başlığı kaldırılmış ve "Otizm Spektrum Bozukluğu" kullanılmıştır. Ayrıca Rett Bozukluğu OSB başlığından kaldırılmıştır. Diğer dört kategori (Otizm, Asperger Bozukluğu, Dezintegratif Bozukluk ve Başka Türlü Adlandırılmayan YGB) ayrı ayrı isimlendirilmesinden vazgeçilmiş aynı çatı altında "Otizm Spektrum Bozukluğu" olarak isimlendirilmiştir [1].

2.1.2. Tanı ve Klinik Özellikler

OSB'de tanı için kullanılan kesin bir biyolojik marker yoktur. Tanı daha çok DSM kriterleri ışığında yapılan ebeveyn ya da bakım verenlerle yapılan görüşme, ayrıntılı bilgi ve öykü alma, çocuğu doğal ortamında veya yapılandırılmış bir ortamda gözlemlleme, gerekli tıbbi incelemelerin yapılması, çocuğun bilişsel gelişiminin ve uyum (adaptif) becerilerin değerlendirilmesi ile klinik olarak konulmaktadır [42].

Tanı aşamasında ebeveynlerden temel başvuru sebebi ve şikâyetlerinin başladığı tarih, çocuğun motor ve sosyal-iletişimsel gelişimi, çocuğa gün içinde kimin baktığı, günlük yaşantısı hakkında bilgi alınır. Ayrıca ailede psikiyatrik ve nörolojik hastalıklar başta olmak üzere tüm hastalıkların öyküsü, prenatal-perinatal ve postnatal risk faktörleri ayrıntılı olarak sorgulanır.

Yapılandırılmış tanısız görüşme araçları da tanı koymak ve toplumda OSB'yi tarama amacıyla kullanılabilir. OSB taraması için ülkemizde "Değiştirilmiş Erken Çocukluk Dönemi Tarama Ölçeği" (Modified Checklist For Autism in Toddlers, MCHAT) kullanılmaktadır. Otizm belirti şiddetini ölçmek 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) gibi ölçekler kullanılmaktadır [43].

Ayrıca ülkemizde 2015 yılında "T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı kurumunun Aile Hekimliği Uygulamasında Önerilen Periyodik Sağlık Muayeneleri ve Tarama Testleri Kılavuzu" yayınlanmış ve her bebeğin 18-36 aylar arasında otizm açısından değerlendirilmesi önerilmiştir. Çocukların "İsmi ile seslenildiğinde bakıyor

mu?, göz kontağı kuruyor mu?, parmakla işaret edilen nesneye bakıyor mu?” sorularını içeren 3 gözlem maddesi ile incelenmesi istenmektedir. Muayenede otizm şüphesi olan çocukların aileleri bilgilendirilerek ilgili uzmanlık alanına yönlendirilmesini önermektedir [44].

Otizmli çocuklara tanı koyarken belki de en önemli basamak olan gözlem aşamasında, yapılandırılmamış ortamda, yapılandırılmış bir ortamda ve çocuğun doğal ortamında olmak üzere 3 farklı şekilde çocuk izlenmektedir. Yapılandırılmamış ortamda gözlem genellikle muayene odasında, yapılandırılmış bir ortamda gözlem zeka/gelişim testi gibi standardize uygulamalar sırasında ve çocuğun doğal ortamında gözlem ev/okul ziyaretleri veya video kayıtlarını inceleyerek yapılır [45].

DSM-5 Otizm Tanı Kapsamında Bozukluk Tanı Ölçütleri

A. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılardan çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerle kendini gösteren, değişik biçimleriyle toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde süregiden eksiklikler:

1. Sözelimi, olağandışı toplumsal yaklaşım ve karşılıklı konuşmaktan, ilgilerini, duygularını ya da duygulanımını paylaşmaktan, toplumsal etkileşimi başlatamamaya ya da toplumsal etkileşime girememeye dek değişen aralıkta toplumsal-duygusal karşılıklık eksikliği.
2. Sözelimi, sözel ve sözel olmayan tümleşik etkileşim yetersizliğinden, göz iletişimi ve beden dilinde olağandışılıklara ya da el-kol devinimlerini anlama ve kullanma eksikliklerine, yüz ifadesinin ve sözel olmayan iletişimin hiç olmamasına dek değişen aralıkta, toplumsal iletişim için kullanılan sözel olmayan iletişim davranışlarında eksiklikler.
3. Sözelimi, değişik toplumsal ortamlara göre davranışlarını ayarlama güçlüklerinden, imgesel oyunu paylaşma ya da arkadaş edinme güçlüklerine, yaşlılarına ilgi göstermemeye dek değişen aralıkta, ilişkiler kurma, ilişkilerini sürdürme ve ilişkileri anlama eksiklikleri.

B. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılardan çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerden en az ikisi ile kendini gösteren, sınırlı, yineleyici davranış örüntüleri, ilgiler ya da etkinlikler:

1. Basmakalıp ya da yineleyici devinsel (motor) eylemler, nesne kullanımları

ya da konuşma (örn. yalın devinsel basmakalıp davranış örnekleri, oyuncakları ya da oynar nesneleri sıraya dizme, yankılama (ekolali), kendine özgü deyişler).

2. Aynılık konusunda direnme, sıradanlık dışına esneklik göstermeme ya da törensel sözel ya da sözel olmayan davranışlar (örn. küçük değişiklikler karşısında aşırı sıkıntı duyma, geçişlerde güçlük yaşama, katı düşünce örüntüleri, törensel selamlama davranışları, her gün aynı yoldan gitmek ya da aynı yemeği yemek isteme).
3. Yoğunluğu ya da odağı olağandışı olan, ileri derecede kısıtlı, değişkenlik göstermeyen ilgi alanları (örn. alışılmadık nesnelere aşırı bağlanma ya da bunlarla uğraşıp durma, ileri derecede sınırlı ya da saplantılı ilgi alanları).
4. Duyusal girdilere karşı çok yüksek ya da düşük düzeyde tepki gösterme ya da çevrenin duysal yanlarına olağandışı bir ilgi gösterme (örn. ağrı/ısıya karşı aldırıışsızlık, özgül bir takım seslere ya da dokulara karşı ters tepki gösterme, nesneleri aşırı koklama ya da nesnelere aşırı dokunma, ışıklardan ya da devinimlerden görsel büyülenme).

C. Belirtiler erken gelişim evresinde başlamış olmalıdır (toplumsal gerekler sınırlı yeterliğin üzerine çıkana dek tam olarak kendini göstermeyebilir ya da daha sonraki yıllarda, öğrenilen yöntemlerle maskelenebilir).

D. Belirtiler, toplumsal, işle ilgili alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında klinik açıdan belirgin bir bozulmaya neden olur.

E. Bu bozukluklar, anlıksal yetiyitimi (anlıksal gelişimsel bozukluk) ya da genel gelişimsel gecikme ile daha iyi açıklanamaz. Anlıksal yetiyitimi ve otizm açılımı kapsamında bozukluk sıklıkla bir arada ortaya çıkar. Otizm açılımı kapsamında bozukluk ve anlıksal yetiyitimi eştanı tanısı koymak için, toplumsal iletişim, genel gelişim düzeyine göre beklenenin altında olmalıdır.

Klinik Özellikler

DSM-5 sınıflama sistemine göre OSB'nin klinik özellikleri sosyal-iletişimsel alanda yetersizlik ve sınırlı, tekrarlayıcı davranışlar-ilgi alanları olmak üzere iki boyutta ele alınmıştır [1].

Sosyal-iletişim alanda yetersizlik

Toplumsal iletişimde, sosyal ve duygusal etkileşimde, sözel ve sözel olmayan iletişim becerilerinde, karşılıklı diyalog sürdürmekte yaşanan güçlükler bu alandaki belirgin kısıtlılıklardır. Otizmlili hastalar yaşına uygun insan ilişkisi kurmakta ve yürütmekte problem yaşamaktadır. İsmine yanıt vermedikleri, ebeveynleriyle ilişki kuramadıkları gözlenmiştir. Ayrıca taklit davranışları yoktur veya varsa da çok azdır.

Otizmin en belirgin özelliklerinden olan sözel olmayan iletişim eksiklikleri atipik göz teması, jestlerin olmayışı veya garipliği ve postür anomalileri ile kendini gösterir. Ayrıca ortak dikkatin olmaması da bu alanda görülen önemli bir klinik bulgudur. Ortak dikkat sorunu olan çocuklar ilgilendiği nesneyi başkasına göstermemesi, karşısındakinin kendine gösterdiği nesneyle ilgilenmemesidir. Empati eksikliği ise önemli klinik bulgulardan birisidir.

Sözel iletişim eksiklikleri arasında ise konuşma gecikmesi ve atipik ses tonu yer almaktadır. Konuşma gecikmesi kliniğe en sık başvuru sebeplerinden birisidir ve aileler genellikle işitme kaybından şüphelenebilir [45].

Kısıtlı, tekrarlayıcı davranışlar ve ilgi alanları

OSB'li çocuklarda sallanma, kendi etrafında dönme, el çırpma en sık görülen stereotipik davranışlardır. Ayrıca oyuncaklarla işlevine uygun oynamadıkları, oyuncakları sıraladıkları, arabaların tekerliğini çevirdikleri gözlemlenmiştir. Aynı kelime veya cümleyi tekrarlama anlamına gelen ekolali de sık görülmektedir. Rutinleri bozulduğunda kaygılanıp, huzursuzlanabilirler. Aynı işlerin tekrarında ısrarcı olabilir. Bazen kartvizit, araba markası tuhaf nesnelere ilgi duyabilir ve özel ilgi alanları hakkında çok fazla bilgi sahibi olabilirler. DSM-V ile birlikte, OSB'li olgularda görülebilen tat, koku, ses ve dokunsal uyaranlara karşı aşırı duyarlılık (hipersensitivite) veya daha az duyarlılık (hiposensitivite) tanı ölçütlerine eklenmiştir [1].

Yaşıtlarıyla uyumlu olmayan bu garip davranış paternleri yaşamın 2. Yılında daha belirgin hale gelir. Kısıtlı ve yineleyici davranışları normal gelişim sürecinde olan çocuklardan ayırt edilmelidir. Çünkü normal gelişim sürecindeki çocuklar da tercihlerinde ısrarcıdır ve tekrarlardan hoşlanır.

2.1.3. OSB'ye Eşlik Eden Komorbid Durumlar

OSB'nin %70'in üzerinde komorbidite gösterdiği bilinmektedir [46]. Komorbid durumların işlevselliği azalttığı, hastalık ve ölüm oranını arttırdığı, tedaviye uyumu azalttığı ve harcanan bütçeyi arttırdığı göz önüne alındığında bu durumların ele alınması ve tedavisinin düzenlenmesi önem arz etmektedir.

Otizme çocukluk çağında en sık Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) eşlik ederken, ergen ve erişkinlerde en sık Major Depresif Bozukluğa rastlanılmıştır [47]

Yapılan son çalışmalarda, OSB'li bireylerde kronik GIS yakınmalarının %7-24 dolayında olduğu görülmüştür ve bütün diğer tıbbi nedenlerde olduğu gibi bu yakınmaların davranış sorunları için bir yatkınlık ve/veya tetikleyici olabileceğini düşündürmüştür [48].

OSB'ye en sık eşlik eden bozukluklar şunlardır:

- Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
- Depresif Bozukluk
- Zihinsel Yetersizlik
- Bipolar Bozukluk
- Anksiyete Bozuklukları
- Psikotik Bozuklular
- Obsesif Kompulsif Bozukluk ve ilişkili bozukluklar
- Tik Bozuklukları
- Hiperleksi
- Uyku Bozuklukları
- Diğer tıbbi bozukluklar (Epilepsi, serebral palsi)
- Yeme bozuklukları
- Beslenme Bozuklukları
- GIS problemleri ve Obezite

2.1.4. Ayırıcı Tanı

Tanısal olarak OSB’de en sık karşılaşılan ve ayırıcı tanıda dikkat edilmesi gereken hastalıklar;

Özgöl dil Bozukluğu

Zihinsel Yetersizlik

Tepkisel Bağlanma Bozukluğu

Sosyal(Pragmatik) İletişim

Çok Erken Başlangıçlı Şizofreni

Görme Ve İşitme Engelliler

Selektif Mutizm

2.1.5. Klinik Seyir

Otizm genellikle yaşam boyu süren kronik bir hastalıktır. Fakat son yıllarda OSB tanısı alan bir kısım hastanın yoğun eğitsel programlar ile otizm spektrumundan çıktığı ve bazı çekirdek bulgularla hayatına devam ettiği bilinmektedir [45, 49].

OSB’li olgularda prognozu etkileyen önemli faktörler hastanın zeka düzeyi (IQ), uyumsal (adaptif) becerileri, dil ve iletişimsel becerileri, sosyal entegrasyon ve bağımsızlık, çocukluk çağında olan komorbid durumlarıdır [50].

Tüm bu etmenler ile birlikte erken tanı ve yoğun eğitsel programların prognozu etkilediği düşünülmektedir [50].

2.1.6. Epidemiyoloji

Mental retardasyondan sonra en sık görülen gelişimsel bozukluk olan OSB’nin sıklığı yıllar içinde ciddi artış göstermektedir [2].

OSB’nin ilk tanındığı 1960’lı yıllarda yapılan prevelans çalışmaları OSB sıklığının 1/2500 olduğu bildirilmiştir [3]. 2000’li yıllarda ise çalışmalar %1-2 gibi yüksek bir prevelanstan bahsetmektedir [4].

Amerika Birleşik Devletleri’nde CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tarafından yürütülen tarama çalışmalarındaki veriler otizm sıklığını 2000

yılında 1/160, 2014 yılında 1/68 iken bu oran 2018 yılı için 1/59 olarak bildirmiştir. Ayrıca son 10 yılda %123 artış göstermiştir [51].

Tüm epidemiyolojik çalışmaların ortak görüşü olan OSB'nin sıklığındaki artışın sebepleri ise önemli tartışma konusudur. Bu prevalans artışı her ne kadar otizmin farkındalığındaki artış, çocuk psikiyatristlerine ulaşımın kolaylaşması ve taramaların artması gibi faktörlere bağlanabilse de, çevresel risk etmenlerinin artışı (mikrobiyal ajanlar, yiyecekler, kullanılan ilaçlar, ekran maruziyeti) da önemli bir faktör olarak görülebilir [52].

Ülkemizde ise OSB prevalansı için yapılan geniş ölçekli çalışma bulunmamaktadır. Ancak Kondolot ve arkadaşlarının 2021 çocuğun tarandığı bir çalışmada sıklığı 1/1000 olarak bildirilmiştir [53].

Cinsiyet farklılıkları açısından bakıldığında ise otizm prevalansının erkeklerde kadınlara oranla 4-5 kat fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yüksek işlevli otizm olgularında bu oranın daha arttığı, zihinsel geriliği olanlarda ise daha düşük olduğu bildirilmiştir [54].

2.1.7. Etiyoloji

2.1.7.1. Psikodinamik ve Psikolojik Kuramlar

OSB olan çocukların ebeveynlerinin sosyal alanda zorlanmalarına yol açan birçok ruhsal ve davranışsal farklılıklar gösterdikleri, anksiyete ve depresyon gibi psikopatolojilere sahip oldukları bildirilmiştir. İlk gözlemlenen bulgular bu ebeveynlerin donuk mizaç ve obsesif özelliklerinin olduğu ve çocukları ile yeterince duygusal ilişki kuramadıklarıdır [55].

Otizmin etiyopatogenezini açıklayan en önemli psikolojik kuramlardan bazıları şunlardır;

Zihin Kuramı (Theory of mind): Sosyal iletişim alanlarındaki kısıtlılığı konu alır. Kişinin kendisinin zihninin içeriğini yansıtabilmesi, karşı tarafın niyet, inanç ve isteklerini anlamabilme, öngörme, akıl yürütebilme becerisidir. Bu kurama göre OSB'de empati kurma ve sistematize etme becerilerinde yetersizlik, olayları daha çok kurallar ve sınıflamalar doğrultusunda anlama eğilimi görülmektedir [56].

Yürütücü İşlevler Kuramı (Theory of Planning and Executive Functions):

Planlama ve düzenleme zorluğu, aynılıkta ısrar, zihinsel esneklikte yetersizlik ve stereotipik davranışları ele alır [57].

Zayıf Merkezi Bütünleşme (Theory of weak Central Coherence):

Detaya odaklı bir bilgi işleme sürecine bağlı bütünü görmedeki yetersizliği açıklar [58].

Aşırı erkek beyni (extreme male brain theory):

Otizmin erkeklerde daha sık görülmesinden yola çıkılmıştır. Otistik davranışlar ile fetal androjen maruziyeti ilişkilendirilmiştir [59].

Empatik-Sistematik-Dengeli Beyin teorisi (Empathic-Systemizing-Balanced brain theory) Sosyal Biliş (Social Cognition), Sosyal Motivasyon teorisi (Social Motivation Theory (SMT)) ve Nöroçeşitlilik (Neurodiversity) de etiyolojisinde suçlanan diğer kuramlardır [60], [61].

Otizmin önceki yıllarda yetersiz ebeveynliğe bir tepki olarak ortaya çıktığı iddia edilmiş ve psikodinamik faktörler ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da 1960'lerden sonra biyolojik temeli olan bir hastalık olduğu görüşü daha ön plana çıkmıştır. Olası biyolojik etmenler arasında genetik ile beraber nöroanatomik, nörokimyasal, nörofizyolojik ve çevresel bazı etmenler yer almaktadır.

2.1.7.2. Genetik

OSB ile ilgili birçok kez aile çalışmaları yapılmıştır. Otizmin etiyolojisinde genetiğin rolüyle ilgili elde edilen bilgilerin önemli bir kısmı monozigot-dizigot ikizlerin karşılaştırılması ile elde edilen verilere dayanmaktadır, otizmde ikiz çalışmaları tek yumurta ikizlerinde %60; çift yumurta ikizleri arasında %5 oranında birliktelikten bahsetmiştir [62]. Otizm spektrumundaki bir çocuğun kardeşlerinde OSB riskinin normal popülasyona oranla 50 ile 200 kat arttığı gösterilmiştir [63]. Ayrıca kardeşlerde OSB tanısı konmasa bile çocuklarda kişisel-sosyal ve dil-bilişsel alanlarda gelişimlerinde güçlükler daha sık rastlanıldığı bildirilmiştir.[64]

Kromozom anomalilerini inceleyen çalışmalarda en sık gözlenen kromozom anomalisi, Prader-Willi/Angelman sendromunda da kritik olan (15q11-q13) maternal duplikasyonu olduğunu bildirmiştir [65]. Ayrıca otizmin erkekleri kızlara oranla 3-4 kat daha fazla etkilemesi sex kromozomları ile yapılan çalışmaların öncüsü olmuştur ve X'e bağlı mutasyon saptanmıştır [66].

OSB'nin klinik belirtilerinin infantil spazm, tuberoskleroz, serebral lipidozis, frajil X, fenilketonüri ve konjenital rubella gibi nörolojik, genetik ve metabolik hastalıkta da görülmesi hastalığın genetik temellerinin olduğunu düşündürmektedir [67].

Aile ve ikiz çalışmalarından elde edilen verilere göre otizmin kalıtılabilirliği %100 olmaması genetiğin tek başına otizmi açıklayamadığını göstermektedir. Bu konuda en çok kabul gören teori ise genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi anlamına gelen epigenetik mekanizmaların etyolojide rol oynamasıdır [68].

2.1.7.3. Nöroanatomik Değişiklikler

Yapılan nöroanatomik çalışmalarda ilk saptanan bulgulardan birisi OSB'de beyin hacminde artış olmasıdır ve bu ilk 2 yaş için fenotipik kabul edilmiştir [69].

Atipik beyin olgunlaşmasını inceleyen geleneksel nörogörüntüleme çalışmaları önceleri 3 yaş üstündeki hastalarda yapılmıştı. Daha küçük yaşlardaki hastalarla yapılan yeni çalışmalar OSB'de beyin olgunlaşmasındaki anormalliklerin yaşamın ilk 2 yılında meydana geldiğini göstermiştir [70].

OSB'de sosyal, iletişim ve motor becerilerin gelişimindeki bozulmayla alakalı suçlanan bazı beyin bölgeleri; fronto-temporal ve fronto-parietal bölgeler, amigdala-hipokampal kompleks, serebellum, bazal gangliyonlar ile ön ve arka singulat kortekstir [71].

Serebellumda, özellikle serebellumun posterior, inferior ve posterolateral neoserebellum bölgelerinde purkinje hücrelerinde kayıp bildirilmiştir [70].

2.1.7.4. Nörokimyasal değişiklikler

Otizimde nörotransmisyonun tutulumu ile ilgili ilk veriler on yıl öncesine kadar daha çok postmortem beyin ve vücut sıvılarının ölçümlerine dayanıyordu [72].

Daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalar ise moleküler görüntüleme ve nörotransmitterler hakkında genetik kanıtlar yoluyla elde edilmiştir. Nörotransmitterler ve nöropeptitler, nöronal hücre göçünü, farklılaşmasını, sinaptogenezi, apoptozu ve sinaptik budamayı etkileyerek normal beyin gelişiminde temel bir rol oynar. Hafıza, davranış ve motor aktivite düzenlemesine katkıda bulunur. Bu karmaşık ağların nasıl etkileşimde bulunduğu ve otizmin temel semptomlarının başlamasına neden olduğu ise hala belirsizliğini korumaktadır. Çalışmalar gama aminobutirik asit (GABA), glutamat,

serotonin, dopamin, N-asetil aspartat, oksitosin ve arginin-vazopressin, melatonin, D vitamini, orexin, endojen opioidler ve asetilkolin üzerine odaklanmaktadır [48].

Serotonin(5HT): Çalışmalar, serotonin taşıyıcısının (SERT veya 5-HTT) veya serotonin düzeylerinin otistik çocuklarda ve hayvan modellerinde kontrollere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir [73], [74]. Normal çocuklarda 2-5 yaş arasında 5-HT düzeyleri artarken ergenlikle birlikte azalmaktadır. Otizmlili bireylerde ergenlikteki bu normal düşüşün olmadığı düşünülmektedir [75]. Ayrıca OSB deneklerinde trombosit hiperserotoninemisi saptamıştır [76].

Gama aminobutirik asit (GABA): OSB'li çocuklarda plazma GABA ve glutamat seviyeleri değişir. Özellikle, plazma GABA ve glutamat / glutamin oranı belirgin bir yükselme gösterirken, plazma glutamin ve glutamat / GABA oranları, kontrollere göre anlamlı olarak daha düşüktür [77].

Dopamin: Birçok çalışma OSB'nin dopaminerjik disfonksiyonla ilişkilendirilebileceğini ve belirli beyin bölgelerindeki dopamin dengesizliklerinin otistik davranışlara yol açabileceğini öne sürmektedir. Özellikle, otistik denekler mezokortikolimbik dopaminerjik sinyal yolunda, prefrontal kortekste dopamin salınımının azalması ve nükleus akümülatlarında nöral yanıtın azalması gibi değişiklikler göstermiştir [78]. Ayrıca otizmle DR3 ve DR4 dopamin reseptörleri veya dopamin taşıyıcı (DAT) gen polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir [79].

2.1.7.5. Nörofizyolojik Faktörler

Otizimde görüntüleme çalışmalarından net sonuçlar elde edilememesi ve eğitsel tedavilere verdiği olumlu yanıtlar göz önünde bulundurularak fonksiyonel sorunlar araştırılmaya başlanmıştır ve otizme %50 oranında EEG anormalliklerinin eşlik ettiği bildirilmiştir [80]. Otizm ve epilepsinin sık birlikteliğinin doğasını anlamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır ancak bu iki bozukluk arasındaki ilişki halen tam olarak açık değildir. Özellikle regresif otizm etyolojisinde EEG anomalilerinin ve epilepsinin önemli rol oynadığı, 3 yaş sonrası geç başlangıçlı regresyonla kuvvetli bir bağlantısı olduğu bildirilmiştir [81].

OSB tanılı bireylerin 21 yaşına kadar izlendiği bir çalışmada; olguların büyük kısmında epileptik nöbetlerin 10 yaşından sonra başladığı, epilepsi gelişme sıklığının %22 olduğu ve nöbetlerin daha çok generalize tonik-klonik nöbet tipinde olduğu

saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada verbal iletişim eksikliği, kadın cinsiyet ve zekâ geriliği komorbiditesinin nöbet riskini artırdığı gözlenmiştir [82].

Otizmlili bireylerde özellikle kompleks parsiyel epileptik nöbetlerin sık olduğu ve antiepileptik tedavinin otistik belirtilerde gerilemeye sebep olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda otizmlilerde EEG anormalliklerine bazen klinik nöbet eşlik etmemekte ve bu hastalara antiepileptik tedavi başlanıp başlanmayacağı tartışılmaktadır. [81].

2.1.7.6. Çevresel Etmenler

Genetik etmenlerin otizmin etiyolojisini %100 açıklayamaması ve hastalığın prevalansındaki yıllara göre artış olması çevresel risk faktörlerinin hastalık etiyolojisindeki rolünü akla getirmektedir [5]. Bu bilgiler ışığında otizmin genetik ve çevresel risk faktörlerinin birbirlerini etkileyerek ya da genetik olarak yatkın kişilerde çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkması anlamına gelen epigenetik mekanizmalarla meydana geldiği düşünülmektedir [83].

Otizimde bu çevresel risk faktörleri prenatal, perinatal ve postnatal olarak sınıflandırılabilir.

Çalışmalarda prenatal faktörlerden en çok otizmle ilişkilendirilenler, gestasyonel kanama, gestasyonel diyabet, gebelikte valproat, talidomid, misoprostol gibi ilaçların kullanılmasıdır [5, 84]. Prenatal enfeksiyon ve ateşin OSB sıklığına etkisi olup olmadığını araştırmak için yapılan bir çalışmada; prenatal enfeksiyon öyküsü olan OSB tanımlı çocukların sosyal iletişim becerilerinde bozulma ve stereotipik davranışlarında artış gözlemlenmiştir [68].

Perinatal risk faktörlerinin bazıları; ilk doğum, sezaryen doğum, doğumda makat geliş, umbilikal kord komplikasyonları düşük Apgar skorları, hipoksi, mekonyum aspirasyonu ve doğum travmasıdır. Neonatal faktörler ise prematürite, düşük doğum ağırlığı, neonatal anemi, ABO veya Rh uyumsuzluğu, hiperbiliübinemi neonatal ensefalopatidir [85, 86]. Yapılan bir meta-analizde yenidoğan sarılığının otizm riskini 1.87 oranında artırdığını bildirilmiştir [87].

Postnatal risk faktörlerinde suçlanan kimyasallar ise; aşılarda ilaçlar ve madde kötüye kullanımı, ağır metaller (civa, kurşun vb.), hava kirleticileri (nitrik oksit, Ozon), pestisitlere maruziyettir [5, 84]. Uzun yıllardır tartışmalı olan aşılarda ilaçlar ile ilgili yapılan çalışmalarda aşı ile otizm arasında ilişki olmadığını göstermiştir [88].

Fizyolojik faktörler ise ebeveyn yaşı ve gebelik komplikasyonları, özellikle düşük doğum ağırlığı ve prematürite, gebelikte kilo alımı, obezite ve diyabet, annenin prenatal testosteron düzeyi, bağışıklık anormalliklerini içermektedir [5]. İleri ebeveyn yaşının(40yaş üstü anne ve 40 yaş üstü baba) otizm için önemli bir risk faktörü olduğu fakat bunun tek başına bir sebep olmadığı, biyolojik sürecin bir tetikleyicisi olduğu düşünülmektedir [89].

OSB etiolojisinde beslenme faktörleri üzerinde çok çalışılmış, minerallerdeki eksiklikler ve eser elementlerin seviyeleri araştırılmıştır. Özellikle çinko, demir, bakır, D vitamini eksikliği araştırılmıştır. Maternal folik asit alımının OSB'ye karşı koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar olsa da bu konudaki bilgilerimiz sınırlıdır [90].

Nörogelişim, antienflamatuar yanıt ve detoksifikasyon gibi çeşitli fonksiyonlarda önemli bir rol oynayan D vitamini ile OSB arasında bir ilişki olduğuna dair kanıtlar sınırlı ve dolaylıdır. Otizmlili çocuklarda ve annelerinde D vitamini eksikliği ile otizmin başlangıcı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir [91]. Ayrıca Kuzey Avrupa ülkelerindeki göçmenler arasında artan otizm yaygınlığı, onların koyu tenli olması nedeniyle D vitamini eksikliğine daha yatkın olmaları ve bunun da OSB etiolojisinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür [90]. Dahası bir çalışmada D vitamini eksikliği olan otizm hastalarında replasman tedavisinin otistik bulguların gerilemesine sebep olduğu gösterilmiştir [92].

Sosyoekonomik durum (SED), etnik köken, göçmen statüsü ve stres OSB ile ilişkilendirilen sosyal faktörlerdir. Esas olarak Amerikan çalışmalarında yüksek SED, OSB ile ilişkilendirilmiştir [90]. Bununla birlikte İsveç ve Kanada gibi evrensel sağlık programları olan ülkelerde, düşük aile veya anne geliri OSB ile ilişkili bulunmuştur [93, 94]. Bu tutarsızlıklar göz önüne alındığında SED ve OSB ilişkisi araştırılması gereken bir konu olarak kaldığı görülmektedir.

Maternal strese bağlı ortaya çıkan immünolojik ve nöroinflamatuvar değişikliklerin plasental disfonksiyon dahil olmak üzere değişik mekanizmalarla fetal nörogelişimi etkileyebildiği ve OSB etiolojisinde rol aldığı gösterilmiştir [5].

OSB'deki fizyolojik anormalliklerin en güçlü kanıt tabanına sahip olan kısmı bağışıklık anormallikleridir. Enfeksiyonlar, MSS'nin kronik inflamasyonunu tetikleyerek OSB etiolojisinde yer alabilir [95]. Ayrıca otoimmünite ve beyin iltihabı arasında potansiyel bir ilişki bulunmuştur [96]. OSB'li çocuklarda önemli ölçüde farklı

adaptif hücresel bağışıklık fonksiyonu ve sitokin düzeyleri bildirilmiştir [97]. Esas olarak hayvan ve insan klinik çalışmalarına dayanan incelemelere göre, erken yaşam döneminde toksik maddeler, gıda katkı maddeleri ve stres beyni de etkileyen bir toksite ile sonuçlanabilir. Bu toksite, proenflamatuvar sitokinlerin üretimini tetikleyebilir ve bu da nörogelişimi etkileyen kronik iltihaplanmaya neden olabilir [98]. Ayrıca son zamanlarda nörogelişimsel hastalıklar ile barsak mikrobiyota ilişkisinin de, barsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin toksin üretimi, fermentasyon sürecinde bozulmalar ve bunların neden olduğu bağırsak geçirgenliğinde artış ile sonuçlandığı bilinmektedir. Otizmde nöroimmunolojik mekanizmalar ile bu sızdıran bağırsak ve immünolojik süreçler arasında bağlantının OSB etiolojisinde önemli bir rolü olduğu savunulmaktadır [99].

2.2. Otizm ve Gut-Beyin Aksı

Otizmde kabızlık, şişkinlik, karın ağrısı, ishal gibi GIS semptomlarının sık görülmesi araştırmacıları bağırsak ve otizm arasındaki ilişkiye yönlendirmiştir [6]. Ayrıca bu bulguların davranış değişiklikleri, hiperaktivite, anksiyete, saldırganlık ve uyku problemleriyle ilişkili olduğunun gösterilmesi bu ilişkinin sadece bir komorbidite ile sınırlı olmadığını, etyolojide de önemli bir yeri olabileceğini düşündürmektedir [100].

Gut-beyin aksı hipotezine göre; bağırsakta meydana gelen bazı değişiklikler beyin ve davranışları etkileyebilmektedir. Bağırsak lümenindeki mikrobiyal ürünler ya da yiyecek antijenlerine ait zararlı bazı allerjenler bağırsak duvarı geçirgenliğinin bozulmasıyla (sızdıran bağırsak) lümen kan dolaşımına geçmektedir. Sistemik dolaşıma geçen bu moleküllerin immunitede yol açtığı değişiklikler ve inflamatuvar sitokinler aracılığıyla beyinde toksik etkiye yol açtığı düşünülmektedir. Son yıllarda otizm gibi nöropsikiyatrik hastalıklarda da bu mekanizmanın rol aldığı düşünülerek yoğun şekilde araştırılmaya başlanmıştır.

Literatürde otizmle ilgili bu konudaki çalışmaların 5 ana başlıkta incelendiği görülmektedir;

1. Bağırsak Duvar Geçirgenliğinde Artma (Sızdıran bağırsak hipotezi, leaky gut)
2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Disbiyozis

3. Yiyecek Antijenleri ve Gluten İntoleransı
4. Sistemik Dolaşımdaki İmmün Değişiklikler
5. Kan Beyin Bariyeri ve Nöronal Değişimler

2.2.1. Bağırsak Duvar Geçirgenliğinde Artma (Sızdıran bağırsak hipotezi, leaky gut)

Sağlıklı insanlarda bağırsak bariyeri bağırsak mikrobiyatası, bağırsak lenfoid dokusu ve bağırsak epitel hücrelerinin oluşturduğu mekanik bariyer olmak üzere 3 kısımdan meydana gelir [101].

Bağırsak lümeninden dolaşıma geçiş iki yol ile olur. Birincisi enterositlerin fırçamsı kenarlarında bulunan taşıyıcılar aracılığıyla emilimin olmasıdır ve buna transsellüler yol denir. Besin maddelerinin çoğunun emilimi bu yolla olur. İkinci hücreler arası boşluklardan geçiş olması anlamına gelen parasellüler geçiştir. Bu yoldan iyonlar, suda çözünen moleküller ve nadiren mikroorganizmalar geçiş yapar. Bağırsak epitel hücreleri, lateral membranlarda bulunan, intraepiteyal kavşaklar olarak adlandırılan bağlantılar aracılığıyla birbirine bağlanır. Bu kavşaklar üç ana bileşen içerir: sıkı kavşaklar (“tight junctions” TJ), kavşaklar (AJ) ve desmozomlar. Parasellüler geçiş bu TJ adı verilen protein yapıda bulunan kapılar tarafından kontrol edilir. Bu dinamik yapılar beslenme durumu, fiziksel aktivite, hormonal ve sinirsel sinyaller ve inflamatuvar medyatörler ile uyumlu şekilde açılır ve kapatılır. Zonula tıkayıcıları olarak da adlandırılan TJ’ler, bağırsak epitel hücreleri arasındaki parasellüler yoldaki ana bariyerdir. TJ ise okkludin, klaudin ve yapışma proteininden (JAM) oluşmaktadır [102]. Bu bağlantı proteinleri enterosit içindeki aktin ile ZO-1, ZO-2 ve ZO-3 adlı proteinler aracılığıyla iletişim kurar. Aktin miyozin kasılması bu bağlantı proteinleri aracılığıyla epitelin geçirgenliğini düzenler [103]. Herhangi bir sebeple bağırsak bariyerin bozulması sızdıran bağırsak (leaky gut) olarak adlandırılmaktadır. Bağırsak bütünlüğündeki bu bozulma birçok hastalığın nedeni olarak araştırılmıştır.

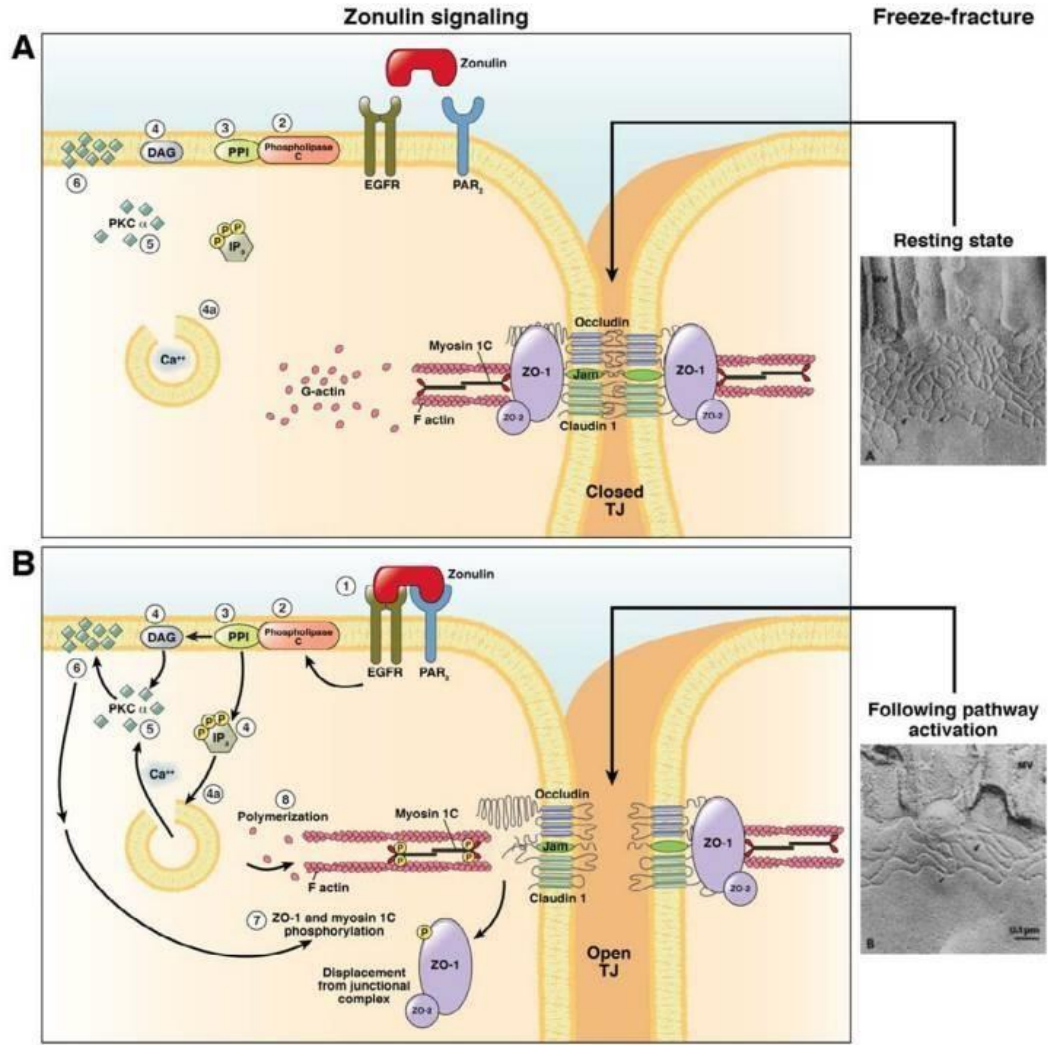
2.2.1.1. Zonulin

Vibrio kolera’ya ait bir enterotoksin olan Zonula Occludens Toxin’inin (ZOT), hücre içi aktin - myozin flamanlarını polimerize ederek TJ’lerin geri dönüşlü olarak açılmasına sebep olduğu gözlenmesi sonucu zonulin keşfedilmiştir [104, 105]. Zonulin önceleri sadece pasif bir prehaptoglobulin- α 2 protein öncülü olarak keşfedilmişse de

daha sonra bağırsak epitel bariyeri üstündeki rolleri anlaşılmıştır. İntestinal epitel dışında fetal ve erişkin beyin ve kalp dokularında da eksprese olduğu gösterilmiştir [9]. Zonulin bu TJ'larda anahtar konumdaki geri dönüşümlü fizyolojik bir modulatördür. Zonulin mukozada oluşur ve bağırsak geçirgenliğini direkt olarak kontrol eder. Bağırsak epiteli lümendeki bakteriler veya gıdalardaki gluten gibi tetikleyici maddeler ile uyarılınca zonulin lümene salınır ve epitel hücrelerinin apikal yüzeylerindeki reseptörlere bağlanarak sıkı kavşakların bütünlüğünün bozulmasına neden olur (Şekil 2.1).

Fizyolojik şartlarda bağırsaktaki mikroorganizmalar zonulin salınımını uyarmakta ve zonulinin etkisi ile TJ'ler açılmaktadır. Bu da suyun lümene salgılanarak, lümenin bakterilerden temizlenmesini sağlamaktadır [106]. Sonuç olarak, TJ'lerin yapısında yer alan zonulinin bugün bilinen başlıca fonksiyonu, sıkı bileşkenin düzenlenmesi ile bağırsağı aşırı bakteriyel kolonizasyona karşı korumak ve özellikle makromoleküllerin bağırsak lümeninden geçişini engellemektir.

Bağırsak bütünlüğünün bozulmasının önemli sebeplerinden birisi zonulin düzeylerinin artmasıdır. Zonulin düzeyleri artınca parasellüler yol açılarak bağırsak geçirgenliğinin artışına sebep olur. Zonulini artıran önemli sebepler ise bağırsak mikrobiyatasındaki değişimler yani disbiyozis ve gluten gibi yiyecek antijenleridir [11-13].



Şekil 2.1. Zonulin etki mekanizmasının şematik görünümü [107]

(A) Dinlenme hali

(B) Zonulin epidermal büyüme faktörü reseptörüne (EGFR) bağlanarak hücre içi sinyalleri aktifler. Zonula occludens 1 (ZO-1) ve miyozin 1C'yi de içeren hücre içi proteinlerin fosforilasyonu aktin filamanlarını uyarır ve TJ gevşer.

Zonulin ve bağırsak geçirgenliğindeki artış çölyak hastalığı, tip 1 diabet, Crohn hastalığı gibi otoimmün hastalıklarda araştırılmıştır [7–9]. Ayrıca “leaky gut” majör depresyon, kronik yorgunluk sendromu, şizofreni ve multiple skleroz (MS) gibi nöroimmün hastalıkların patogenezinde de önemli bir araştırma konusu olmuştur [108], [109]. Duygudurum bozukluğu olan hastalarda ve birinci derece akrabalarında değişmiş bağırsak geçirgenliğine dair kanıtlar vardır [110].

Esnafoğlu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada zonulin bağırsak geçirgenliğini ölçmek için bir belirteç olarak kullanılmış olup, OSB grubu hastalarda zonulin düzeyi kontrol gruba oranla yüksek bulunmuştur [10]. Fakat bu çalışmada bağırsak geçirgenliği artışının inflamatuvar süreçlerle olan ilişkisi araştırılmamıştır. Başka bir çalışmada ise otizm ve kontrol grubu arasında zonulin düzeyleri ölçülmüş, anlamlı farklılık saptanmamıştır. Aynı çalışma daha sonra GIS semptomları olan OSB hastaları ile sağlıklı kontroller karşılaştırdığında GIS semptomları olan OSB grubunda zonulin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada Tool-like Reseptör (TLR)-4 stimülasyonu ile OSB grubunda IL-5, IL-15 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerde artış, TGF- β 1 düzeylerinde düşüş saptanmıştır [25]. Otizm hastalarıyla sağlıklı kontrollerin zonulin, anti-gliadin antikor düzeyleri karşılaştırılan başka bir çalışmada; zonulin düzeyleri otizm ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı farklılık göstermemiş olup, anti-gliadin antikorları otizm hastalarında yüksek bulunmuştur [111].

2.2.1.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Disbiyozis

Bağırsak mikrobiyotasının beyin gelişimi ve davranışlar üzerine etkisi ve bunun nöropsikiyatrik hastalıklara yansımaları son yıllarda yeni bir araştırma alanı olarak dikkat çekmektedir. Mikrobiyota ve mikrobiyom çeşitliliğini anlamak, mikroorganizmaların hastalık ve sağlıktaki rollerini belirlemek için İnsan Mikrobiyom Projesi (İMP, Human Microbiome Project) adı altında bir çalışma yürütülmektedir [112].

Vücutta yaşayan bütün mikroorganizmalar ve onların genetik materyali mikrobiyom olarak adlandırılır. Mikrobiyota terimi ise vücudun farklı bölgelerinde bulunan mikroorganizmaları ifade etmek için (örneğin bağırsak mikrobiyotası, cilt mikrobiyotası) kullanılmaktadır [113]. Bağırsaklarda yaklaşık 10^{14} (100 trilyon) mikroorganizma olduğu bilinmektedir ki bu sayı toplam insan hücresinden 10 kat fazladır [114]. İnsan bağırsaklarında ağırlıklı olarak firmicutes, bacteroidetes, actinobacteria ve proteobacteria bakteri aileleri olmak üzere birçok tür mikroorganizma yaşamaktadır [113]. Bu flora ve konakçı yani insan arasında normalde simbiyotik bir ilişki vardır. Bağırsak bakterilerinin patojenik organizmaların çoğalmasını engelleyen bir bariyer olarak görev alabildiği, toksik ve atık maddelerin yıkılmasına katkı sağladığı, gıdaların sindirilmesinde, bağışıklık sisteminin aktivasyonunda ve gen ekspresyonunda önemli rol oynadığını gösterilmiştir [115]. Ayrıca bağırsak bakteri florası tarafından

Üretilen ve periferik dolaşıma salınan metabolitlerin santral sinir sisteminin gelişimine ve işlevine katkı sağladığı bildirilmiştir [116].

Klinik gözlemler ve hayvan deneyleri bağırsak-beyin etkileşiminin intrauterin dönemde başladığını ve yaşam boyu devam ettiğini düşündürmektedir [117]. Mikrobiyatanın beyin için önemli olan gama-aminobütirik asit (GABA), serotonin, beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) üretiminde rol oynadığı bilinmektedir [118], [119]. Ayrıca epitel hücreleri için önemli bir enerji kaynağı olan ve immün sistemi de destekleyen kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA) oluşumunu sağlar [120]. Esansiyel bir aminoasit olan triptofan metabolizmasında da bağırsak mikrobiyatasının önemi büyüktür [121].

Bağırsak florasının sayısı ve içeriğı, kişinin yaşı, genetiğı, beslenme alışkanlığı, yaşadığı coğrafi bölge, doğum şekli, gebelik süresi, antibiyotik, prebiyotik veya probiyotik kullanımı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının sayısında, yapısında ve içeriğinde değışiklik olursa ve bağırsaktaki denge bozulursa bu durum “disbiyozis” olarak adlandırılmaktadır [122].

Bağırsaktaki mikroorganizmaların peptidoglikan tabakadan oluşan hücre duvarı bu süreçte önemli rol oynamaktadır. Bu antijenik yapıların en iyi bilineni gram negatif bakteri duvarında bulunan LPS’dir. LPS bağırsak epitel hücre yüzeylerinde bulunan TLR gibi patern tanıma reseptörlerine bağlanarak pro-inflamatuar sitokinlerin salınımına sebep olur. Böylece humoral ve hücresel bağışıklık sistemi aktive olabilir. Salgılanan sitokinler, kan-beyin bariyerini geçebildiğı durumlarda direk etkiyle, geçemediğı durumlarda vagal sinir aracılığıyla dolaylı olarak MSS’yi etkiler. Ayrıca Hipotalamo-hipofiz-adrenokortikal (HPA) ekseninde stres tepkisi oluşturabilir [123], [124]. Ayrıca Bacteroides gibi gram negatif bakteri LPS’sinin, bağırsak epitelinde inflamasyona neden olarak bağırsak duvar geçirgenliğini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur [125, 126]. Serumda LPS gibi endotoksin düzeyleri, bozulan bağırsak bariyerinin ve kana geçen bakteriyel yükün göstergesi olabilir [127].

Ayrıca disbiyozis sonucu bağırsak mikrobiyotasına ait ürünlere karşı otoantikorlar oluştugu ve bu antikorların insan vücudundaki birçok hücre ile çapraz reaksiyona girerek otoimmün hastalıklara sebep olduğı düşünülmektedir [128]. Disbiyozis ile hastalıkların ilişkisini açıklayan diğerk bir mekanizma, değışen bağırsak

mikrobiyatasının kolon direncinde azalmaya sebep olarak fırsatçı patojenler ile oluşan enfeksiyonlara yatkınlık oluşturmaktadır [128].

Mikrobiyatanın değişimi sonucunda vücut için faydalı olduğu bilinen kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, triptofan üretimi gibi mikrobiyatanın görevlerinin sekteye uğradığı düşünülmektedir [122]. Değişen bağırsak florasının oksidatif strese, sülfür metabolizması bozukluklarına, mitokondriyal disfonksiyona ve nöroinflamasyona neden olarak MSS'de fonksiyonel değişikliklere sebep olabileceği bilinmektedir [8]

Disbiyozis ile nöropsikiyatrik hastalıkların ilişkisi birçok hastalıkta araştırılmıştır. Depresyon ile mikrobiyata ilişkisini inceleyen çalışmalar; depresyonla disbiyozisin ilişkili olabileceğini, depresyon tedavisinde probiyotik ve prebiyotik ajanların kullanımının alternatif tedavi yöntemleri gibi görüldüğünü bildirmiştir [129], [130]. Ratlarda yapılan bir çalışmada; Bifidobacterium infantis içeren probiyotikler ile beslenen ratların proinflamatuvar sitokinlerinin seviyelerinde azalma, plazma triptofan seviyesinde artma gözlenmiş ve artan triptofan düzeyleri depresif davranışlardaki azalmayla ilişkili bulunmuştur [131].

Etyolojisi tam olarak aydınlatılamayan önemli nörogelişimsel hastalıklardan şizofreni de mikrobiyatanın önemli araştırma alanlarından biri olmuştur. Yapılan bir çalışmada ilk psikotik atak hastalarının mikrobiyatalarında Lactobacillus sayılarının fazla olduğu ve semptomların şiddeti ve tedaviye yanıtla da ilişkili olduğu bildirilmiştir [132]. Fakat yapılan probiyotik kullanımı ile ilgili çalışmalar şizofrenide umut verici olmamıştır [133].

Çocukluk çağı önemli nörogelişimsel hastalıklarından olan DEHB'de de mikrobiyata profilinin sağlıklı kontrollerden farklı olduğunu, bağırsak geçirgenliğinin ve zonulin düzeylerinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [134, 135].

Mikrobiyata ile ilgili yapılan çalışmalar OSB'de anormal bakteriyel çeşitlilik, artmış bağırsak duvar geçirgenliği ve oksidatif stres üzerine yoğunlaşmıştır [8, 136, 137]. OSB'li çocuklarda Lactobacillus spp. türlerinin daha fazla olduğunu desteklese de farklı çalışmalarda Bacteroidetes, Clostridium spp. suşlarının yüksek olduğu görülmüştür [138–140]. Vankomisin tedavisi alan OSB hastalarının dikkatsizlik, irritabilite, hareketlilik gibi bulgularında gerileme gözlenmesi bu patojenlerin toksinlerinin temizlenmesinin beyne yaptığı faydalar olarak yorumlansa da bu etkinin geçici olduğu görülmüştür [141]. Deney hayvanlarında yapılan bir çalışmada ise yavru

farelerin *Bacteroidetes fragilis* ile tedavi edilmesinin bağırsak duvar geçirgenliğini düzenlendiği, farelerdeki iletişim eksiklikleri, stereotipik hareketler, anksiyete gibi otizm benzeri davranışlarında klinik olarak düzelme sağladığı bildirilmiştir [142].

2.2.1.3. Yiyecek Antijenleri ve Gluten İntoleransı

Gluten duyarlılığı, gluten proteinlerine karşı artan bir immünolojik reaksiyon durumu ve onlara karşı artan antikor seviyeleri olarak tanımlanabilir. Gluten, 70'ten fazla farklı molekül içeren buğday ve ilgili tahılların ana depolama proteinidir [143]. Gliadinler ise glutenin içerdiği proteinlerden birisidir ve α -gliadinler, β -gliadinler, γ -gliadinler, ω -gliadinler olarak sınıflandırılır [14]. Genetik olarak duyarlı kişilerde gliadinin de bakteri toksinlerine benzer mekanizmayla zonulin salınımını tetiklediği düşünülmektedir [15].

Otizmde GIS belirtileri ve artan otoimmün hastalık riski akla otizm ile çölyak hastalığı arasındaki ilişkiyi getirmiştir [16, 18]. Çalışmalar OSB'nin artmış pozitif çölyak serolojisi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır [17, 144].

OSB'deki “bağırsak-beyin bağlantısı” teorilerine göre, gluten ve kazeinin bağırsakta inflamasyonu tetikleyebildiği ve kana geçen antijenlerin merkezi sinir sistemi ile çapraz reaksiyona yol açtığı düşünülmektedir [19].

Otizm hastalarında çölyak tanısı olmadan da gluten duyarlılığı olduğunu gösteren çalışmalar gluten ve kazein içermeyen diyet gibi terapötik yaklaşımların yolunu açmıştır [145]. Glutensiz ve kazeinsiz diyetlerin otistik semptomları iyileştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [146, 147]. Ayrıca glutensiz dietin zonulin düzeylerinin azalmasına, bağırsak epitel bağlantılarının eski düzenine dönmesine, serum otoantikor titrelerinin normale gelmesine sebep olduğu gösterilmiştir [13].

Otizm hastalarıyla sağlıklı kardeşlerinin ve kardeş olmayan sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığı bir çalışmada anlamlı derecede yüksek anti-gliadin Ig-G düzeyleri gözlenmiş, anti-TG2 antikorları, HLA-DQ2 / DQ8 analizi ise yüksek bulunmamıştır. Ayrıca bu çalışmada GIS belirtileri olan otizmliler hastalarının antigliadin IgG düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir [17].

2.2.1.4. Sistemik Dolaşımdaki İmmün Değişiklikler

İmmünite, hastalığa özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanır. Sitokinler ise immün hücrelerce üretilen immunomodulator moleküllerdir ve bağışıklığın birçok aşamasında rol alırlar ve birbirleriyle iletişim içindedirler. TNF- α mikroplara, özellikle Gram negatif bakterilerin LPS'lerine karşı yanıtta aktifleşmiş makrofajlar tarafından üretilirler ve septik şokta ateş ve hipertansiyon oluşumunda rol alırlar. Akut inflamasyonda önemli bir araçtır. Uyarı sonrası 30 dakika içinde ekspresyon başlamakta, 90-120. dakikalarda pik sağlanmakta ve miktarı 240 dakika içinde saptanamayacak seviyelere kadar inmektedir. Kemokinleri üreterek enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajların gelmesine aracılık eder TGF- β ise T hücreleri tarafından üretilen inhibitör bir sitokindir. T hücrelerinin çoğalmasını, makrofaj aktivasyonunu ve pro-enflamatuvar sitokinlerin etkilerini inhibe eder. IL-6 aktive edilmiş T ve B lenfositleri, monositler, fibroblastlar ve makrofajlarca üretilen pro-enflamatuvar bir sitokindir. Ayrıca IL-6 karaciğerde akut faz proteinlerinin üretilmesinde ve nöron gelişmesinde de rol oynamaktadır [148].

İnflamasyon ve immün disfonksiyonun depresyon, şizofreni, PANDAS ve OSB dahil olmak üzere bir dizi nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkisine dair birçok kanıt vardır [20–22].

Ailesel otoimmünite ile OSB arasındaki bağlantı ise ilk olarak Money ve ark. OSB'li bir çocukta alışılmadık derecede geniş bir otoimmün bozukluk öyküsü gözlemledikten sonra araştırılmaya başlanmıştır. Çocuğun babasına kronik atletik ayak enfeksiyonu, annesine ülseratif kolit, ağabeyine hipoparatiroidizm, Addison hastalığı ve diabetes mellitus, bir erkek kardeşine de hipotiroidizm, Addison hastalığı ve alopesi teşhisi konmuştur [149]. O zamandan beri OSB otoimmün hastalık ilişkilerini inceleyen birçok çalışma yapılmış olup, 2015'te yayınlanan bir metaanalizde hipotiroidizm, tip 1 diyabet, romatoid artrit, ve sedef hastalığı gibi otoimmün hastalık öyküsünün yüksek olduğu gösterilmiştir [150].

Otizmde de immün sistem araştırmalarına ilgi son yıllarda artmıştır ve otizmin bir alttipinin immün sistemle ilişkili olabileceği düşünülmektedir [23, 151, 152]. Anormal sitokin profilleri ve OSB arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir [24]. OSB hastalarının monositleri izole edilerek yapılan bir çalışmada; bu monositler TLR2 ve TLR4 ligandları ile uyarıldığında belirgin bir şekilde artmış pro-enflamatuvar sitokin

yanıtı, TLR 9 ligandı ile uyarıldığında azalmış bir enflamatuvar yanıtı gösterdiği tespit edilmiştir [153]. Otizmlı çocukları sağlıklı kardeşleri ve gelişme geriliği olan kontrol grubuyla karşılaştıran bir çalışma; IL-1 β , IL-6, IL-8, and IL-12p40 düzeylerinin otizmlı çocuklarda arttığını ve artmış sitokin seviyelerinin OSB'nin regresif formu, iletişim eksiklikleri ve anormal davranışlarla ilişkili olduğunu bildirmiştir [154]. 4-7 yaş arası otizmlı hastaların plazma sitokin düzeylerini karşılaştıran bir başka çalışma, OSB grubunda daha yüksek TNF- α , IL-1 β ve IL-17A seviyeleri ve yüksek TNF-a düzeyleri ile OSB semptomlarının şiddetinde pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir [155].

Ayrıca OSB grubunda plazma pro-inflamatuvar sitokinler artarken anti-inflamatuvar sitokinler ve TGF- β azalmış olarak bulunmuş ve bu düşüklük de davranış sorunları ile ilişkili bulunmuştur [156].

2.2.1.5. Kan Beyin Bariyeri Değişimleri

Kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin artması, sistemik bağışıklığın beyin fonksiyonlarını ve davranışları etkilemesine aracılık eder [24]. OSB, şizofreni ve sağlıklı kontrolleri olan bireylerin beyinlerini karşılaştıran postmortem bir beyin çalışması, kan-beyin bariyeri bütünlüğü ile ilişkili gen ekspresyonundaki değişikliğin OSB ye özgü olduğunu göstermiştir [157]. Ayrıca çalışmalar OSB'de değişen immün sisteme bağlı olarak beyin dokusu proteinlerine karşı oluşmuş anti-brain antikorlar bulunduğu göstermiştir [158].

Otizm gibi nöropsikiyatrik hastalıklarda beyin hasarı ve BOS geçirgenliğinin bir göstergesi olarak en sık S100B ve NSE araştırılmıştır.

S100B, astrositler tarafından sentez edilen hücre içi kalsiyum, çinko ve bakır bağlayan intraselüler bir glikoproteindir [26]. S100B proteini S100 proteinlerinin 25 üyesinden birisidir ve beyinde en çok bulunan S100 protein tipidir. S100B en çok astrositlerden eksprese edildiği bilinse de, Schwann hücreleri, mikroglia, melanositler, kolinerjik nöronlar, kondrositler, makrofajlar, adipositler, Langerhans hücreleri, myoepitelial hücreler, dendritik hücreler ve keratinositlerde de düşük miktarda salındığı gösterilmiştir [27].

Yaşamın ilk yılında ve 7-13 yaşlarında S100B'nin serum düzeyinin erişkinlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum S100B'nin yaşamın ilk yılındaki SSS'nin matürasyonu; 7-13 yaş arasındaki nöron büyümesi, dentritik dallanma ve sinaptogenez ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir [159].

S100B astrositler tarafından üretildikten sonra otokrin ve parakrin etkiyle nöronlar ve glial hücreler üzerinde ekstraselüler etkiler gösterir [160]. Hücre içi sinyal transdüksiyonunu ve protein transkripsiyonunu düzenleyerek hücre büyüme ve farklılaşmasında rol alır [27].

S100B düşük konsantrasyonda nöroprotektif iken, yüksek konsantrasyonda nörotoksiktir ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak apoptozu tetikleyebilir [28].

S100B düzeylerinin normal bulunmasının, MSS'ye ait majör bir patolojiyi güvenilir bir şekilde ekarte ettiği ileri sürülmüştür [161].

Dejenere olmuş astrositlerden de S100B salınır [162]. S100B düzeyinin, travmatik beyin hasarları, psikiyatrik hastalıklar, serebrovasküler patolojiler ve nörodegeneratif hastalıklarda anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir [29, 30].

Down Sendromu, Alzheimer hastalığı ve epilepsisi olan hastalarda S100B düzeyi yüksek saptanmıştır [163]. Ayrıca migren, majör depresyon, şizofreni hastalarında S100B yüksekliğini gösteren çalışmalar mevcuttur [164–166].

OSB ile S100B ilişkisini ilk gösteren çalışmada, OSB'de S100B proteininin sağlıklı kontrollere oranla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve bu yüksekliğini OSB belirti şiddeti ile korele olduğu gösterilmiştir [31].

Risperidon, 5HT1A reseptör agonistleri, glutamat, adenosin ve lizofosfatidik asit S100B salınımını artırabilmektedir [167].

3-12 yaş arası 43 otizm hastası ile sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığı bir çalışmada S100B, tau, NSE, active caspase-3, M30, and M65 seviyelerinin otizm hastalarında daha yüksek olduğu gözlenmiş ve S100B nin otizmdeki apoptozisin göstergesi olabileceği düşünülmüştür [32].

NSE'nin de MSS'de önemli rolleri olduğu bildirilmiştir. Enolaz glikolitik yolda görev alan bir enzimdir ve α , β , γ olmak üzere üç immünolojik subünitesi bulunur. Enolazın $\alpha\alpha$ izoenzimi glial hücrelerde bulunur ve nonnöronal enolaz (NNE) şeklinde isimlendirilir. α ve γ dimerleri ise NSE olarak isimlendirilir. NSE nöronların stoplazmasında ve nöroendokrin hücrelerde bulunur [168].

NSE'nin MSS'de nöroprotektif rolü olduğu düşünülmektedir. Nöron hücre zarı yapılarının olgunlaşmasında, membranın uyarılmasında, tüm enerji bağımlı hücre

bağırsak geçirgenliği bozulmakta ve sistemik dolaşımında immun-inflamatuar değişiklikler oluşmaktadır. Bu inflamatuvar değişiklikler de beyni etkileyerek nöropsikiyatrik hastalıkların oluşumunda rol almaktadır. Ancak bu konuyu araştıran çalışmaların genelde komorbid GIS patolojilerine sahip hastalardan seçilmiş olması akla şu soruyu getirmektedir: “Hastalarda gösterilen bu bağırsak patolojileri ve inflamasyona ait değişiklikler otizm hastalığının doğasından kaynaklanan nedensel bir durum mudur yoksa bu hastaların davranış bozukluklarının yol açtığı beslenme problemlerinden kaynaklanan bir sonuç mudur?” Dolayısı ile biz bu çalışmada bu sorudan yola çıkarak otizm grubunda GIS semptomları yüksek olmayan hastaları seçerek GIS bulgularını kontrol grubuyla eşitlemeye çalıştık.

Diğer taraftan bugüne kadar OSB hastalarında bağırsak değişimleri, inflamatuvar süreçler ve beyindeki değişimler ayrı ayrı araştırılmakla birlikte bu alanlardaki bozulmaların birlikte değerlendirilerek gerçekten bir ilişki içinde olup olmadıkları bütüncül bir şekilde araştırılmamıştır. Bağırsakta var olduğu gösterilen bir patolojinin beyni etkileyebileceği ileri sürülmüş olsa da bu hipotezi desteklemek için aynı hasta grubunda her iki alandaki patolojinin gösterilmesi ve ilişkilendirilmesi gerekir. OSB hastalarında tek başına zonulin düzeylerinde bir değişiklik olduğu ya da kanda inflamatuvar sitokinlerde bir artış olduğu gösterilse de, bu iki verinin ilişkili olduğu gösterilmediği sürece bu hastalığın etyopatogenezinde yer aldığını ileri sürmek zordur. Bu tür ilişkilendirme çalışmalarının nispeten az olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalardan da anlaşılabacağı üzere veriler tek başına değerlendirildiğinde çelişkili sonuçlar mevcuttur . Bu veriler ışığında bu çalışmada OSB hastalarında, olası bağırsak patolojileri, inflamatuvar süreçler ve beyin değişikliklerinin “sızdıran bağırsak” hipotezini destekler şekilde birbiri ile ilişkisini belirlemek amaçlanmıştır.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araştırmanın Örneklemi

Bu araştırmaya Aralık 2019 ile Haziran 2020 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Çocuk ve Ergen Psikiyatri polikliniğine başvuran DSM-5 tanı ölçütlerine göre OSB tanılı 40 hasta ve 39 sağlıklı çocuk alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubu, çocuk psikiyatri polikliniğine başvuran hastalardan DSM-5 tanı ölçütlerine göre herhangi bir psikiyatrik hastalık tanısı almayan, genel pediatri polikliniğine başvuran nöroloji ve gastroloji açısından dışlama kriterlerinde bahsedilen hastalık tanıları olmayan sağlıklı gruptan seçilmiştir. OSB grubundaki çocukların 1 tanesi çalışmaya dahil edildikten 1 gün sonra ateş sebebiyle pediatri polikliniğine başvurduğu öğrenildiği için, 4 hastanın da kanı alındıktan sonra hemolize olduğu için çalışmadan çıkarılmıştır. Sağlıklı kontrol grubundaki çocukların da 2 tanesinin alınan kan miktarı yetersiz olduğu için, 2 tanesinin de kanının hemolize olmasından dolayı çalışmadan çıkarılmıştır. Sonuç olarak çalışmaya 35 OSB grubu, 35 sağlıklı çocuk katılmıştır.

Çalışmanın amacı yöntemleri çocukların ailelerine ayrıntılı bir şekilde açıklanmış, aydınlatılmış onam formunu okumaları için zaman verilmiş, kabul eden aileler çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.2. Araştırmanın Deseni

Bu çalışma tek merkezli vaka-kontrol araştırması olarak yapılmıştır ve çalışmaya İnönü Üniversitesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonundan 2019/201 kodu ile etik onay alındıktan sonra başlanmıştır.

3.3. Deneklerin Seçimi

3.3.1. Araştırma grubu için dahil edilme kriterleri

- Klinik psikiyatrik muayene ve değerlendirmeler sonucunda DSM-V tanı ölçütlerine göre OSB tanısı almış olmak.
- 3-12 yaş arası olmak.

- Bilgi ve onam alınması için birincil bakımveren ebeveyni ile muayeneye başvurmuş olmak.

3.3.2. Araştırma grubu için dışlanma kriterleri

- Epilepsi, MS gibi nörolojik hastalıklar,
- Fragile X sendromu, tüberoskleroz gibi genetik ve metabolik hastalıklar,
- Kistik fibrozis gibi kronik karaciğer veya pankreas hastalıkları,
- Çölyak, ülseratif kolit, crohn gibi gastrointestinal sistemi etkileyecek hastalıklar,
- Kronik, otoimmün hastalıklar,
- Obezite gibi bağırsak geçirgenliğini veya immun cevabı etkileyen, nöronal hasara yol açan hastalıklara sahip olmak.

3.3.3. Kontrol grubu için dahil edilme kriterleri

- 3-12 yaş arası olmak.
- DSM-V tanı sistemine göre herhangi bir psikiyatrik hastalık tanısına sahip olmamak.

3.3.4. Kontrol grubu için dışlanma kriterleri

- Epilepsi, MS gibi nörolojik hastalıklar,
- Fragile X sendromu, tüberoskleroz gibi genetik ve metabolik hastalıklar,
- Kistik fibrozis gibi kronik karaciğer veya pankreas hastalıkları,
- Çölyak, ülseratif kolit, crohn gibi gastrointestinal sistemi etkileyecek hastalıklar,
- Kronik, otoimmün hastalıklar,
- Obezite gibi bağırsak geçirgenliğini veya immun cevabı etkileyen, nöronal hasara yol açan hastalıklara sahip olmak.

3.4. Yöntem

Öncelikle katılımcıların ebeveynleri ile klinik görüşme yapılmıştır. Daha sonra çocuklar oyun gözlem odasında gözlemlenmiş ve psikiyatrik muayeneleri yapılmıştır.

Yapılan psikiyatrik muayenenin ardından klinisyen tarafından Çocukluk Otizmini Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ) uygulanmıştır. Ebeveynlerle beraber Gelişim Değerlendirme Formu ve Sosyodemografik Veri Formu doldurulmuştur.

3.4.1. Antropometrik ölçümler

Çocukların ağırlıkları 100 gr'a duyarlı yer baskülü ile, boyları ise taşınabilir boy ölçerle aynı kişi tarafından ölçülmüştür ve BMI'leri hesaplanmıştır.

3.4.2. Kan alma ve Biyokimyasal Analiz

Görüşme sonrasında çocuklardan venöz kan örneği alınmıştır. OSB ve kontrol grubundaki çocukların venöz kan örnekleri, arka ucunda plastik yapısı bulunmayan steril enjektör ile alınmıştır. Araştırma ve kontrol grubundaki çocuklardan jelli rutin biyokimya tüplerine 5 ml kan örnekleri alınmıştır. Kan numuneleri hiç bekletilmeksizin 5 dk süre ile 1500 devirde santrifüj edilerek serumları çıkartılmıştır. Elde edilen serum örneklerinin her biri 3 ayrı seri oluşturmak üzere propilen ependorf tüplerine bölünüp analizleri gerçekleştirilene kadar -80 °C'de saklanmıştır. Araştırma ve kontrol grubu için öngörülen numune sayısına ulaşıldığında, tüm serum örnekleri oda sıcaklığında çözündürülerek serum zonulin, antiigliadin IgA-IgG, anti-LPS IgG, IL6, TNF- α , TGF- β , NSE, S100B düzeyleri Enzim Bağımlı İmmunabsorbant (ELISA) yöntemi ile analiz edilmiştir.

3.4.3. Gereçler

3.4.3.1. Sosyodemografik Veri Formu

Bu form araştırma ekibi tarafından oluşturulmuştur. Araştırmacı tarafından okunmuş ve ebeveynlerle birlikte doldurulmuştur. Çocuğun cinsiyeti, yaşı, anne-baba yaşı, kardeş sayısı, eğitim ve özel eğitim durumu, sürekli tedavi gerektiren bedensel hastalık ve ilaç kullanımı, soygeçmişte psikiyatrik öykü, diyet programının olup olmadığını sorgulayan bir formdur.

3.4.3.2. Gelişim Değerlendirme Formu

Bu form araştırma ekibi tarafından oluşturulmuş olup aile ile beraber doldurulmuştur. Çocuğun doğum öncesi, doğum ve doğum sonrası öyküsünü ayrıntılı sorgulayan, motor gelişimini değerlendiren, anne sütü alımı ve beslenmesini, seçici

beslenme gibi yeme alışkanlıklarını içeren bir formdur. Ayrıca kabızlık, ishal gibi gastrointestinal semptomlarını da sorgulamaktadır.

3.4.3.3. Çocukluk Çağı Otizmi Değerlendirme Ölçeği (ÇODÖ)

2 yaşından büyük OSB şüphesi olan çocukların değerlendirilmesinde ve diğer gelişimsel bozukluklardan ayırıcı tanısı yapılmasında kullanılan ÇODÖ, 1971 yılında geliştirilmiş [173]. Ülkemizde ÇODÖ'nün geçerlilik ve güvenilirlik çalışmaları ilk olarak Sucuoğlu ve arkadaşları tarafından, daha sonra da İncekaş ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [174].

Ölçek her biri birer alt ölçek görünümünde olan 15 maddeden oluşmaktadır ve maddeler 1 ile 4 arasında, yarım puanı da içerek içerebilecek şekilde puanlanabilir. Derecelendirme sırasında “1” o yaştaki bir çocuk için normal sınırlarda davranışı, “2” hafif, “3” orta, “4” ağır düzeyde anormallliği gösterir. Klinisyen çocuğu gözlemledikten ve ebeveynlerden alınan bilgilerden sonra puanlamayı yapar. İnsanlarla ilişki, taklit, duygusal tepkiler, bedenin kullanımı, nesne kullanımı, görsel tepki, dinleme tepkisi, değişikliğe uyum, tatma, koklama, dokunma tepkisi, korku ya da sinirlilik, sözel iletişim, etkinlik düzeyi, zihinsel tepkilerin düzeyi ve tutarlılığı ile genel izlenim bu alt ölçeklerin başlıklarıdır.

Ayrıca ÇODÖ otizmin şiddetini hafif-orta-ağır olarak değerlendirme imkanı da sağlar. Elde edilen toplam puan ile otizmin derecesi belirlenebilmektedir. Toplam puan 15 ile 60 arasında olabilmektedir ve 15-29,5 puan arasında alan çocuklar otistik değildir. 30 ve üstü puan alanlar otizm tanısı almakta olup, 30-36,5 puan arası alan çocuklar hafif-orta otistik, 37-60 puan arası alanlar ağır otistik olarak yorumlanmaktadır.

Hasta ve kontrol gruplarına ait sosyodemografik bilgiler, antropometrik ölçümler, otizm şiddetini ölçen ÇODÖ ve laboratuvar parametreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.5. İstatistiksel yöntem

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Sayısal veriler medyan, minimum maksimum değerler ile gösterildi. İki bağımsız grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi uygulandı. İki den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi ve sonrasında Conover ikili karşılaştırma

yöntemi kullanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman sıra korelasyon katsayısı (r_s) ile incelendi. Kategorik veriler sayı-yüzde ile özetlendi ve karşılaştırmada süreklilik düzeltmeli ki-kare testi kullanıldı. Tüm testlerde iki-yönlü anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi. Analizler IBM SPSS Statistics for Windows versiyon 22.0 kullanılarak yapıldı.



4. BULGULAR

Bu çalışmaya 35 OSB tanısına sahip, 3-12 yaş aralığında çocuk katılımcı alındı. Kontrol grubu ise yine 3-12 yaş aralığında 35 sağlıklı çocuktan oluşmaktaydı.

4.1. Katılımcıların ve Ailelerinin Sosyodemografik Özellikleri

4.1.1. Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri

Otizm grubu yaş dağılımı açısından incelendiğinde minimum yaşı 3, maksimum yaşı 11, medyan değer ise 8 olarak gözlemlendi. Kontrol grubunun ise minimum yaşı 3, maksimum yaşı 12, medyan değeri ise 9'du. Her iki grubun yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p=0.427$). Katılımcıların sayısı ve yaş ortalaması Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Katılımcıların sayısı ve ortalama yaşları

	N	Median	Minimum	Maximum	p
Araştırma Grubu	35	8	3	11	0,427
Kontrol Grubu	35	9	3	12	

Çalışmada yer alan gruplar cinsiyetlerine göre incelendiğinde, otizm grubunda yer alan 35 çocuktan 28'i erkek (% 80.0), 7'si kız (% 20.0), kontrol grubunda yer alan 35 çocuktan 24'ü erkek (% 68.8), 11'i kız (% 11) cinsiyette idi. Her iki gruptaki çocukların cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0.412$). Katılımcıların cinsiyet açısından dağılımı Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Katılımcıların cinsiyet açısından dağılımı

		Cinsiyet			p
		Erkek	Kadın	Total	
Araştırma Grubu	n	28	7	35	0,412
	%	80,0%	20,0%	100,0%	
Kontrol Grubu	n	24	11	35	
	%	68,6%	31,4%	100,0%	
Total	n	52	18	70	
	%	74,3%	25,7%	100,0%	

Otizm ve kontrol grubunun eğitim durumu incelendiğinde; otizm grubundaki çocukların 8'inin (% 22.9) okula gitmediği, 8'inin (% 22.9) anaokuluna-kreşe gittiği, 18'inin (% 51.4) ilkokula gittiği, 1'inin (% 2.9) ortaokula gittiği saptandı. Kontrol grubundaki çocukların ise 5'inin (% 14.3) okula gitmediği, 5'inin (% 14.3) anaokulu-kreşe gittiği, 14'ünün (% 40.0) ilkokula gittiği, 11'inin (% 31.4) ortaokula gittiği öğrenildi. Otizm grubunun okula devam edebilme konusunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha geri olduğu gözlemlendi ($p=0.017$).

Otizm grubundaki çocukların 29'u (% 82.9) özel eğitim desteği alıyordu, kontrol grubundaki çocukların ise hiçbirisi özel eğitim desteği almıyordu. Dolayısıyla otizm grubundaki çocukların kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek oranda özel eğitim desteği aldığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Otizm grubundaki çocukların 13'ünün (% 37.1) düzenli bir ilaç kullandığı öğrenildi. Kontrol grubundaki çocukların ise hiçbirisi sürekli ilaç kullanmıyordu. İlaç kullananların 4'ü (% 11.4) sadece stimülan, 5'i (% 14.2) sadece antipsikotik, 2'si (% 5.7) antipsikotik ve stimülan, 1'i (% 2.8) antipsikotik ve duygudurum düzenleyici, 1'i (% 2.8) antipsikotik ve SSRI kullanıyordu. Otizm grubundaki çocukların düzenli bir ilaç kullanımı kontrol grubundaki çocuklardan anlamlı oranda yüksekti ($p<0.001$). Katılımcıların sosyodemografik özellikleri tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Katılımcıların sosyodemografik özellikleri

Katılımcıların Sosyodemografik Özellikleri		Araştırma Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P değeri
Eğitim Durumu	Gitmiyor	8 (%22.9)	5 (%14.3)	0.17
	Kreş-Anaokulu	8 (%22.9)	5 (%14.3)	
	İlkokul	18 (%51.4)	14 (%40.0)	
	Ortaokul	1 (%2.9)	11 (%31.4)	
Özel Eğitim	Gidiyor	29 (%82.9)	0 (%0.0)	0.00
	Gitmiyor	6 (%17.1)	35 (%100)	
İlaç Kullanımı	Var	13 (%37.1)	0 (%0.0)	0.00
	Yok	22 (%62.9)	35 (%100)	

4.1.2. Katılımcıların ailelerine ilişkin sosyodemografik veriler

Otizm ve kontrol grubundaki çocukların bakımverenleri incelendiğinde tüm katılımcıların ailesiyle yaşadığı gözlemlenmiştir.

Otizm grubundaki çocukların ebeveynlerinin 29'u (%82.9) birlikte yaşıyordu, 2'si (%5.7) boşanmış, 4'ü (%11.4) evli ama ayrı yaşıyordu. Kontrol grubundaki çocukların ebeveynlerinin 31'i (%88.6) birlikte yaşıyordu, 4'ü (%11.4) boşanmıştı. Ebeveynlerin boşanma oranında otizm ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.099$).

Anne-baba arasındaki akrabalık incelendiğinde, otizm grubundaki çocukların 6'sının (%17.1) anne babaları arasında akrabalık vardı, kontrol grubundaki çocukların 8'inin (%22.9) anne ve babaları arasında akrabalık vardı. Her iki grupta benzer oranda anne-baba akrabalığı vardı ($p=0.765$).

Otizm grubundaki çocukların 31'inin (%88.6) çekirdek aile, 4'ünün (%11.4) geniş aileye sahip olduğu, kontrol grubundaki çocukların 34'ünün (%97.1) çekirdek aile, 1'inin (%2.9) geniş aileye sahip olduğu gözlemlendi. Aile tipi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.356$).

Ailede psikiyatrik hastalık sorgulandığında, hem otizm hem de kontrol grubundaki çocukların 6'sının (%17.1) ailesinde psikiyatrik hastalık öyküsü vardı. Otizm grubu ve kontrol grubu ailede psikiyatrik hastalık öyküsü yönünden eşit orana sahipti ($p=1.00$).

Otizm grubundaki çocukların ailelerinin 2'sinin (%5.7) aylık geliri 1000 TL'nin altında, 21'inin (%26) geliri 1000-3000 TL arasında, 12'sinin (%33) geliri 3000 TL'den fazlaydı. Kontrol grubunun 1'inin (%2.9) geliri 1000 TL'nin altında; 14'ünün (%40) geliri 1000-3000 TL arasında, 20'inin (%57.1) geliri 3000 TL'den fazlaydı. Katılımcıların ailelerinin gelir düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.179$).

Otizm grubundaki çocukların 3'ü (%8.6) köyde, 7'si (%20) ilçede, 25'i (%71.4) ilde yaşıyordu. Kontrol grubunun 4'ü (%11.4) köyde, 2'si (%5.7) ilçede, 29'u (%82.9) ilde yaşıyordu. Yaşadıkları yer açısından incelendiğinde otizm ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0.239$). Katılımcıların ailelerine ilişkin sosyodemografik veriler tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Katılımcıların ailelerine ilişkin sosyodemografik veriler

Ailelerin Sosyodemografik Özellikleri		Araştırma Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P değeri
Anne Baba Evlilik Durumu	Evli	29 (%82.9)	31 (%88.6)	0.99
	Boşanmış	2 (%5.7)	4 (%11.4)	
	Evli Ama Birlikte Yaşamıyor	4 (%11.4)	0 (%0.0)	
Anne-Baba Arasında Akrabalık	Var	6 (%17.1)	8 (%22.9)	0.765
	Yok	29 (%82.9)	27 (%77.1)	
Aile Tipi	Çekirdek Aile	31 (%88.6)	34 (%97.1)	0.356
	Geniş Aile	4 (%11.4)	1 (%2.9)	
Ailede Psikiyatrik Hastalık	Var	6 (%17.1)	6 (%17.1)	1.000
	Yok	29 (%82.9)	29 (%82.9)	
Ailenin Geliri	1000 TL'nin Altı	2 (%5.7)	1 (%2.9)	0.179
	1000 - 3000 TL Arası	21 (%60.0)	14 (40.0)	
	3000 TL'nin Üstü	12 (%34.3)	20 (%57.1)	
Yaşadığı Yer	Köy	3 (%8.6)	4 (%11.4)	0.239
	İlçe	7 (%20.0)	2 (%5.7)	
	İl	25 (%71.4)	29 (%82.9)	

Annelerin çocuklarının doğumundaki yaşları karşılaştırıldığında, otizm grubundaki çocukların annelerinin ortalama 29 yaşında, kontrol grubundaki annelerin ortalama 28 yaşında olduğu gözlemlendi. Her iki grubun annelerinin çocuklarının doğumundaki yaşları açısından benzer olduğu tespit edildi ($p=0.553$).

Babaların çocuklarının doğumundaki yaşları karşılaştırıldığında, otizm grubundaki çocukların babalarının ortalama 34 yaşında, kontrol grubundaki babalarının ortalama 31 yaşında olduğu gözlemlendi. Her iki grubun baba yaşları arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.141$). Ebeveynlerin katılımcıların doğumundaki yaşları açısından karşılaştırılmasına ait veriler tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Ebeveynlerin katılımcıların doğumundaki yaşları açısından karşılaştırılmasına ait veriler

	Araştırma Grubu			Kontrol Grubu			P
	Median	Minimum	Maksimum	Median	Minimum	Maksimum	
Anne Olma Yaşı	29	19	44	28	20	40	0,533
Baba Olma Yaşı	34	24	47	31	24	49	0,141

4.2. Çocukların Antropometrik Ölçümlerine İlişkin Bulgular

Otizm grubu ve kontrol grubu boy, kilo ve BMI açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırayla 0.070, 0.573, 0.648). Katılımcıların antropometrik ölçümlerine ait veriler tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Katılımcıların antropometrik ölçümlerine ait veriler

	Grup								p
	Araştırma Grubu				Kontrol Grubu				
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	
Boy	35	126	91	157	35	135	100	167	0,070
Kilo	35	27	13	56	35	32	16	77	0,573
BMI	35	17	13	29	35	17	13	30	0,648

4.3. Katılımcıların Prenatal Gelişim Özelliklerine İlişkin Bulgular

Katılımcılar prenatal öykü açısından incelendiğinde, otizm grubundaki annelerin 11’inin (%31.4) gebeliğinin planlı olmadığı, kontrol grubundaki annelerin 3’ünün (% 8.6) gebeliğinin planlı olmadığı gözlenmiştir. Otizm grubundaki annelerin gebeliklerinin kontrol grubundaki annelerin gebeliklerine oranla anlamlı düzeyde planlı gebelik olmadığı saptanmıştır (p=0.036).

Otizm grubundaki annelerin 4’ünün (% 11.4), kontrol grubundaki annelerin 1’inin (% 2.9) gebelik için tedavi aldıkları tespit edildi. Otizm ve kontrol grubu arasında gebelik için tedavi alınmış olması açısından anlamlı fark yoktu (p=0.356).

Gebelik dönemi ilaç kullanımı açısından, otizm grubundaki annelerin 9’u (% 25.7), kontrol grubundaki annelerin 5’i (% 14.3) gebeyken bir ilaç kullandığını belirtti. Otizm ve kontrol grubu arasında gebelikte ilaç kullanımı açısından anlamlı fark yoktu (p=0.370).

Otizm grubundaki annelerin 2’si (% 5.7) , kontrol grubundaki annelerin 4’ü (%11.4) gebelikte sigara kullandığı belirtti. Gebelikte sigara kullanımı açısından otizm ve kontrol grubu anneleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.673). Katılımcıların prenatal gelişim özellikleri tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Katılımcıların prenatal gelişim özellikleri

Prenatal öykü		Araştırma Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P değeri
Gebeliğin planlı olması	Evet	24 (% 68.6)	32 (%91.4)	0.036
	Hayır	11 (%31.4)	3 (%8.6)	
Tedavi ile gebelik	Evet	4 (%11.4)	1 (%2.9)	0.356
	Hayır	31 (%88.6)	34 (%97.1)	
Gebelikte ilaç kullanımı	Evet	9 (%25.7)	5 (%14.3)	0.370
	Hayır	26 (%74.3)	30 (%85.7)	
Gebelikte sigara kullanımı	Evet	2 (%5.7)	4 (%11.4)	0.673
	Hayır	33 (%94.3)	31 (%88.6)	

4.4. Katılımcıların Natal (Doğum) Özelliklerine İlişkin Bulgular

Otizm grubundaki çocukların 30'u (% 85.7), kontrol grubundaki çocukların 33'ü (%94.3) zamanında doğmuşlardır. Doğum zamanı açısından, otizm ve kontrol grubu arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($p=0.428$).

Doğum şekline bakıldığında, otizm grubundaki çocukların 10'unun (% 28.6) normal vajinal yolla, 25'inin (%71.4) sezeryanla, kontrol grubundaki çocukların 14'ünün (40) normal vajinal yolla, 21'inin (%60.0) sezeryanla doğum olduğu saptanmıştır. Doğum şekli açısından gruplar arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ($p=0.450$).

Doğum komplikasyonları açısından bakıldığında, otizm ve kontrol grubu arasında doğumda morarma, küvöz öyküsü ve sarılık açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p değerleri sırayla = 0.428, 0.151,0.412).

Otizm ve kontrol grubu doğum kiloları açısından karşılaştırıldığında, otizm grubunun doğum kilosu 3240 ± 563.054 gr., kontrol grubunun doğum kilosu ise $3552\pm548,386$ gr. olduğu gözlenmiştir. Otizm grubunun doğum kilosu kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşüktü ($p=0.021$). Katılımcıların natal öyküleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Katılımcıların natal öyküleri

Natal öykü		Araştırma Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P değeri	
Zamanında doğum	Evet	30 (%85.7)	33 (%94.3)	0.428	
	Hayır	5 (%14.3)	2 (%5.7)		
Doğum şekli	Normal	10 (%28.6)	14 (%40.0)	0.450	
	Sezeryan	25 (%71.4)	21 (%60.0)		
Doğumda morarma	Evet	5 (%14.3)	2 (%5.7)	0.428	
	Hayır	30 (%85.7)	33 (%94.3)		
Küvöz öyküsü	Evet	7 (%20.0)	2 (%5.7)	0.151	
	Hayır	28 (%80.0)	33 (%94.3)		
Sarılık	Evet	11 (%31.4)	7 (%20.0)	0.412	
	Hayır	24 (%68.6)	28 (%80.0)		
		N	Ortalama	Standart Sapma	p
Doğum kilosu	Araştırma Grubu	35	3240,00	563,054	0,021
	Kontrol Grubu	35	3552,86	548,386	

4.5. Katılımcıların Postnatal Özelliklerine İlişkin Bulgular

4.5.1. Katılımcıların Motor Gelişim Özelliklerine İlişkin Bulgular

Katılımcılar motor gelişimleri açısından incelendiğinde, otizm grubunun destekli oturmasının ortalama 7. ayda, desteksiz oturmasının ortalama 9. ayda, yürümesinin ortalama 14. ayda başladığı görülmüştür. Kontrol grubundaki çocukların ise destekli oturmasının ortalama 6. ayda, desteksiz oturmasının ortalama 8. ayda, yürümesinin ortalama 12. Ayda başladığı tespit edilmiştir. Otizm grubundaki çocukların kontrol grubundaki çocuklara oranla her 3 gelişim basamağı da anlamlı düzeyde geriye (p değerleri sırayla 0.004, 0.014, 0.003).

Otizm grubundaki çocukların 20'si (% 57.1), kontrol grubundaki çocukların 9'u (% 25.7) 24 aydan sonra konuşmaya başlamıştı. Otizm grubundaki çocukların kontrol grubundaki çocuklardan istatistiksel olarak anlamlı oranda daha geç konuştuğu tespit edilmiştir (p=0.015).

Tuvalet eğitimi açısından gruplar karşılaştırıldığında, otizm grubundaki çocukların 26'sı (% 74.3) , kontrol grubundaki çocukların 15'i (% 42.9) 3 yaşından sonra tuvalet eğitimi almıştı. Otizm grubundaki çocukların kontrol grubundaki çocuklardan istatistiksel olarak anlamlı oranda daha geç tuvalet eğitimi aldığı tespit edilmiştir (p=0.015). Çocukların motor gelişim öyküleri Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Çocukların motor gelişim öyküleri

Gelişim basamakları	Araştırma grubu			Kontrol Grubu grubu			P
	Median	Minimum	Maksimum	Median	Minimum	Maksimum	
Destekli oturma ayı	7	5	18	6	4	9	0,004
Desteksiz oturma ayı	9	6	24	8	6	12	0,014
Emekleye ayı	9	6	18	9	6	18	0,079
Yürüme ayı	14	9	30	12	10	24	0,003
			Araştırma grubu		Kontrol Grubu grubu		P değeri
			n (%)		n (%)		
Konuşmaya başlama	2 yaşından önce		15 (%42.9)	26 (%74.3)		0.015	
	2 yaşından sonra		20 (%57.1)	9 (%25.7)			
Tuvalet eğitimi	3 yaşından önce		9 (%25.7)	20 (%57.1)		0.015	
	3 yaşından sonra		26 (%74.3)	15 (%42.9)			

4.5.2. Katılımcıların Beslenme Özelliklerine İlişkin Bulgular

Otizm grubundaki çocukların 33'ü (% 94.3), kontrol grubundaki çocukların 34'ü (% 97.1) anne sütü almıştı. Her iki grup anne sütü alımı açısından benzerdi ($p=1.00$).

Otizm ve kontrol grubundaki çocukların biberon kullanımı, emzik kullanımı, ek gıdaya geçişteki zorluklar ve besin alerjisi açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar saptanmamıştır (p değerleri sırayla 0.145, 0.338, 0.784, 1.000).

Katılımcılar dietlerindeki çeşitlilik açısından karşılaştırıldığında, otizm grubundaki çocukların 8'inin (%22.9) 5'ten az, 10'unun (%28.6) 5-10 arası, 5'inin (%14.3) 11-20 arası, 2'sinin (%5.7) 21-30 arası, 10'unun (%28.6) 30'dan fazla çeşit besin aldığı saptanmıştır. Kontrol grubundaki çocukların ise 1'inin (%2.9) 5'ten az, 5'inin (%14.3) 5-10 arası, 10'unun (%28.6) 11-20 arası, 8'inin (%22.9) 21-30 arası, 11'inin (%31.4) 30'dan fazla çeşit besin aldığı saptanmıştır. Otizm grubundaki çocukların dietlerindeki besin çeşitliliği kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşüktü ($p=0.013$).

Otizm grubunda ve kontrol grubunda benzer şekilde ortalama 6 ay tek başına anne sütü alımı olduğu, ortalama 12.ayda inek sütüne başladığı saptanmıştır. Her iki grup arasında tek başına anne sütü alım süresi ve inek sütüne başlama ayı açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırayla= 0.377,0.209).

Otizm grubundaki çocuklar ortalama 12. ayda unlu gıdaya başlamış, kontrol grubundaki çocuklar ise ortalama 8. ayda unlu gıdaya başlamıştır. Otizm grubundaki çocuklar anlamlı düzeyde daha geç unlu gıdaya başlamıştır ($p=0.001$). Katılımcıların beslenme özellikleri ile ilgili sayısal veriler tablo 4.10’da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Katılımcıların Beslenme özellikleri

Postnatal beslenme öykü		Araştırma Grubu		Kontrol Grubu		P değeri	
		n (%)		n (%)			
Anne sütü	Evet	33 (%94.3)		34 (%97.1)		1.000	
	Hayır	2 (%5.7)		1 (%2.9)			
Biberon kullanımı	Evet	17 (%48.6)		24 (%68.6)		0.145	
	Hayır	18 (%51.4)		11 (%31.4)			
Emzik kullanımı	Evet	16 (%45.7)		21 (%60.0)		0.338	
	Hayır	19 (%54.3)		14 (%40.0)			
Ek gıdaya geçerken güçlük	Evet	8 (%22.9)		10 (%28.6)		0.784	
	Hayır	27 (%77.1)		25 (71.4)			
Besin alerjisi	Evet	1 (%2.9)		0 (%0)		1.000	
	Hayır	31 (%97.1)		35 (%100)			
Diet çeşidi	5'ten az	8 (%22.9)		1 (%2.9)		0.013	
	6-10arası	10 (%28.6)		5 (%14.3)			
	11-20arası	5 (%14.3)		10 (%28.6)			
	21-30arası	2 (%5.7)		8 (%22.9)			
	30dan fazla	10 (%28.6)		11 (%31.4)			
		Araştırma Grubu			Kontrol Grubu		P değeri
	Median	Minimum	Maksimum	Median	Minimum	Maksimum	
Sadece anne sütü alma süresi	6	1	24	6	1	17	0,377
İnek sütüne başlama ayı	12	1	36	12	6	24	0,209
Unlu gıda başlama ayı	12	6	30	8	6	18	0,001

4.6. Katılımcıların GIS şikayetlerine İlişkin Bulgular

Bebeklik dönemi ishal, kabızlık, kusma, karın ağrısı gibi GIS şikayetleri açısından otizm ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, otizm grubunun 17’sinin (%48.6) bebeklikte GIS şikayetleri olduğu, kontrol grubunun 14’ünün (%40.0) bebeklikte GIS şikayetleri olduğu gözlenmiştir. Bebeklikte GIS şikayetleri açısından iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.630$).

Şuanda ishal, kabızlık, kusma, karın ağrısı gibi GIS şikayetler açısından otizm ve kontrol grubundaki çocuklar karşılaştırıldığında, her iki grubun da 11’inin (%31.4)

şuanda GIS şikayetleri olduğu gözlenmiştir. Şuanda GIS şikayetleri açısından iki grubun benzer olduğu saptanmıştır ($p=1.000$). Katılımcıların GIS şikayetlerine ilişkin bulgular tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.11. Katılımcıların GIS şikayetlere ilişkin bulgular

GIS şikayetler		Araştırma Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	P değeri
Bebeklikte GIS şikayetleri	Evet	17 (%48.6)	14 (%40.0)	0.630
	Hayır	18 (%51.4)	21 (%60.0)	
Şuanda GIS şikayetleri	Evet	11 (%31.4)	11 (%31.4)	1.000
	Hayır	24 (%68.6)	24 (%68.6)	

4.7. Katılımcıların Biyokimyasal Değerlerine İlişkin Bulgular

Otizm ve kontrol grubu serum “Zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE” değerleri açısından incelenmiştir.

Serum zonulin düzeyleri, otizm grubunda ortalama 4.51, kontrol grubunda ortalama 7.62 olarak saptandı. Otizm grubunun serum zonulin median değeri kontrol grubunun medain değerinden istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşüktü ($p=0.014$).

Otizm ve kontrol grubu serum IL-6 değerleri açısından karşılaştırıldığında, otizm grubu median değeri 18,75, kontrol grubu median değeri 2,59 olarak tespit edildi. Otizm grubu serum IL-6 düzeyi kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0.011$).

Otizm grubu serum TGF- β median değeri 4,85, kontrol grubu median değeri 2,88 olarak saptandı. Otizm grubu serum TGF- β değerleri kontrol grubundan statiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ($p:0,001$).

Serum Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, TNF- α , S100B, NSE değerleri otizm ve kontrol grubu arasında herhangi bir istatistiksel fark göstermiyordu (p değerleri sırayla $p:0.569$, 0.837 , 0.168 , 0.716 , 0.299 , 0.865). Katılımcıların serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri açısından dağılımı Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Katılımcıların serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri

	Araştırma Grubu			Kontrol Grubu			p
	Median	Minimum	Maximum	Median	Minimum	Maximum	
Zonulin	4,51	2,24	34,91	7,62	2,47	32,33	0,014
Antigliadin IgA	221,20	58,30	1160,30	209,30	53,10	1807,00	0,569
Antigliadin IgG	11,50	4,10	84,40	13,80	3,60	67,20	0,837
AntiLPS IgG	357,33	81,23	2498,39	470,98	116,18	1694,10	0,168
IL6	18,75	7,96	90,10	12,59	5,86	75,15	0,011
TNF- α	38,42	13,39	351,37	43,48	10,19	447,23	0,716
TGF- β	4,85	,94	18,03	2,88	,51	32,63	0,001
NSE	4,27	1,35	39,71	5,28	1,58	48,47	0,299
S100B	262,28	73,50	936,38	260,45	54,03	706,38	0,865

4.7.1. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri ile ÇODÖ puanları arasındaki ilişkiye ait veriler

Otizm grubu ÇODÖ ölçek total puanı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırayla p=0.470, 0.699, 0.965, 0.774, 0.789, 0.648, 0.940, 0.738, 0.734).

ÇODÖ altölçekleri incelendiğinde ise, ÇODÖ-10 alt ölçeği ile serum NSE düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif korelasyon gözlemlendi (P=0,017).

ÇODÖ 14 alt ölçeği ile serum Anti-LPS, IL-6, TGF- β , S100B değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif bir korelasyon gözlemlendi (p değerleri sırayla p=0.023, 0.043, 0.012, 0.049).

Otizm grubunun ÇODÖ ölçek puanları ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki Tablo 4.13’de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Otizm grubunun ÇODÖ ölçek puanları ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki

Spearman korelasyon katsayısı		Zonulin	Antigliadin IgA	Antigliadin IgG	AntiLPS IgG	IL6	TNF- α	TGF- β	NSE	S100B
ÇODÖ1	rs	-,249	,042	,046	-,142	-,121	-,144	-,085	-,202	-,226
	p	,149	,809	,794	,415	,487	,410	,628	,244	,192
ÇODÖ2	rs	-,080	-,022	,209	,034	-,064	,045	,023	,047	,037
	p	,648	,901	,227	,844	,717	,799	,895	,787	,834
ÇODÖ3	rs	-,328	-,069	-,048	-,213	-,276	-,275	-,128	-,221	-,245
	p	,055	,694	,782	,219	,109	,110	,462	,202	,157
ÇODÖ4	rs	,060	,040	,020	-,017	,099	,018	-,023	-,138	-,059
	p	,731	,818	,907	,921	,573	,917	,895	,430	,736
ÇODÖ5	rs	,008	-,012	,042	,167	,131	,023	,164	,037	,030
	p	,962	,948	,812	,338	,454	,895	,346	,835	,865
ÇODÖ6	rs	-,281	-,021	,052	-,193	-,217	-,246	-,150	-,264	-,261
	p	,101	,902	,769	,268	,211	,153	,391	,125	,131
ÇODÖ7	rs	-,029	,087	,102	-,026	-,017	-,090	-,095	-,039	-,088
	p	,867	,617	,561	,884	,922	,609	,589	,823	,615
ÇODÖ8	rs	-,046	,014	-,092	,091	,200	,055	,146	-,102	,017
	p	,795	,934	,599	,603	,250	,756	,402	,559	,921
ÇODÖ9	rs	-,114	-,290	,039	-,039	-,104	-,143	-,121	-,148	-,169
	p	,514	,091	,823	,822	,554	,412	,490	,397	,333
ÇODÖ10	rs	-,260	,005	-,223	-,273	,000	-,238	-,197	-,402*	-,266
	p	,131	,976	,197	,113	,998	,169	,257	,017	,122
ÇODÖ11	rs	,110	-,130	,050	,277	,042	,147	,264	,242	,158
	p	,529	,456	,777	,108	,809	,399	,126	,160	,365
ÇODÖ12	rs	-,197	-,028	,064	,079	-,084	-,109	,066	-,024	-,069
	p	,258	,873	,716	,654	,630	,534	,707	,891	,696
ÇODÖ13	rs	-,132	,230	-,014	-,136	,092	-,041	-,064	-,172	-,068
	p	,449	,185	,936	,435	,598	,813	,715	,324	,697
ÇODÖ14	rs	,289	-,084	,106	,384*	,344*	,333	,418*	,316	,335*
	p	,092	,631	,545	,023	,043	,051	,012	,064	,049
ÇODÖ15	rs	,089	-,060	,070	,218	,102	,165	,232	,255	,192
	p	,611	,732	,690	,208	,561	,344	,181	,139	,268
ÇODÖ Total	rs	-,126	-,068	,008	,050	-,047	-,080	,013	-,059	-,060
	p	,470	,699	,965	,774	,789	,648	,940	,738	,734

4.7.2. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle GIS Şikayetleri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Katılımcılar GIS şikayetleri olan ve olmayan otizm ve kontroller olarak 4 ayrı gruba bölünerek karşılaştırıldığında TGF- β değerlerinde anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0.011$).

GIS şikayetleri olan ve GIS şikayetleri olmayan hastalar arasında serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , S100B, NSE arasında anlamlı ilişki gözlenmedi.

Katılımcıların GIS şikayetleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Katılımcıların GIS şikayetleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler

	Şuan_gis_gr												p
	Hasta gis+			Hasta gis-			Kontrol Grubu gis+			Kontrol Grubu gis-			
	Median	Minimum	Maximum	Median	Minimum	Maximum	Median	Minimum	Maximum	Median	Minimum	Maximum	
Zonulin	4,51	3,09	27,75	4,47	2,24	34,91	10,27	3,60	22,98	6,89	2,47	32,33	0,074
Antigliadin IgA	203,90	110,00	514,50	226,50	58,30	1160,30	207,40	68,90	703,60	217,25	53,10	1807,00	0,929
Antigliadin IgG	10,70	4,10	84,40	11,55	5,80	64,90	13,90	3,60	31,00	13,05	4,00	67,20	0,996
AntiLPS IgG	273,37	81,23	1242,07	378,23	94,70	2498,39	603,36	239,20	1455,88	439,24	116,18	1694,10	0,482
IL6	23,43	10,44	62,05	17,56	7,96	90,10	19,33	7,65	62,00	11,51	5,86	75,15	0,053
TNF- α	36,40	14,08	351,37	40,78	13,39	229,40	64,17	16,03	160,47	37,86	10,19	447,23	0,732
TGF- β	4,88	,94	12,88	4,60	2,01	18,03	2,10	1,10	6,00	3,06	,51	32,63	0,011
NSE	4,21	2,48	39,71	4,44	1,35	16,25	6,33	1,95	19,42	4,97	1,58	48,47	0,605
S100B	262,28	73,50	614,09	254,04	92,16	936,38	296,29	127,65	706,38	219,35	54,03	605,40	0,853

4.7.3. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle BMI'leri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Katılımcıların BMI'leri ile serum zonulin, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir negatif korelasyon vardı (p değerleri sırayla 0.003, 0.008, 0.002,0.028, 0.013, 0.006).

Katılımcıların BMI ölçümleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki Tablo 4.15'da verilmiştir.

Tablo 4.15. Katılımcıların BMI ölçümleri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler

		BMI
Zonulin	rs	-,351**
	p	,003
Antigliadin IgA	rs	-,031
	p	,798
Antigliadin IgG	rs	,060
	p	,623
AntiLPS IgG	rs	-,313**
	p	,008
IL6	rs	-,152
	p	,208
TNF- α	rs	-,361**
	p	,002
TGF- β	rs	-,262*
	p	,028
NSE	rs	-,297*
	p	,013
S100B	rs	-,323**
	p	,006

4.7.4. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Ailelerin Aylık Geliri Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Otizm ve kontrol grubundaki ailelerin aylık geliri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki karşılaştırıldığında her iki grup için anlamlı farklılık saptanmadı. Katılımcıların ailelerinin aylık geliri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait sayısal veriler Tablo 4.16’da sunulmuştur.

Tablo 4.16. Katılımcıların ailelerinin aylık geliri ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler

	Ailenin geliri								
	1000 - 3000 TL arası				3000 TL üstü				p
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	
Zonulin	35	6,99	2,24	34,91	32	6,02	2,47	32,33	0,490
Antigliadin IgA	35	248,70	58,30	595,40	32	194,35	53,10	1807,00	0,142
Antigliadin IgG	35	12,90	3,60	84,40	32	11,40	4,00	64,70	0,167
AntiLPS IgG	35	406,15	94,70	2498,39	32	474,20	81,23	1694,10	0,811
IL6	35	17,22	7,65	90,10	32	16,14	5,86	75,15	0,183
TNF- α	35	40,12	13,39	351,37	32	41,56	10,19	447,23	0,716
TGF- β	35	3,44	,51	18,03	32	3,92	,78	32,63	0,900
NSE	35	5,06	1,35	39,71	32	4,95	1,58	48,47	0,940
S100B	35	262,28	92,16	757,21	32	241,73	54,03	936,38	0,910

4.7.5. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Besin Seçiciliği Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Katılımcılardan bebekliğinde besin seçiciliği olanların serum IL-6 median değeri 21.38, bebekliğinde besin seçiciliği olmayanların serum IL-6 medain değeri 14.86 olarak tespit edildi. Bebekliğinde besin seçiciliği olanların serum IL-6 değeri bebekliğinde besin seçiciliği olmayan gruptan anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0.017$).

Katılımcıların bebekliğinde besin seçiciliği ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Katılımcıların bebekliğinde besin seçiciliği ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki Tablo 4.17’de sunulmuştur.

Tablo 4.17. Katılımcıların bebekliğinde besin seçiciliği ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki

	Bebeklikte besin seçiciliği								p
	Evet				Hayır				
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	
Zonulin	35	7,36	2,24	34,91	35	5,32	2,47	23,12	0,094
Antigliadin IgA	35	225,20	74,00	1807,00	35	211,70	53,10	729,80	0,677
Antigliadin IgG	35	11,20	4,10	64,70	35	13,00	3,60	84,40	0,418
AntiLPS IgG	35	470,98	81,23	2498,39	35	406,15	101,93	1694,10	0,720
IL6	35	21,38	8,49	90,10	35	14,86	5,86	66,63	0,017
TNF- α	35	43,48	13,39	447,23	35	39,46	10,19	160,47	0,231
TGF- β	35	4,39	,51	32,63	35	3,44	,78	16,38	0,315
NSE	35	5,10	1,35	48,47	35	4,27	1,58	19,42	0,401
S100B	35	282,89	73,50	936,38	35	221,64	54,03	706,38	0,106

4.7.6. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle İlaç Kullanımı Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Otizm grubunda ilaç kullanımı olan hastaların Antigliadin IgA median değeri 349.30, ilaç kullanmayanların median değeri 177.70 olarak saptandı. Otizm grubunda ilaç kullanımı olan hastaların Antigliadin IgA değerleri ilaç kullanmayan hastalardan anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0.001$).

Otizm grubunda düzenli ilaç kullanımı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırayla 0.335, 0.601, 0.203, 0.775, 0.353, 0.371, 0.106, 0.335).

Otizm grubunda düzenli ilaç kullanımı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki Tablo 4.18’de gösterilmiştir.

Tablo 4.18. Otizm grubunda düzenli ilaç kullanımı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki

	Araştırma grubunda sürekli kullandığı ilaç								
	Var				Yok				
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	p
Zonulin	13	3,99	2,24	16,17	22	4,61	2,99	34,91	0,335
Antigliadin IgA	13	349,30	203,90	835,00	22	177,70	58,30	1160,30	0,001
Antigliadin IgG	13	11,60	7,80	84,40	22	10,65	4,10	64,90	0,601
AntiLPS IgG	13	273,37	94,70	1357,86	22	573,49	81,23	2498,39	0,203
IL6	13	17,75	7,96	66,95	22	19,41	10,44	90,10	0,775
TNF- α	13	31,78	13,39	211,03	22	52,85	16,17	351,37	0,353
TGF- β	13	3,55	2,01	16,65	22	5,42	,94	18,03	0,371
NSE	13	3,49	1,35	15,49	22	5,31	2,48	39,71	0,106
S100B	13	206,99	92,16	936,38	22	295,83	73,50	757,21	0,335

4.7.7. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Cinsiyet Arasındaki İlişkiye

Ait Veriler

Grublar arasında cinsiyet ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, IL-6 düzeyinin erkek cinsiyette ortalama 18.54, kız cinsiyette ortalama 12.17 olduğu gözlenmiştir. IL-6 düzeyleri erkeklerde kızlara oranla daha yüksekti ($p=0.005$).

Serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE ile cinsiyet arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırayla 0.265, 0.957, 0.835, 0.851, 0.320, 0.545, 0.882, 0.452).

Katılımcılarda cinsiyeti ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler tablo 4.19’da gösterilmiştir.

Tablo 4.19. Katılımcılarda cinsiyeti ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler

	Cinsiyet								p
	Erkek				Kız				
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	
Zonulin	52	7,17	2,24	34,91	18	5,29	3,00	23,12	0,265
Antigliadin IgA	52	216,80	54,20	1160,30	18	217,80	53,10	1807,00	0,957
Antigliadin IgG	52	11,55	3,60	67,20	18	12,40	5,30	84,40	0,835
AntiLPS IgG	52	502,61	81,23	2498,39	18	409,86	148,21	1694,10	0,851
IL6	52	18,54	8,49	90,10	18	12,17	5,86	62,00	0,005
TNF- α	52	46,20	10,19	447,23	18	33,28	14,08	133,79	0,320
TGF- β	52	3,57	,51	32,63	18	3,50	,78	11,15	0,545
NSE	52	5,09	1,35	48,47	18	4,72	2,69	18,99	0,882
S100B	52	276,37	54,03	936,38	18	209,85	100,74	605,40	0,452

4.7.8. Katılımcıların Biyokimyasal Değerleri İle Yaş Arasındaki İlişkiye Ait Veriler

Katılımcıların yaşı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, Antigliadin IgA düzeylerinin yaşla pozitif korele olduğu gözlenmiştir (p=0.049).

Serum zonulin, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerlerinin yaş ile anlamlı korelasyonu saptanmamıştır (p değerleri sırayla 0.818, 0.099, 0.740, 0.910, 0.549, 0.094, 0.653, 0.846). Katılımcıların yaşı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişki tablo 4.20’de verilmiştir.

Tablo 4.20. Katılımcıların yaşı ile serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki ilişkiye ait veriler

		Yaş
Zonulin	rs	,028
	p	,818
Antigliadin IgA	rs	,236*
	p	,049
Antigliadin IgG	rs	,199
	p	,099
AntiLPS IgG	rs	-,040
	p	,740
IL6	rs	-,014
	p	,910
TNF- α	rs	-,073
	p	,549
TGF- β	rs	-,202
	p	,094
NSE	rs	-,055
	p	,653
S100B	rs	-,024
	p	,846

4.7.9. Katılımcıların Biyokimyasal Değerlerinin Korelasyon Analizine Ait Veriler

Serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki korelasyon ilişkisi incelendiğinde, zonulin ile IL-6, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p değerleri < 0.001).

Serum IL-6 düzeyleri ile serum zonulin, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum Antigliadin IgA ile Antigliadin IgG düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum AntiLPS IgG düzeyi ile serum zonulin, IL-6, TNF- α , TGF- β , NSE, S100B değerleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum TNF- α değeri ile serum zonulin, IL-6, AntiLPS IgG, TGF- β , NSE, S100B arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum TGF- β düzeyleri ile serum zonulin, IL-6, AntiLPS IgG, TNF- α , NSE, S100B değerleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum S100B düzeyleri ile serum zonulin, IL-6 AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , NSE değerleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum NSE düzeyleri ile serum zonulin, IL-6, AntiLPS IgG, TNF- α , TGF- β , S100B değerleri arasında pozitif korelasyon vardı (p değerleri < 0.001).

Serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki korelasyon ilişkisi tablo 4.21’de gösterilmiştir.

Tablo 4.21. Katılımcıların serum zonulin, Antigliadin IgA, Antigliadin IgG, AntiLPS IgG, IL-6, TNF- α , TGF- β , S100B, NSE değerleri arasındaki korelasyon ilişkisi

		Zonulin	Antigliadin IgA	Antigliadin IgG	AntiLPS IgG	IL6	TNF- α	TGF- β	NSE	S100B
Zonulin	r _s	1,000	-,137	-,072	,796**	,491**	,808**	,412**	,837**	,798**
	p	.	,259	,555	,000	,000	,000	,000	,000	,000
Antigliadin IgA	r _s	-,137	1,000	,446**	-,114	-,002	-,021	,061	-,100	,010
	p	,259	.	,000	,348	,990	,861	,616	,408	,937
Antigliadin IgG	r _s	-,072	,446**	1,000	,079	-,060	,027	-,055	,046	,052
	p	,555	,000	.	,514	,624	,823	,649	,708	,670
AntiLPS IgG	r _s	,796**	-,114	,079	1,000	,442**	,826**	,543**	,836**	,809**
	p	,000	,348	,514	.	,000	,000	,000	,000	,000
IL6	r _s	,491**	-,002	-,060	,442**	1,000	,637**	,594**	,424**	,548**
	p	,000	,990	,624	,000	.	,000	,000	,000	,000
TNF- α	r _s	,808**	-,021	,027	,826**	,637**	1,000	,693**	,892**	,911**
	p	,000	,861	,823	,000	,000	.	,000	,000	,000
TGF- β	r _s	,412**	,061	-,055	,543**	,594**	,693**	1,000	,530**	,639**
	p	,000	,616	,649	,000	,000	,000	.	,000	,000
NSE	r _s	,837**	-,100	,046	,836**	,424**	,892**	,530**	1,000	,907**
	p	,000	,408	,708	,000	,000	,000	,000	.	,000
S100B	r _s	,798**	,010	,052	,809**	,548**	,911**	,639**	,907**	1,000
	p	,000	,937	,670	,000	,000	,000	,000	,000	.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 3-12 yaş aralığındaki OSB tanısı alan bir grup hastanın serum zonulin düzeyleri, olası ilişkili inflamatuvar süreçleri ve nöronal değişiklikleri yine aynı yaş aralığındaki sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Serum zonulin düzeyleri otizm grubunda sağlıklı kontrollerden anlamlı düzeyde daha düşük, IL-6 ve TGF- β düzeyleri ise otizm grubunda anlamlı dercede yüksek saptanmıştır. Serum Antigliadin Ig-A, Antigliadin Ig-G Anti-LPS Ig-G, TNF- α değerlerine bakıldığında OSB ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmemiştir. Yine nöronal hasarın göstergesi olduğu düşünülen serum NSE ve S100B düzeyleri de hasta ve kontrol grubu arasında benzer bulunmuştur.

Amaç otizmde etyolojik bir faktör olarak ileri sürülmüş olan bağırsak duvar geçirgenliği ile inflamatuvar süreçler ve beyin değişiklikleri arasındaki olası ilişkileri değerlendirmektir.

Demografik verilerin her iki grupta benzer olması, inflamatuvar değişkenler üzerindeki etkisini ortadan kaldırmıştır. Otizm olgularında temel belirtilerin genellikle 2-3 yaş civarında gözlenmesi ve bağırsaklarda beslenme ve floraya ait değişimlerin 3 yaşından itibaren başlaması nedeniyle katılımcılar 3-12 yaş aralığında seçilmiştir.

Çalışmamızdaki olgu ve kontrol grubunun yaşları istatistiksel olarak benzerdi. Katılımcılar cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, hasta grubunun %80'i erkek, %20'si kızlardan oluşmaktaydı. Diğer bir ifadeyle otizm grubunun erkek/kız oranı 4/1 idi ve bu oran OSB'nin erkeklerde 3-4 kat daha fazla görüldüğü şeklindeki literatür bilgisiyle uyumluydu [54]. Kontrol grubundaki çocuklar da cinsiyet açısından istatistiksel olarak otizm grubuyla benzer oranlara sahipti.

Etyolojik faktörler değerlendirildiğinde, gebelikte ilaç kullanımı ve madde kötüye kullanımı otizm etyopatogenezinde önemli olduğu düşünülen prenatal faktörlerdir [5, 84]. Ancak bu çalışmada literatürde otizmle sıkça ilişkilendirilen gebelikte valproik asit ve talidomit gibi önemli ilaç kullanımı yoktu, ilaç kullanımı olan annelerin de kullandığı ilaçlar araştırma ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermiyordu. Gebelikte sigara kullanımı araştırma grubunda 2 annede, kontrol grubunda ise 4 annede saptanmıştır ve gruplar arasında anlamlı farklılık

gözlenmemiştir. Gebelikte madde kullanımı olan anne ise her iki grupta da mevcut değildi.

Otizm etyopatogeneğinde sorumlu olduğu düşünülen önemli natal faktörler prematürelilik, sezaryen doğum, doğumda hipoksi, küvöz öyküsü, hiperbiliubinemi [86, 175]. Bizim çalışmamızda doğum zamanı, doğum şekli (sezaryan-vajinal doğum), doğumda morarma, küvöz öyküsü ve sarılık gibi faktörler açısından otizm ve kontrol grubunda anlamlı farklılık saptanmadı. Bunun olası bir sebebi bizim otizm grubundaki hastaları seçerken doğum travmasının sebep olabileceği serebral palsi, epilepsi gibi nörolojik hastalıkları dışlama kriteri olarak kullanmış olmamız olabilir. Aynı zamanda literatürle uyumlu olarak OSB grubunda doğum kilosu kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşüktü. [86, 175].

Anne sütü alımı ve süresi, mama alımı, inek sütüne başlama ayı ve besin alerjisi, diyet uygulanması, son 3 ayda antibiyotik/pre-probiyotik kullanımı açısından OSB ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olmaması çalışmamızda ölçülen yiyecek antijenlerine karşı oluşan antikor düzeyleri ve bağırsak geçirgenliğini gösteren zonulin düzeylerini etkileyebilecek önemli karıştırıcı faktörleri dışlamamızı sağlamıştır.

Otizm etyolojisinde tartışılan önemli konulardan birisi olan ileri ebeveyn yaşının (40yaş üstü anne ve 40 yaş üstü baba) otizm için önemli bir risk faktörü olduğu fakat bunun tek başına bir sebep olmadığı, biyolojik sürecin bir tetikleyicisi olduğu düşünülmektedir [89]. Ancak biz çalışmamızda anne ve baba olma yaşları açısından gruplar arasında anlamlı fark saptamadık.

Geçmiş yıllarda otizminin yüksek SED olan ailelerin çocuklarında daha sık görüldüğü savunulmuş olsa da, sonraki yıllarda yapılan çalışmalar bu görüşü desteklememiştir. Esas olarak Amerikan çalışmalarında yüksek SED, OSB ile ilişkilendirilmiştir [90]. Bununla birlikte İsveç ve Kanada gibi evrensel sağlık programları olan ülkelere, düşük aile veya anne geliri OSB ile ilişkili bulunmuştur [93, 94]. Önceki çalışmalarda SED'i yüksek ailelerdeki artmış OSB oranlarının, bu ailelerin hastalığı erken dönemde ve daha fazla fark etmelerinden kaynaklanabileceği düşünülebilir. Bizim çalışma grubumuzdaki ailelerinin gelir düzeyleri hasta ve kontrol grubunda benzerdi. Bu durum artan sağlık hizmeti sunumu ve düşük SED olan ailelerin de tanılma süreçlerine ulaşılabilirliği ile açıklanabilir.

Ebeveynlerin birlikte ya da boşanmış olmaları, anne ve baba arasındaki akrabalık, ailede psikiyatrik hastalık öyküsü gibi bulgular her iki grupta da benzer orandaydı. Ayrıca otizm ve kontrol grubundaki çocuklar kardeş sayısı açısından da benzerdi.

Her iki gruptaki katılımcıların tamamının aileleriyle yaşadığı gözlemlendi. Dolayısı ile beslenme ve bağırsak florası değişimine bağlı bağırsak geçirgenliğinde bozulmaya neden olabilecek bakımevi gibi kalabalık ortamda yaşamaya ait karıştırıcı faktörleri taşımıyordu. Aile tipi açısından çekirdek aile ya da geniş ailede yaşama, il-ilçe-köyde yaşama konularında da gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Bu durum beslenme ve bununla ilişkili olarak mikrobiyal florayı etkileyebilecek bazı çevresel faktörlerin her iki grupta da mümkün olduğu kadar benzer olmasını sağladı.

Otizm grubundaki çocukların beklendiği gibi kontrol grubundan anlamlı derecede daha az okula devam edebildiği, % 82.9'unun özel eğitim desteği aldığı saptanmıştır. Kontrol grubundaki çocukların ise hiçbirisi özel eğitim desteği almıyordu.

OSB'li çocuklarda obezite riskinin arttığı ve obezitede zonulin değerlerinin yükseldiği bilinmektedir [176, 177]. Bu bilgilerden yola çıkarak zonulin düzeylerini etkileyebileceği ve karıştırıcı faktör olabileceği için BMI>30 olan çocuklar bu çalışmaya dâhil edilmemiştir. Ayrıca otizm ve kontrol grubu boy, kilo ve BMI açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı. Bu durum hem obeziteyi ekarte etmemizi, hem de kilo farklılıklarından kaynaklanabilecek farklılıkları dışlamamızı sağlamıştır.

Gelişim basamaklarının otizm hastalarında geri olduğu, bu durumun da eşlik eden zihinsel yetersizlikle ilişkili olabileceği, özellikle de dil alanındaki gecikmeler nedeniyle tanı alabildikleri bilinmektedir [45]. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak destekli ve desteksiz oturma ayı, yürüme yaşı, konuşma yaşı, tuvalet eğitimi yaşı açısından otizm grubunun kontrol grubundan geri olduğu saptanmıştır.

OSB'li çocukların daha fazla yeme bozukluklarına sahip oldukları, seçici beslendikleri, sınırlı sayıda besin tercih ettikleri bildirilmiştir [178]. Bu durum ailelerin davranışsal tutumlarıyla ve hastalığın doğası olan duyuşal hipersensitivite ile açıklanabilir. Bizim sonuçlarımız da literatürle uyumlu olarak, OSB grubundaki çocukların diyetlerindeki besin çeşitliliğinin kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca OSB hastalarında duyuşal hassasiyet, çiğneme ile ilgili

sorunlar, katı yiyecekleri reddetme sorunları yeme problemleri ile ilgili diğer güçlükler arasındadır. Bizim çalışmamızda da otizm grubundaki çocukların kontrol grubuna göre unlu gıdalara daha geç başladıkları görülmüştür.

Bu çalışmada temel ve öncelikli amacımız bağırsak duvar geçirgenliği, inflamatuvar süreçler ve beyin değişiklikleri arasındaki olası ilişkileri araştırmak için serumdaki bazı biyokimyasal parametreleri değerlendirmektir. Bu amaçla daha önce bağırsak geçirgenliğinin bir göstergesi olarak sunulan serum zonulin düzeylerini, otizmlili bir grup hasta ve benzer özellikler taşıyan sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırdık. Bu çalışmada bugüne kadar yapılan çalışmaların aksine serum zonulin düzeylerini otizm hasta grubunda sağlıklı kontrollerden istatistiksel oranda anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. İnflamatuvar süreçleri değerlendirmek amacıyla baktığımız parametrelerden serum IL-6 ve TGF- β düzeyleri ise otizm grubunda anlamlı derecede yüksekti. Ancak serum Antigliadin Ig-A, Antigliadin Ig-G Anti-LPS Ig-G, TNF- α değerlerine bakıldığında OSB ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi. Nöronal hasarın göstergesi olduğu düşünülen serum NSE ve S100B düzeyleri de hasta ve kontrol grubu arasında benzerdi.

Nörogelişimsel bozukluklarda bağırsak geçirgenliğinde artış olduğuna dair hipotez 1960'lı yıllardaki çalışmalar sonucu ortaya atılmıştır. İlk olarak 1961 yılında şizofreni ve çölyak hastalığı ilişkisi üzerine araştırmalar yayınlanmıştır [179]. Daha sonra otizm, bipolar bozukluk ve depresyon gibi birçok psikiyatrik hastalıkta bağırsak geçirgenliğindeki bozulmalara dair çalışmalar yapılmıştır [109, 110, 180]. Otizm hastalarında da kabızlık, şişkinlik, karın ağrısı, ishal gibi GIS belirtilerinin sık görülmesi araştırmacıları bağırsak ve otizm arasında bir ilişki olabileceği fikrine yönlendirmiş ve bu konudaki araştırmalar son yıllarda artmaya başlamıştır [6]. Sık görülen bu GIS belirtilerinin OSB'de komorbid bir durum olmanın ötesinde, hastalıkla nedensel bir ilişkisinin de olabileceği ileri sürülmüştür [100]. Otizm ve GIS şikayetlerinin sık birlikteliği farklı şekillerde açıklanmaktadır. Birincisi bu GIS şikayetleri otizm hastalarındaki seçici gıda alımına bağlı beslenme yetersizliği, ilaç kullanımı ve diğer davranışsal sebeplerle ilişkili olabilir [181]. İkincisi ise otizmde, reflü özefajit, kronik gastrit, duodenit, ileal ve kolonik lenfoid nodüler hiperplazi ve kolitin bu hastalığa ait, hastalığın doğasından kaynaklanan özel histopatolojik değişiklikler olduğu yönündedir [182]. Fakat bu son görüşü ortaya atan çalışmada sadece GIS semptomu olan hastaların seçilmiş olması, uygun kontrol grubu seçiminin yapılamamış olması nedeniyle bu

bulgular genelleştirilememiştir. Torrente ve ark.'nın 2002'de yaptığı çalışmada ise otizm ve kontrol grubunun bağırsak histopatolojisinin benzer olduğunu göstermişlerdir ve bu GIS belirtilerinin otizmin kendi doğasından kaynaklandığı görüşünden uzaklaşmıştır [183].

Gut-beyin aksı hipotezi açısından bakıldığında ise hastalarda sık görülen GIS değişikliklerinin OSB'de etyopatogenetik bir rolünün de olabileceğini düşündürmüştür. Bu hipotez bağırsakta meydana gelen yapısal ya da fonksiyonel değişimlerin beyin ve davranışları etkileyeceğini ileri sürmektedir. Bu etkileşimin temel olarak bağırsak duvar geçirgenliğinin bozulmasıyla sistemik dolaşıma geçen bağırsak lümenindeki mikrobiyal ürünler ya da yiyecek antijenlerinin uyardığı immün sistem değişiklikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [19, 123]. Goodwin ve ark. otizm tanılı olgularda beyin-bağırsak ilişkisini yıllar önce vurgulamışlardır [180]. Literatür incelendiğinde bu konuda yapılan çalışmalarda bağırsak duvar geçirgenliği ölçmek için genellikle laktuloz-mannitol testi, fetal kalprotektin ve zonulin gibi markerlar kullanıldığı görülmektedir [10, 184, 185]. Esnafoğlu ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada 32 OSB'li olgu ve 33 sağlıklı kontrolün serum zonulin düzeyleri karşılaştırılmış, OSB'li grubun serum zonulin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır [10]. Ancak Esnafoğlu ve ark.'nın elde ettiği bu veriler evrensel olmayıp başka bir çalışmada ise otizm ve kontrol grubu arasında zonulin düzeyleri ölçülmüş, gruplar anlamlı farklılık saptanmamıştır [25]. Bizim 35 hasta 35 kontrolden oluşan bu çalışmada ise zonulin düzeyleri şu ana kadar elde edilen çalışmalardaki verilerin aksine otizm hastalarında kontrollerden daha düşük bulundu. Literatür incelendiğinde zonulin düzeyi ile cinsiyet ve yaş arasında ilişki olmadığı saptanmıştır [186, 187]. Bizim çalışmamızda da bu verilerle uyumlu olarak yaş ve cinsiyet ile zonulin düzeyleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Dolayısı ile biz otizm hastalarında yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak serum zonulin düzeylerinin düştüğünü ileri sürmekteyiz. Bildiğimiz kadarıyla bu sonuç şu ana kadarki literatürde yer almayan yeni bir bulgudur. Bizim hasta grubundaki zonulin düşüklüğü birkaç şekilde açıklanabilir.

Öncelikle serum zonulin düzeylerindeki bu çelişkili veriler, otizm hastalığının doğasından çok hastalarda sıklıkla birlikte görülen GIS bozuklukları gibi karıştırıcı faktörlerden kaynaklanıyor olabilir. Esnafoğlu ve ark. genel olarak otizm hasta grubunda serum zonulin düzeylerini yüksek olarak bulmakla birlikte bazı kontrol vakalarında da yüksek zonulin seviyeleri bulmuş ve OSB patogenezinin zonulinin tek

başına etkisi olamayacağı diğer faktörlerin de değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Yine Esnafoğlu ve ark. yaptığı bu çalışmada otizm hasta grubunda, ÇODÖ skoru ile yüksek zonulin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamazken, tüm deneklerdeki GIS şikayetleri ile zonulin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bu durum yüksek zonulin düzeylerinin otizmle doğrudan bir etyolojik ilişkiden çok, bu hastalardaki beslenme davranışlarındaki bozuklukların bir sonucu olan GIS şikayetleriyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Rose ve ark. yaptığı çalışmada otizm grubu ile kontroller karşılaştırıldığında, OSB'li çocuklarda serum zonulin düzeylerini yansıttığı düşünülen prehaptoglobulin-2 seviyeleri önceki çalışmanın aksine hiçbir değişiklik göstermemiştir [25]. Bu çalışmada zonulin öncüsü olan prehaptoglobulin 2 düzeyleri değerlendirilmiş ve sadece GIS belirtileri yüksek olan hastalarda prehaptoglobulin 2 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu da zonulin düzeylerinin hastalıktan çok bu hastalardaki GIS şikayetlerinin sıklığı ile ilişkili olarak değişiklik gösterebildiği düşüncesiyle uyumludur. Nitekim bizim çalışmamızda da sayısı az olmakla birlikte GIS semptomu olan ve olmayan vakaları ayırarak yaptığımız karşılaştırmada, GIS semptomu olan katılımcılarda serum zonulin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek olduğunu bulmamız da bu teoriyi desteklemektedir.

Son çalışmalar, OSB'li bireylerde kronik GIS yakınmalarının %7-24 gibi bir aralıkta olduğunu bildirilmiştir [48]. Esnafoğlu ve ark.'nın zonulin düzeylerini yüksek bulduğu çalışmada ise, otizmlili grupta 32 kişiden 21'i (% 65.2) gibi yüksek bir oranda GIS şikayetleri varken kontrol grubunda sadece 2 kişide GIS şikayetleri vardı. Dolayısı ile GIS şikayetleriyle zonulin yüksekliği arasında bir ilişki olduğu düşüncesinden hareketle Esnafoğlu ve ark. otizm hastalarında bulduğu yüksek zonulin düzeylerinin, OSB'nin kendi doğasından çok hastalardaki bu yüksek GIS bozukluğundan kaynaklandığı düşünülebilir. Bizim çalışmamızda ise otizm grubunda GIS semptomları literatürle uyumlu şekilde % 31.4 idi ve kontrol grubuyla benzer oranlardaydı. Böylece bizim çalışmamızda önemli bir karıştırıcı faktör olan GIS bozukluklarındaki yüksek oranlar ekarte edilmiş olması otizm grubumuzdaki düşük zonulin düzeylerinin GIS somptomları ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir. Dolayısı ile biz komorbid GIS bozukluğu oranı yüksek olmayan otizm hastalarında serum zonulin düzeylerinin düşük olduğunu gösterdik. Bu konuda yapılacak ilerideki çalışmalarda GIS şikayetleri gibi

komorbid karıştırıcı faktörlerin dikkate alınması gerektiğini önermekteyiz ve bu açıdan bakıldığında çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Daha önce OSB tanılı hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek serum zonulin düzeyinin artmış bağırsak geçirgenliği için bir biyobelirteç olduğu ve OSB etiyolojisinde geçirgen bağırsak sendromunun yer alabileceğini bildirilmiştir [10]. Otizm hastalarında serum zonulin düzeylerinin kontrollere göre değişmediğini bulan çalışmalar ve bizim düşük bulduğumuz bu çalışmamız düşünüldüğünde bu hipotezin ilerde yapılacak çalışmalarla daha ayrıntılı incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Stevens ve ark. 2018 yılında yaptığı çalışmada anksiyete/depresyon hastalarında intestinal geçirgenlik biyobelirteçleri olan zonulin ve yağ asidi bağlayıcı protein-2'nin (FABP2) ve gram negatif bakteri ürünü olan LPS plazma düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir [188]. Anksiyete ve depresyon bozukluklarının ortaya çıkışında bağırsak geçirgenliğinde artışın ve disbiyozisin rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ohlsson ve ark. yapmış olduğu araştırmada yakın zamanda intihar girişimi olan majör depresif bozukluk (MDB) hastalarında, intihar girişimi öyküsü olmayan MDB hastalarında ve sağlıklı kontrollerde bağırsak geçirgenliği belirteçleri olan zonulin ve FABP2'nin plazma düzeylerini incelemişlerdir [189]. Bu çalışmada yakın zamanda intihar girişimi olan MDB'li hastalarda, hem intihar girişimi olmayan MDB'li hastalara hem de sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek FABP2 düzeyi ve anlamlı olarak daha düşük zonulin seviyeleri saptamışlardır. Hasta grubunda düşük saptanan zonulin düzeyleri ile ilgili olarak altta yatan mekanizmanın henüz bilinmediğini fakat daha fazla bağırsak epitel hücre ölümünün ya da disfonksiyonunun zonulin ekspresyonunu azaltabileceği ve daha düşük plazma zonulin düzeylerinin daha fazla bağırsak geçirgenliğinin bir göstergesi olabileceği hipotezini önermişlerdir [186]. Bizim bu çalışmadaki otizm grubunda düşük zonulin düzeyler bulgumuz da, benzer bir mekanizmayla, epitel hücre ölümünden kaynaklandığı düşünülebilir.

Diğer bir açıdan obezite ile zonulin ilişkisini araştıran önceki çalışmalar obez olgularda zonulin düzeylerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğunu ve BMI ile zonulin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu bildirilmiştir [187], [190]. Ohlsson ve ark'nın 2017 yılında yayınladıkları çalışmada zonulin düzeyleri ile obez, bel çevresi fazla, diastolik kan basıncı ve açlık glikozu yüksek olan olgularda zonulin düzeyleri anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir [187]. Diğer bir nörogelişimsel

hastalık olan DEHB hastalarında, serum zonulin düzeylerinin BMI ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır [186]. Bu da zonulin düzeylerinde saptanan yüksekliğin hastalığın kendisinden çok BMI yüksekliği ile ilişkili olabileceği fikrini doğurmuştur. Esnafoğlu ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada OSB'li grupta BMI ve zonulin düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir [10]. Dolayısı ile Esnafoğlu ve ark. otizm hastalarında buldukları yüksek zonulin düzeyleri hastalığın kendisinden çok BMI yüksekliği ile açıklanabilir. Bizim çalışmamızda ise obez hastalar dışlanmıştı ve otizm grubu ile kontrollerin BMI medyan değerleri eşitti. Böylece otizm ve kontrol grubu arasındaki obezite ve BMI kaynaklı olası zonulin değişimlerinin önüne geçilmiştir. Biz obezite gibi karıştırıcı bir faktörün dışlanması ile OSB grubumuzda zonulin düzeylerinin daha sağlıklı değerlendirildiğini düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda hem otizm hem de kontrol grubunda zonulin düzeyleri ile BMI arasında istatistiksel olarak anlamlı bir negatif korelasyon olması ise ilginçtir. Bu sonuçta otizmin dışlanmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bir başka açıdan ise zonulinin prehaptoglobulin-2'den sentezlenen bir protein olduğu bilinmektedir. İnsanlarda prehaptoglobulin homozigot HP1/1, homozigot HP2/2 ve heterozigot HP1/2 olmak üzere üç olası genotip ile bulunduğu bilinmektedir [191]. Homozigot HP2/2 ve heterozigot HP1/2 olan deneklerin zonulini değişen miktarlarda sentezleyebildiği, homozigot HP1/1 olan deneklerin zonulin sentezleyemediği bildirilmiştir [192]. Mayıs 2020 yılında yapılan 398 ASD and 379 sağlıklı kontrolün karşılaştırıldığı geniş örneklem gruplu bir çalışmada, pcr yöntemi ile prehaptoglobulin-2 genotip çalışması yapılmıştır. Araştırmacılar beklenenin aksine, OSB'li grupta kontrol grubuna kıyasla zonulini sentezleyen *HP-2* genini daha az taşıdıklarını bildirmiştir [193]. Bizim çalışmamızda zonulin düzeylerinin OSB hastalarında düşük olduğunun gösterilmiş olması, bu geniş örneklemle yapılmış genotip çalışmasını desteklemesi açısından literatüre önemli bir katkı sağlayabilir.

Yukardaki tartışmadan anlaşılaacağı üzere zonulin düzeylerinin otizm hastalarında düşmesinin ne anlama geldiğini tam olarak açıklamak bugünkü bilgilerimizle zor olsa da, yüksek oranda bağırsak epitel hücre ölümü veya işlev bozukluğunun zonulin ekspresyonunu azalttığı düşünülebilir. Çünkü genellikle tersi bir inanış olmakla birlikte daha düşük zonulin seviyelerinin daha yüksek bağırsak geçirgenliğinin bir göstergesi olabileceği de ileri sürülmüştür [189]. Biz de yüksek olmaktan ziyade düşük serum zonulin düzeylerinin OSB ile ilişkili olabileceğini ve

geçirgenlikteki bozulmanın düşük zonulin düzeylerinden kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz. Normal şartlarda bağırsaktaki mikroorganizmalar zonulin salınımını uyarmakta ve zonulinin etkisi ile TJ'ların açılmaktadır. Bu da suyun lümene salgılanarak lümenin bakterilerden temizlenmesini sağlamaktadır [106]. Yani, TJ'lerin yapısında yer alan zonulinin başlıca fonksiyonu, sıkı bileşkenin düzenlenmesi ile proksimal bağırsağı aşırı bakteriyel kolonizasyona karşı korumaktır. Otizm hastalığında serum zonulin düzeylerinin düşüyor olmasının, bağırsaktaki aşırı bakteri kolonizasyonu temizlenemediği ve dolayısı ile disbiozise yol açtığı ileri sürülebilir. Ancak bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi bu çalışmanın sınırları dışındaydı. Bu hipotezin ileride zonulin düzeyleri ile mikrobiyatanın değerlendirilebileceği farklı çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Bununla birlikte yapılan bir çalışmada 376 hastanın serum zonulin düzeylerinin ELISA yöntemi ile ölçümü sonucu elde edilen veriler, kütle spektrometrisi ve Western blot analizi kullanarak ölçülen prehaptoglobulin-2 düzeyleri ile karşılaştırılmıştır [192]. Bu çalışmada ELISA yöntemiyle ölçülen serum zonulin düzeylerinin gerçek prehaptoglobulin düzeylerini yansıtmadığı bildirilmiştir. Ayrıca ELISA yöntemi ile zonulin düzeyleri ölçülürken, ELISA kitlerinin zonulin benzeri properdin gibi proteinleri de bağlayarak sonuçları etkileyebileceği vurgulanmıştır. Dolayısıyla intestinal geçirgenliğin bir biyobelirteci olarak önerilen zonulinin son yıllarda artan popülerliğine rağmen, kullanılan mevcut ticari zonulin analizlerinin gerçek prehaptoglobulin-2'yi tespit etmediği ve metodolojik tutarsızlıklar olduğu düşünülebilir. Gerçek zonulin değerlerini saptayabilmek ve yorumlayabilmek için ELISA yöntemi ile zonulin düzeylerinin doğrudan ölçümünden ziyade prehaptoglobulin-2 yolağındaki genetik ölçümünün çok daha doğru bir yaklaşım olduğu vurgulanmıştır. Bu konuda yeni bir öneri ise serum zonulin düzeyleri araştırılırken prehaptoglobulin-2 proteinine spesifik ve güvenilir monoklonal antikorların geliştirilmesidir [192]. Ayrıca serum zonulin düzeylerinde dakikalar veya saatler içinde dalgalanmalar olabileceği, fakat zonuline karşı oluşmuş IgA ve IgG seviyelerinin ölçümünün daha stabil olduğu, bağırsak bariyer bütünlüğünün değerlendirilmesinde zonuline karşı oluşan IgA ve IgG antikorlarının ölçümünün daha sağlıklı sonuçlar gösterebileceğini bildirmiştir [194].

Otizm etyopatogenezinde son yıllarda önemli araştırma alanlarından biri de yiyeceklerin ve bağırsak mikrobiyotasının hastalık üzerindeki muhtemel etkisidir. Burada özellikle yiyecekler ve yiyecek antijenlerine karşı oluşan antikorların bağırsak

geçirgenliği üzerinde herhangi bir değişiklik yapıp yapmadığı uzun zamandan beri araştırmacıların aklında bir soru işareti olarak durmaktadır. Bu amaçla genellikle antigliadin IgA ve IgG düzeyleri değerlendirilmektedir. Bu konudaki ilk klinik gözlemler otizm ile çölyak hastalığı arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür. Otizmde artan GIS belirtileri ve otoimmün hastalık riski bu düşüncüyü destekleyen en önemli gözlemlerdir [16, 18]. OSB'deki “bağırsak-beyin bağlantısı” teorilerine göre, gluten ve kazeinin bağırsakta inflamasyonu tetikleyebildiğı, otoimmün hastalıklara sebep olduğı ve oluşan antijenlerin merkezi sinir sistemi ile çapraz reaksiyona yol açtığı düşünülmektedir [19].

OSB'nin artmış pozitif çölyak serolojisi riski ile ilişkili olduğunu, gluten duyarlılığının yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır ve bu durum araştırmacıları gluten veya kazein içermeyen diyet gibi terapötik yaklaşımlar yönünde araştırmalara yönlendirmiştir [17, 144, 145]. Glutensiz ve kazeinsiz diyetlerin otistik semptomları iyileştirdiğini gösteren çalışmalar da vardır [146, 147].

Ancak literatüre bakıldığında çölyak hastalığı ile otizm arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar genellikle tutarsız sonuçlar ortaya koymuştur. Örneğin Pavone ve arkadaşları, ASD'li 11 hastada yüksek anti-gliadin seviyeleri bulmadıklarını bildirmiştir [195]. Yine başka bir çalışmada OSB hastalarında gluten intoleransı araştırılmıştır ve 147 OSB'li hastadan sadece 1'inde (% 0.68) anormal anti-transglutaminaz IgA seviyeleri ve 5'inde (% 3.4) anormal anti-gliadin IgA seviyeleri bildirilmiştir. Ayrıca tüm katılımcılar endomisium antikorları açısından negatif bulunmuştur. Bu çalışmada otizmlili hastalarda çölyak hastalığı prevalansının 2034 sağlıklı çocukla karşılaştırıldığında benzer olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, bu örneklem grubunda, çölyak hastalığı biyopsi ile doğrulandığında OSB prevalansının genel popülasyondan daha fazla olmadığı bildirilmiştir [196]. Ayrıca çölyak serolojisi ile bağırsak biyopsi patolojisindeki yapısal değişiklikler arasında kesin bir korelasyon olmadığı da gösterilmiştir. Pavone ve ark. 120 çölyak tanılı hastada OSB prevalansını değerlendirmişlerdir, çölyak hastalarında OSB sıklığının normal popülasyondan fazla olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada 11 infantil otizm tanısı olan hastada çölyak antikorları pozitif olan hastaların biopsilerinde normal bağırsak mukozası olduğu gösterilmiştir [195]. Ek olarak OSB'li 162 çocuktan ve 44 sağlıklı kontrolden oluşan bir örnekte anti-transglutaminaz IgA ve anti-DGP IgA düzeylerinin OSB'li çocuklar ve sağlıklı çocuklar arasında benzer olduğunu bildirilmiştir [197]. Lau ve arkadaşları,

OSB'li hastaları, bunların etkilenmemiş kardeşleri ve sağlıklı kontrolleri karşılaştırdıkları bir çalışmada, anti-DGP IgA düzeylerinde anlamlı bir fark bulamamış, anti-gliadin IgG düzeylerini ise yüksek bulmuşlardır [17]. Ayrıca GIS belirtileri olan otizm hastalarında anti-gliadin IgG düzeylerinin daha yüksek olduğunu, artmış anti-gliadin antikoru ile çölyak için genotipik marker olan HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 varlığı arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Son zamanlarda yayınlanan ve 66 OSB'li hastanın 101 sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığı bir çalışmada ise, otizmde GIS komorbiditelerinin serolojiye olan etkilerini dışlamak için GIS semptomu olmayan hastalar ve kontrollerden oluşan gruplar karşılaştırılmış ve OSB grubunda antigliadin IgA seviyeleri daha düşük saptanmıştır [198].

Bizim çalışmamızda da son literatürle ve bağırsak biopsi çalışmalarıyla uyumlu şekilde antigliadin IgA ve IgG düzeyleri otizm ile kontrol grubu arasında benzer oranlar göstermiştir. Bu durum, otizm hastalarında zonulin düzeylerindeki düşmeyi açıkladığımız teoriye benzer şekilde, hasta ve kontrol grubumuzda GIS belirtilerinin benzerliğine bağlanabilir. Ayrıca çalışmamızda özel diyet uygulayan, besin alerjisi olan katılımcı olmaması bu konudaki önemli karıştırıcıların ekarte edilmesini sağlamıştır. Fakat her ne kadar özel diyet uygulayan hasta olmasa da tüm katılımcıların beslenme şekli eşit olamayacağından, diyetten bağımsız bulgular verdiği düşünülen tükürük IgA değerlerinin çalışılması daha akılcı gibi görünmektedir.

Otizm hastalarındaki önemli bir etyopatogenetik etken de bağırsak mikrobiyotası ve mikrobiyal ürünler olduğu düşünülmektedir. Disbiyoz ve bunun sonucunda bağırsak geçirgenliğinin değişmesi, bağırsak lümeninde bulunan bakteri ürünlerinin sistemik dolaşıma geçmesine neden olabilir. Bu bağırsak ürünlerinden en iyi bilineni gram negatif bakteri duvarında bulunan LPS'dir. LPS güçlü bir proinflamatuvar endotoksindir ve kan dolaşımından beyne geçerek amigdala gibi duygu kontrolünde önemli olan alanların aktivitesini artırarak, merkezi sinir sistemini etkileyebilir [199]. Ayrıca nöropeptid sentezini modüle ederek fizyolojik beyin aktivitesini değiştiren inflamatuvar sitokinlerin üretimine de yol açar [200]. Serumda LPS gibi endotoksin düzeyleri, bozulan bağırsak bariyerinin ve kana geçen bakteriyel yükün göstergesi olabilir [127]. Ayrıca bir çalışmada otizmli hastalara, endotoksin yüklemesinden sonra aşırı proinflamatuvar sitokin üretimi olduğu gösterilmiştir [201].

Bu konuda diğer bir hipotez de LPS'nin kan dolaşımına geçmeden bağırsak lümeninde epitel hücre yüzeylerinde bulunan TLR gibi patern tanıma reseptörlerine

bağlanarak proinflatuar sitokinlerin salınmasına sebep olduğudur. Salgılanan sitokinlerin, kan-beyin bariyerini geçebildiği durumlarda direk etkiyle, geçemediği durumlarda vagal sinir aracılığıyla dolaylı olarak beyni etkileyebileceği ve hipotalamo-hipofiz-adrenokortikal (HPA) ekseninde stres tepkisi oluşturabileceği bilinmektedir [123], [124]. Ayrıca LPS'nin bağırsak epitelinde inflamasyona neden olarak bağırsak duvar geçirgenliğini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur [125, 126].

Emanuele ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, otistik hastalarda serum LPS seviyelerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu ve sosyal iletişim alt ölçeği ile LPS düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmiştir [202]. Bu çalışmada yazarlar fiziksel aktivitenin ve subklinik GIS semptomlarının bu endotoksin düzeylerini etkileyebileceğini vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızda anti-LPS IgG antikorları otizm hastaları ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark saptanmadı. Bunun nedeni zonulin ve antigliadin antikorlarına benzer nedensellik ve tutarlı bir şekilde hastalarımızın GIS semptomları ile kontrol grubumuzun GIS semptomlarının benzer olması olabilir. Bu noktada zonulinin otizm hastalarında azalması sonucu lümene yeterince sıvı salgılanamadığını ve mikrobiyal koloninin tam olarak temizlenemediği düşüncesi akla gelmektedir. Bunun sonucunda oluşacak disbiyozis kanda inflammatuar sitokin salınımını ve psikopatolojileri başlatabilir. Serumda LPS düzeylerinin yüksek olması disbiyozisin göstergesi olabilir de, LPS bazen kan dolaşımına geçmeden bağırsak epitelindeki TLR reseptörlerine bağlanarak da proinflatuar süreçleri başlatabildiği bilinmektedir. Bizim çalışmamızda otizm grubunda IL-6 gibi pro-inflatuar sitokinler artmışken, anti-LPS IgG antikorları otizm ve kontrol grubunda benzer bulunması LPS'nin kandaki düzeyleri yükselmeden de inflammatuar süreçleri tetikleyebileceği bilgisiyle uyumludur. Ayrıca yapılan korelasyon analizinde anti-LPS IgG antikorları ile zonulin, inflammatuar sitokinler olan TNF-alfa, IL-6, TGF-beta, beyin hasarını gösterdiği düşünülen NSE ve S100B arasında pozitif korelasyon olması LPS'nin kana geçen miktarının dolaşımda pro-inflatuar süreçleri tetikleyebileceği ve MSS'ne hasar verebileceği fikrini desteklemektedir.

Çalışmamızın diğer bir amacı da otizm hastalarında inflammatuar süreçleri değerlendirilmektir. Proinflatuar sitokin olan IL-6'nın zonulin düzeyleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [10]. Biz de bu amaçla inflamasyonun sistemik bir göstergesi de olan IL 6, diğer bir proinflatuar sitokin olan TNF- α ve antinflatuar bir sitokin

olan TGF- β 'nın serum düzeylerini otizm ve kontrollerde değerlendirerek karşılaştırdık. Çalışma sonucunda, IL-6 ve TGF- β serum düzeylerinin otizm hastalarında sağlıklı kontrollere oranla yüksek olduğu, ancak TNF- α düzeylerinin ise iki grup arasında farklılık olmadığı bulunmuştur.

İnflamasyon ve immün disfonksiyonun depresyon, şizofreni, streptokok ile ilişkili pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik bozukluklar (PANDAS) ve OSB dahil olmak üzere bir dizi nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkisine dair birçok kanıt vardır [20–22]. Otizmde immün sistem araştırmalarına ilgi son yıllarda artmıştır ve otizmin immün sistemle ilişkili bir fenotipi olabileceği ileri sürülmüştür [23]. Birçok çalışma anormal sitokin profilleri ve OSB arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir [24]. İnflamatuvar sitokinlerin araştırıldığı birçok çalışmada IL-6, sıklıkla pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunun sistemik göstergesi olarak kullanılmaktadır [148]. Otizmlili çocukları sağlıklı kardeşleri ve gelişme geriliği olan kontrol grubuyla karşılaştıran bir çalışmada IL-1 β , IL-6, IL-8, and IL-12p40'ın otizmlili çocuklarda arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, artmış sitokin seviyeleri OSB'nin regresif formu, iletişim eksiklikleri ve anormal davranışlarla ilişkilendirilmiştir [154]. Hastalığın etyopatogenezinde mast hücrelerinin IL-6 ve TNF- α üreterek beyin inflamasyonuna sebep olduğu ileri sürülmüştür [203]. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak serum IL-6 düzeyleri otizm grubunda sağlıklı kontrollere oranla anlamlı düzeyde yüksekti. Ayrıca IL-6 düzeyleri, ÇODÖ otizm şiddet ölçeğindeki entelektüel yanıtın düzeyi ve uygunluğunu değerlendiren 14. alt ölçekle pozitif korelasyon göstermiştir. Yani zeka düzeyi daha düşük, zihinsel işlevselliği daha kötü olan otizm grubunda IL-6 düzeyleri daha yüksekti. Bu bulgular şuan gündemde olan otizmde anti-inflamatuvar tedavilere ışık olması nedeniyle önemli bir bulgu olabilir.

Otizm etyopatogenezinde inflamatuvar süreçlerle ilişkili olduğu düşünülen diğer bir sitokin TNF- α 'dır. TNF- α mikropalara, özellikle gram negatif bakteri duvarındaki LPS'ye karşı yanıtta aktifleşmiş makrofajlar tarafından üretilir ve septik şoktaki ateş ve hipertansiyon oluşumunda rol alır. Özellikle akut inflamasyonda önemli bir araçtır. Uyarı sonrası 30 dakika içinde ekspresyonu başlamakta, 90-120. dakikalarda pik yapmakta ve miktarı 240 dakika içinde saptanamayacak seviyelere kadar inmektedir. TNF- α 'nın beyin ve davranışlar üzerindeki direk etkilerinin moleküler mekanizmaları henüz net olarak gösterilmemekle birlikte, yakın zamanda yapılan nörogörüntüleme ve genetik çalışmaları etkisi olabileceğini düşündüren veriler bildirilmektedir [204]. 4-7

yaş arası otizmlili hastaların plazma sitokin düzeylerini karşılaştıran bir başka çalışmada, OSB grubunda daha yüksek TNF- α , IL-1 β ve IL-17A seviyeleri görülmüştür ve yüksek TNF- α konsantrasyonları OSB semptomlarının şiddeti ile pozitif korelasyon göstermiştir [155]. Öte yandan son yıllarda yayınlanan bir metaanalizde ASD'li bireylerle kontroller arasında TNF- α düzeylerinde önemli bir değişiklik olmadığını bildirmiştir [205]. Bizim çalışmamızda da TNF- α düzeylerinde, otizm ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Daha çok kronik inflamasyonda artan IL-6 düzeyleri yüksek tespit edilirken, akut inflamasyonun göstergesi olan TNF- α düzeylerinde anlamlı farklılık olmaması otizmin kronik bir hastalık olmasıyla ilişkili olabilir. Ayrıca TNF- α 'nın akut inflamasyonun göstergesi olması sebebiyle hastalığın yeni tanı aldığı daha küçük yaşlarda ölçülmesi farklı sonuçlara sebep olabilir. Ayrıca çalışmamızda yakın dönem gribal enfeksiyon ve idrar yolu enfeksiyonu geçirmek gibi inflamatuvar süreçleri etkileyebilecek faktörlerin ekarte edilmesi TNF- α değerlerinin otizm ve kontroller arasında benzer oranlarda bulunmasına sebep olmuş olabilir.

TGF- β ise T hücreleri ve diğer bazı hücre türleri tarafından üretilen inhibitör bir sitokindir. T hücrelerinin çoğalmasını ve makrofaj aktivasyonunu inhibe eder. Aynı zamanda, proinflamatuvar sitokinlerin etkilerini bloke edebilir [148]. Yapılan bir çalışmada OSB grubunda plazma pro-inflamatuvar sitokinler artarken anti-inflamatuvar sitokinler ve TGF- β azalmış olarak bulunmuş ve bu düşüklüğün de davranış sorunları ile ilişkili olduğu gözlenmiştir [156]. Diğer bir çalışmada ise 2-6 yaş arası 87 ASD'li çocuğun plazma sitokin düzeyleri 41 sağlıklı kontrolle karşılaştırılmış ve TGF- β seviyeleri ASD çocuklarda daha yüksek tespit edilmiştir [206]. Ayrıca ASD hastalarının ölüm sonrası beyin dokusunda ve beyin omirilik sıvısında yapılan bir çalışmada, TGF-1-2 seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir [207]. Bizim çalışmamızda da ASD grubunda serum TGF- β düzeyleri sağlıklı kontrollerden anlamlı düzeyde yüksekti. Sonuçlarımız bu konuda son yıllarda yapılan çalışmaları ve postmortem beyin ve beyin omirilik sıvılarından yapılan çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca TGF- β düzeyleri ÇODÖ otizm şiddet ölçeğindeki entelektüel yanıtın düzeyi ve uygunluğunu değerlendiren 14. alt ölçekle pozitif korelasyon göstermiştir. Yani zihinsel işlevselliği daha kötü olan otizm grubunda TGF- β düzeyleri çok daha yüksekti. Dahası hem tüm veriler hem de sadece hasta grubu değerlendirildiğinde artan IL-6 düzeyleriyle korele bir şekilde serum TGF- β düzeyleri de artmaktaydı. Bu durum TGF- β 'nın bir

antinflamatuar sitokin olarak hastalarda artan proinflamatuar aktiviteyi kompanse etmek için yükseldiği şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmada amaçlarımızdan biri de otizmde gut-beyin aksını araştırırken nöronal hasarı da değerlendirmektir. Bu amaçla OSB hastalarında S100B ve NSE düzeylerini ve bunların bağırsak geçirgenliği ve inflammatuar süreçlerle ilişkisini de değerlendirdik. Sonuçlarımız S100B ve NSE'nin otizm ve kontrol grubunda benzer olduğunu gösterdi.

Gut-beyin aksı hipotezine göre bağırsaktaki disbiyozis ve geçirgenliğin bozulmasının, kandaki inflammatuar sitokinler aracılığıyla kan-beyin bariyerini etkilediği düşünülmektedir. OSB, şizofreni ve sağlıklı kontrolleri olan bireylerin beyinlerini karşılaştıran postmortem bir beyin çalışması, kan-beyin bariyeri bütünlüğü ile ilişkili gen ekspresyonundaki değişikliğin OSB'ye özgü olduğunu göstermiştir [157]. Ayrıca çalışmalar OSB'de değişen immün sisteme bağlı olarak beyin dokusu proteinlerine karşı oluşmuş anti-brain antikorlar bulunduğu bildirilmiştir [158].

S100B, başlıca astrositler tarafından eksprese edilse de başka birçok hücreden de sentez edilebilen hücre içi kalsiyum, çinko ve bakır bağlayan intraselüler bir glikoproteindir [26, 27]. Yaşamın ilk yılında ve 7-13 yaşlarında S100B'nin serum düzeyinin erişkinlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum S100B'nin yaşamın ilk yılındaki SSS'nin matürasyonu, 7-13 yaş arasındaki nöron büyümesi, dentritik dallanma ve sinaptogenez ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır [159]. Ayrıca S100B'nin hücre içi sinyal transdüksiyonu ve protein transkripsiyonunu düzenleyerek hücre büyüme ve farklılaşmasında rol aldığı bilinmektedir [27]. Düşük konsantrasyonda nöroprotektif etkileri olan S100B'nin, yüksek konsantrasyonda nörotoksik etkiyle beyinde apoptozu tetiklediği düşünülmektedir [28]. Dejenere olmuş astrositlerden de S100B salgılır [162]. S100B düzeylerinin normal bulunması ise SSS'ye ait majör bir patolojiyi güvenilir bir şekilde elimine etmektedir [161].

Beyin patolojisinin diğer bir göstergesi olarak araştırılan NSE'nin de MSS'de önemli rollerinin olduğu bildirilmiştir. Enolaz glikolitik yolda görev alan bir enzimdir ve α , β , γ olmak üzere üç immünolojik subünitesi bulunur. Enolazın $\alpha\alpha$ izoenzimi glial hücrelerde bulunur ve nonnöronal enolaz (NNE) şeklinde isimlendirilir. α ve γ dimerleri ise nöron spesifik enolaz (NSE) olarak isimlendirilir ve nöronların stoplazmasında ve nöroendokrin hücrelerde bulunur [168].

NSE'nin SSS'de nöroprotektif rolü olduğu düşünülmektedir. Nöron hücre zarı yapılarının olgunlaşmasında, membranın uyarılmasında, tüm enerji bağımlı hücre işlevlerinde rol aldığı ileri sürülmüştür. SSS'nin iskemik hasarında ve nekrozunda ilk olarak NSE salındığı ve hasarın şiddetiyle orantılı olarak yükseldiği bilinmektedir [169].

EKT uygulanan şizofreni hastalarında, NSE ve S100B bakılarak EKT'nin olası nöronal hasar yan etkileri araştırılmış ve bu markerların yüksek olmaması EKT'nin güvenilirliği açısından yorumlanmıştır [170].

S100B düzeyinin, travmatik beyin hasarı, psikiyatrik hastalıklar, serebrovasküler patolojiler ve nörodejeneratif hastalıklarda anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir [29], [30]. Ayrıca S100B'nin migren, majör depresyon, şizofreni hastalarında yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [164–166].

Ancak otizm gibi nöropsikiyatrik hastalıklarda beyin hasarı ve BOS geçirgenliğinin bir göstergesi olduğu düşünülen S100B ve neuron-specific enolase (NSE) ile ilgili bulgularda tutarsızlık gözlenmiştir [32, 171, 208].

Bu konuda yapılan ilk çalışmada, OSB'de S100B proteininin sağlıklı kontrollere göre anlamlı biçimde yüksek olduğu ve OSB belirti şiddeti ile arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir [31]. Ayrıca 3-12 yaş arası 43 otizm hastası ile sağlıklı kontrollerin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada, S100B, tau, NSE, active caspase-3, M30, and M65 seviyelerinin otizm hastalarında daha yüksek olduğu gözlenmiş ve S100B'nin otizmdeki apoptozisin göstergesi olabileceği düşünülmüştür [32]. Başka bir çalışmada OSB hastalarının total serum bilirubin (TSB), NSE, creatine kinase brain band isoenzyme (CK-BB) düzeyleri sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmış, OSB'de TSB, NSE, CK-BB düzeylerinin arttığı bildirilmiştir [171].

Esnafoğlu ve ark. 2017'de yaptığı bir çalışmada, 35 OSB'li çocuk ve 31 sağlıklı kontrol serum S100B ve NSE değerleri açısından karşılaştırılmış olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadığını bildirilmiştir [33].

Bizim çalışmamızda da otizm ve sağlıklı kontroller arasında serum S100B ve NSE proteini düzeyleri arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. Ayrıca yaş ve cinsiyetle S100B ve NSE düzeyleri arasında korelasyon gözlenmemiştir. Bu durumun nedenlerinden birisi otizm hastalarında beyin hasarının ve buna bağlı olası S100B, NSE gibi biyobelirteçlerin yüksekliğinin yaşamın erken yıllarında meydana gelmiş olması olabilir. Çünkü bizim çalışmamızda otizm hastaları ortalama 8 yaşındaydı ve bu hasarı

gözlemlemek için ileri bir yaş olarak kabul edilebilir. Ayrıca sağlıklı kontrol grubumuz ortalama 9 yaş civarındaydı ve sağlıklı insanlarda 7-13 yaş arası olan S100B düzeylerindeki yükseklik de bulgularımızı etkilemiş olabilir. Nitekim NSE'nin OSB'li çocuklarda yüksek olduğunu gösteren bir çalışma otizmli hastaların neonatal dönemde alınmış serum örneklerinden yapılmıştır [171]. Ayrıca kan beyin bariyerinin bütünlüğü bu tür hastalıklarda her zaman bozulmadığı için NSE, S100B proteinleri MSS'de artsa bile periferik kana yeterince geçmiyor ve serum düzeyleri gerçek nöron hasarını yansıtmıyor olabilir.

Ayrıca S100B sekresyonunun, inflamatuvar sitokinler (IL 1 β , TNF α , IL-6, IL-8) tarafından düzenlendiği düşünülmektedir [209]. Bizim çalışmamızda da S100B ve NSE düzeyleri TNF-alfa, IL-6, TGF-beta düzeyleri ile pozitif koreleydi. Dolayısı ile her ne kadar serum düzeyleri kontrollerden farklı olmasa da, inflamatuvar süreçler ile S100B ve NSE arasında bir ilişki olduğu bilgisiyle uyumludur.

Antipsikotik ilaçlardan haloperidol ve risperidonun S100B sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [209]. Başka bir çalışmada da tipik bir antipsikotik ilaç olan haloperidol ve atipik bir antipsikotik ilaç olan klozapinin S100B salınımına olan etkisi araştırılmış ve bu ilaçların S100B salınımını azalttığı bulunmuştur [210]. Bizim çalışmamızda da tipik ve atipik antipsikotik dahil olmak üzere ilaç kullanımı olan hastalar mevcuttu. Bu durumun sonuçlarımızı etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Fakat otizm hastalarında ilaç kullanımı, S100B ve NSE düzeyleri arasında yapılan regresyon analizinde ilaç kullanımı ile S100B ve NSE düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Neonatal asfiksi ile S100B düzeylerinin ilişkisi araştıran bir çalışmada, neonatal asfiksisinin S100B düzeylerini yükselttiği bulunmuştur [211]. Otizmde doğumda asfiksi öyküsünün yüksek olması önceki çalışmalardaki S100B yüksekliğinin bir sebebi olabilir. Bizim çalışmamızda epilepsi, serebral palsi gibi nörolojik hastalığı olan OSB hastaları dışlandığı için otizm ve sağlıklı kontroller doğumda asfiksi öyküsü açısından benzerdi. Dolayısı ile S100B ve NSE değerlerinin bizim çalışmamızda otizm ve sağlıklı kontroller arasında benzer olması, asfiksi öyküsü açısından da benzer özelliklere sahip olmaları ile ilişkilendirilebilir. Bu konuda ileride yapılacak çalışmaların doğumda asfiksi öyküsü olmayan, yeni tanı almış, ilaç kullanmayan ve daha küçük yaş grubundan OSB hastalarıyla yapılması, bu karıştırıcı faktörlerin elimine edilmesiyle daha net sonuçlar verebilir.

Bu çalışmanın sonuçları kısıtlılıkları ile birlikte değerlendirilmelidir. Birincisi biz her ne kadar hastalardaki GIS bulgularını ve yeme tutumlarını dikkate alarak hasta ve kontrol grubunda benzer özelliklere sahip katılımcılar seçmiş olsak bile yine de bu konuda bireysel farklılıklar söz konusu olabilir. İkincisi bağırsaklardaki bozulmayı değerlendirmek için zonulin düzeyleri ile beraber antigliadin IgA, anti-gliadin IgG ve anti-LPS düzeylerine bakmış olsak da katılımcılardaki kazein aşırı duyarlılığı ya da daha önemlisi mikrobiyal floradaki olası değişimi değerlendirmedik. Diğer önemli bir konu da, bağırsaktaki geçirgenliği değerlendirmek için kullandığımız serum zonulin düzeylerinin beyin ve akciğer gibi organlardan da salınabilmesi sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Bu kısıtlılığı aşmak amacıyla dışkı örneklerinde zonulin ölçümü önerilen bir diğer yöntem olabilir. İlerideki çalışmaların bu konuyu da dikkate alarak serum zonulin düzeyleri yanında dışkı örneklerinde de zonulin düzeyleri ve mikrobiyal florayı değerlendirmesi bu konu hakkında daha net bilgi verebilir. Bir diğer kısıtlılık hastalarımızın ilaç kullanımının varlığıdır. Ancak bizim hasta grubumuzda ilaç kullanımı ile serum antigliadin IgA değerleri arasında bir ilişki saptanmış olup, çalışmamızın esas hedefi olan zonulin, inflamatuvar ve nöronal biyobelirteçler arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

Tüm bu kısıtlılıkların yanında çalışmamızın bazı güçlü yanları da mevcuttur. Öncelikle bu çalışma, OSB gibi etyopatogenezi tam anlaşılamamış nörogelişimsel bir hastalıkta çok yeni bir araştırma alanı olan bağırsak-beyin ekseninin çalışıldığı birkaç çalışmadan biridir. Dahası bu eksen tek bir noktadan değil bütüncül bir şekilde; bağırsak geçirgenliği, kanda inflamatuvar süreçler ve nöronal hasarın varlığı açısından incelenmiştir. Hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, GIS bulguları açısından benzer olmasıyla bu karıştırıcı faktörlerin dışlanmış olması, çalışmanın bir diğer güçlü yanıdır. Yine otizmde sık görülen epilepsi ve serebral palsi gibi nörolojik hastalıkların ekarte edilmiş olması nörolojik kökenli olmayan OSB grubuyla çalışmamızı sağlamıştır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde hasta grubumuzda ortaya konan en önemli bulgu zonulin düzeylerinin önceki çalışmaların aksine kontrollerden düşük olarak bulunmasıdır. Bununla birlikte bizim hasta grubumuzda serum antigliadin antikorları ve anti-LPS antikorları her iki grupta benzerdi. Biz bu sonuçların hasta seçimindeki kriterlerimiz ve dışlama ölçütlerimizden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu gibi çalışmalar genel olarak incelendiğinde otizm hasta seçiminde bazı yanlışlıklar olduğu görülmektedir. Buna bağlı olarak elde edilen sonuçların değişiklik gösteriyor olması ve çelişkili sonuçlara yol açıyor olması muhtemeldir. Bu noktada en önemli yanlışlık hastalarda komorbid olarak gözlenen durumlarda seçici davranmaktır. Otizmde sık görülen GIS bulguları hasta grubu olarak belirlenen otizmlilerde çok yüksek olarak seçilirse ve kontroller GIS bulguları olmayan ya da çok az olan sağlıklı kontrollerden oluşuyorsa doğal olarak bağırsak patolojileri ve buna bağlı göstergelerde bir yükselme kaçınılmaz olmaktadır. Nitekim Esnafoğlu ve ark. yaptığı çalışmada hasta grubunda GIS bulguları genel olarak çok yüksek ve kontrollerden çok farklıydı. Dolayısı ile serum zonulin düzeylerinin bu hastalarda yüksek bulunmuş olması hastalarda bozuk olan GIS'e bağlı olabilir. Bizim hasta grubunda ise GIS bulguları daha önceki çalışmalarla uyumlu şekilde olup kontrollerden de farklı değildi. Dolayısı ile bu şekilde değerlendirildiğinde biz hasta grubumuzda yanlışlıkları ekarte ettiğimizi ve zonulinin otizm hastalarında yükselmekten ziyade düşük olduğunu göstermekteyiz. Yine antigliadin ve anti LPS antikor düzeylerini otizm ve kontrollerde benzer olarak bulmuş olmamız da benzer nedensellikte açıklanabilir. Hasta grubunda GIS belirtileri yüksek olan durumlarda bağırsak bozukluklarına yol açan yiyecek antijenleri ve mikrobiyal etkenler de yüksek olacaktı. Dolayısı ile biz otizm hastalarında davranışsal sorunlar nedeniyle GIS bozuklukları olan bir grup hastada bağırsak geçirgenliğinin bozulduğunu ancak bunun otizm hastalığı için genelleştirilemeyeceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun tam olarak ortaya konabilmesi için ilerde GIS bulguları yüksek olan ve olmayan hastaların değerlendirildiği, daha fazla hasta sayıları içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca çalışmada OSB'de artmış inflamatuvar bir süreç olduğunu gösteren bulgular saptanmakla birlikte, beyin hasarına ait parametrelerde bir farklılık bulunmamıştır. Otizm hastalarında birçok defa gösterilmiş olan inflamatuvar süreç bozukluklarının beyin ve davranışlarda bir bozulmaya yol açıyor olsa bile, bu durumun

hastalık başlamadan çok önce, bebeklik ya da anne karnında gerçekleşiyor olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak hastaların doğum öncesi ve doğumsal dönemdeki verilerini değerlendirmek bu çalışmanın sınırları dışındaydı.



KAYNAKLAR

1. APA. American Psychiatric Association, 2013. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). American Journal of Psychiatry. 2013.
2. Maenner MJ, Shaw KA, Baio J, Washington A, Patrick M, DiRienzo M, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016. *MMWR Surveill Summ.* 2020 Mar 27;69(4):1–12.
3. Gillberg C, Wing L. Autism: Not an extremely rare disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica.* 1999.
4. Lai M, Lombardo M, Baron-Cohen S. Autism. *Lancet.* 2014;.
5. Ng M, de Montigny JG, Ofner M, Do MT. Environmental factors associated with autism spectrum disorder: A scoping review for the years 2003–2013. Vol. 37, *Health Promotion and Chronic Disease Prevention in Canada.* Public Health Agency of Canada; 2017. p. 1–23.
6. Buie T, Campbell DB, Fuchs GJ, Furuta GT, Levy J, Van De Water J, et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: A consensus report. In: *Pediatrics.* American Academy of Pediatrics; 2010. p. S1–18.
7. 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. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;
8. 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. *Med Hypotheses.* 2013;
9. Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J Cell Sci.* 2000;

10. Esnafoglu E, Cırrık S, Ayyıldız SN, Erdil A, Ertürk EY, Dağlı A, et al. Increased Serum Zonulin Levels as an Intestinal Permeability Marker in Autistic Subjects. *J Pediatr*. 2017;188:240–4.
11. Obrenovich M. Leaky Gut, Leaky Brain? *Microorganisms*. 2018;
12. Guttman JA, Finlay BB. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. 2009.
13. Fasano A. Surprise from celiac Disease. *Sci Am*. 2009;
14. Jabri B, Kasarda DD, Green PHR. Innate and adaptive immunity: The Yin and Yang of celiac disease. *Immunological Reviews*. 2005.
15. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*. 2003 Feb 1;52(2):218–23.
16. Croen LA, Grether JK, Yoshida CK, Odouli R, De Water J Van. Maternal autoimmune diseases, asthma and allergies, and childhood autism spectrum disorders: A case-control study. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005;
17. Lau NM, Green PHR, Taylor AK, Hellberg D, Ajamian M, Tan CZ, et al. Markers of Celiac Disease and Gluten Sensitivity in Children with Autism. *PLoS One*. 2013;
18. Onore C, Careaga M, Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2012.
19. Vojdani A, O'Bryan T, Green JA, McCandless J, Woeller KN, Vojdani E, et al. Immune response to dietary proteins, gliadin and cerebellar peptides in children with autism. *Nutr Neurosci*. 2004;
20. Howes OD, McCutcheon R. Inflammation and the neural diathesis-stress hypothesis of schizophrenia: A reconceptualization. *Translational Psychiatry*. 2017.
21. Williams KA, Swedo SE. Post-infectious autoimmune disorders: Sydenham's chorea, PANDAS and beyond. *Brain Research*. 2015.
22. Jeon SW, Kim YK. Inflammation-induced depression: Its pathophysiology and therapeutic implications. *Journal of Neuroimmunology*. 2017.
23. Meltzer A, Van De Water J. The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2017.

24. Thom RP, Keary CJ, Palumbo ML, Ravichandran CT, Mullett JE, Hazen EP, et al. Beyond the brain: A multi-system inflammatory subtype of autism spectrum disorder. *Psychopharmacology*. 2019.
25. Rose DR, Yang H, Serena G, Sturgeon C, Ma B, Careaga M, et al. Differential immune responses and microbiota profiles in children with autism spectrum disorders and co-morbid gastrointestinal symptoms. *Brain Behav Immun*. 2018;
26. Tu CL, Chang W, Bikle DD. The Extracellular Calcium-sensing Receptor Is Required for Calcium-induced Differentiation in Human Keratinocytes. *J Biol Chem*. 2001;
27. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2009.
28. Mikkonen K, Pekkala N, Pokka T, Romner B, Uhari M, Rantala H. S100B proteins in febrile seizures. *Seizure*. 2012;
29. Biberthaler P, Linsenmeier U, Pfeifer KJ, Kroetz M, Mussack T, Kanz KG, et al. Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury a prospective multicenter study. *Shock*. 2006;
30. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, Hawthorn B, He H, Nayak A, et al. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2009;
31. Al-Ayadhi LY, Mostafa GA. A lack of association between elevated serum levels of S100B protein and autoimmunity in autistic children. *J Neuroinflammation*. 2012;
32. Ayaydın H, Kirit A, Çelik H, Akaltun İ, Koyuncu İ, Bilgen Ulgar Ş. High Serum Levels of Serum 100 Beta Protein, Neuron-specific Enolase, Tau, Active Caspase-3, M30 and M65 in Children with Autism Spectrum Disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2020;
33. Esnafoglu E, Ayyıldız SN, Cırık S, Ertürk EY, Erdil A, Dağlı A, et al. Evaluation of serum Neuron-specific enolase, S100B, myelin basic protein and glial fibrillary acidic protein as brain specific proteins in children with autism spectrum disorder. *Int J Dev Neurosci*. 2017;

34. Kuhn R, Cahn CH. Eugen Bleuler's concepts of psychopathology. Vol. 15, History of Psychiatry. 2004. p. 361–6.
35. Lyons V, Fitzgerald M. Asperger (1906-1980) and Kanner (1894-1981), the two pioneers of autism [2]. Journal of Autism and Developmental Disorders. 2007.
36. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. Nervous child. Nerv Child. 1943;
37. Wing L, Gould J. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification. J Autism Dev Disord. 1979;9(1):11–29.
38. Psychiatric Association A. DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL MENTAL DISORDERS The Committee on Nomenclature and Statistics of the American Psychiatric Association AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION MENTAL HOSPITAL SERVICE. 1952.
39. Association AP. DSM-III: the 3d edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders from the American Psychiatric Association. Rev Neurol (Paris). 1980.
40. Association AP. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (3rd ed., Rev.). Washington, DC: Author. Am Psychiatr Assoc. 1987;
41. Bell CC. DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. JAMA J Am Med Assoc. 1994 Sep 14;272(10):828.
42. Volkmar F, Martin A. Essentials of Lewis's Child and Adolescent Psychiatry. 2012;
43. Al-Qabandi M, Gorter JW, Rosenbaum P. Early autism detection: Are we ready for routine screening? Vol. 128, Pediatrics. American Academy of Pediatrics; 2011. p. e211–7.
44. Muayeneleri PS. Aile Hekimliği Uygulamasında Önerilen periyodik sağlık muayeneleri ve tarama testleri. 2015.
45. Mukaddes NM. Nörogelişimsel Bozukluklar | Psikiyatri Ve Psikoloji Kitapları [Internet]. nobel tıp kitapevi. 2018 [cited 2020 Dec 17]. p. 261–82. Available from: <https://nobeltip.com/product/3502/norogelisimsel-bozukluklar>

46. Lai MC, Lombardo M V., Baron-Cohen S. Autism. In: The Lancet. 2014.
47. Ghaziuddin M, Weidmer-Mikhail E, Ghaziuddin N. Comorbidity of Asperger syndrome: a preliminary report. J Intellect Disabil Res. 2002;
48. Maenner MJ, Arneson CL, Levy SE, Kirby RS, Nicholas JS, Durkin MS. Brief report: Association between behavioral features and gastrointestinal problems among children with autism spectrum disorder. J Autism Dev Disord. 2012 Jul 20;42(7):1520–5.
49. Fein D, Barton M, Eigsti IM, Kelley E, Naigles L, Schultz RT, et al. Optimal outcome in individuals with a history of autism. J Child Psychol Psychiatry Allied Discip. 2013;
50. 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.
51. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Data & Statistics on Autism Spectrum Disorder | CDC. CDC.gov. 2019.
52. Fombonne E. Epidemiology of pervasive developmental disorders. Pediatric Research. 2009.
53. Kondolot M, Özmert EN, Öztop DB, Mazicioğlu MM, Gümüş H, Elmalı F. The modified checklist for autism in Turkish toddlers: A different cultural adaptation sample. Res Autism Spectr Disord. 2016;
54. Lai MC, Lombardo M V., Auyeung B, Chakrabarti B, Baron-Cohen S. Sex/Gender Differences and Autism: Setting the Scene for Future Research. Vol. 54, Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. Elsevier Inc.; 2015. p. 11–24.
55. Piven J, Palmer P. Psychiatric disorder and the broad autism phenotype: Evidence from a family study of multiple-incidence autism families. Am J Psychiatry. 1999;
56. Baron-Cohen S, Leslie AM, Frith U. Does the autistic child have a “theory of mind”? Cognition. 1985;
57. Ozonoff S, Pennington BF, Rogers SJ. Executive Function Deficits in High-Functioning Autistic Individuals: Relationship to Theory of Mind. J Child Psychol Psychiatry. 1991;

58. Happé FGE. Central coherence and theory of mind in autism: Reading homographs in context. *Br J Dev Psychol*. 1997;
59. Baron-Cohen S. The extreme male brain theory of autism. *Trends in Cognitive Sciences*. 2002.
60. Baron-Cohen S. Editorial Perspective: Neurodiversity – a revolutionary concept for autism and psychiatry. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*. 2017.
61. Baron-Cohen S. Autism: The empathizing-systemizing (E-S) theory. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;
62. Rutter M. Aetiology of autism: Findings and questions. *Journal of Intellectual Disability Research*. 2005.
63. Levine K. The Biology of the Autistic Syndromes. *Ment Retard*. 2001;
64. 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. *J Child Psychol Psychiatry Allied Discip*. 2005;
65. Hogart A, Wu D, LaSalle JM, Schanen NC. The comorbidity of autism with the genomic disorders of chromosome 15q11.2-q13. *Neurobiology of Disease*. 2010.
66. Ma DQ, Rabionet R, Konidari I, Jaworski J, Cukier HN, Wright HH, et al. Association and gene-gene interaction of SLC6A4 and ITGB3 in autism. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2010;
67. Yoo H. Genetics of Autism Spectrum Disorder: Current Status and Possible Clinical Applications. *Exp Neurol*. 2015 Dec 30;24(4):257–72.
68. Mazina V, Gerds J, Trinh S, Ankenman K, Ward T, Dennis MY, et al. Epigenetics of Autism-related Impairment. *J Dev Behav Pediatr*. 2015 Feb 13;36(2):61–7.
69. Courchesne E, Redcay E. When is the brain enlarged in autism? A meta-analysis of all brain size reports. *Biol Psychiatry*. 2005;
70. Ecker C, Schmeisser MJ, Loth E, Murphy DG. Neuroanatomy and Neuropathology of Autism Spectrum Disorder in Humans. In: *Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology*. Springer Verlag; 2017. p. 27–48.

71. Amaral DG, Schumann CM, Nordahl CW. Neuroanatomy of autism. *Trends in Neurosciences*. 2008.
72. Kemper TL, Bauman ML. Neuropathology of infantile autism. *Mol Psychiatry*. 2002;7:12–3.
73. Muller CL, Anacker AMJ, Veenstra-VanderWeele J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience*. 2016 May;321:24–41.
74. Siemann J, Muller C, ... CF-T, 2017 undefined. An autism-associated serotonin transporter variant disrupts multisensory processing. *nature.com*.
75. Chugani DC, Muzik O, Behen M, Rothermel R, Janisse JJ, Lee J, et al. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann Neurol*. 1999 Mar 1;45(3):287–95.
76. Gabriele S, Sacco R, Persico AM. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2014 Jun 1;24(6):919–29.
77. Al-Otaish H, Al-Ayadhi L, Bjørklund G, Chirumbolo S, Urbina MA, El-Ansary A. Relationship between absolute and relative ratios of glutamate, glutamine and GABA and severity of autism spectrum disorder. *Metab Brain Dis*. 2018 Jun 1;33(3):843–54.
78. Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Pascualvaca D, Cohen RM. Low medial prefrontal dopaminergic activity in autistic children [4]. *Lancet*. 1997 Aug 30;350(9078):638.
79. Staal WG, Langen M, Van Dijk S, Mensen VT, Durston S. DRD3 gene and striatum in autism spectrum disorder. *Br J Psychiatry*. 2015 May 1;206(5):431–2.
80. Schumann CM, Nordahl CW. Bridging the gap between MRI and postmortem research in autism. *Brain Research*. 2011.
81. Canitano R, Luchetti A, Zappella M. Epilepsy, electroencephalographic abnormalities, and regression in children with autism. *J Child Neurol*. 2005;
82. Bolton PF, Carcani-Rathwell I, Hutton J, Goode S, Howlin P, Rutter M. Epilepsy in autism: Features and correlates. *Br J Psychiatry*. 2011 Apr;198(4):289–94.

83. Herbert MR. Autism and Environmental Genomics: Synergistic Systems Approaches to Autism Complexity Brain Body Electrophysiology Metabolism Biophysics multiscale systems View project Autism-Environmental Risk Factors and Gene-Env Interaction View project Mark A Corrales United States Environmental Protection Agency. researchgate.net. 2011;
84. Geier DA, Kern JK, Garver CR, Adams JB, Audhya T, Nataf R, et al. Biomarkers of environmental toxicity and susceptibility in autism. *J Neurol Sci*. 2009 May 15;280(1–2):101–8.
85. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: Comprehensive meta-analysis. *British Journal of Psychiatry*. 2009.
86. Hisle-Gorman E, Susi A, Stokes T, Gorman G, Erdie-Lalena C, Nylund CM. Prenatal, perinatal, and neonatal risk factors of autism spectrum disorder. *Pediatr Res*. 2018 Aug 1;84(2):190–8.
87. Juul-Dam N, Townsend J, Courchesne E. Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and the general population. *Pediatrics*. 2001 Aug 1;107(4):514–9.
88. Wilson K, Mills E, Ross C, McGowan J, Jadad A. Association of autistic spectrum disorder and the measles, mumps, and rubella vaccine: A systematic review of current epidemiological evidence. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. 2003.
89. Rahbar MH, Samms-Vaughan M, Loveland KA, Pearson DA, Bressler J, Chen Z, et al. Maternal and paternal age are jointly associated with childhood Autism in Jamaica. *J Autism Dev Disord*. 2012 Sep 10;42(9):1928–38.
90. Dealberto MJ. Prevalence of autism according to maternal immigrant status and ethnic origin. Vol. 123, *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2011. p. 339–48.
91. Grant WB, Soles CM. Epidemiologic evidence for supporting the role of maternal vitamin D deficiency as a risk factor for the development of infantile autism. *Dermatoendocrinol*. 2009 Jul;1(4):223–8.
92. Ucuz II, Dursun OB, Esin IS, Özgeriş FB, Kurt N, Kiziltunç A, et al. The relationship between Vitamin D, autistic spectrum disorders, and cognitive development: Do glial cell line-derived neurotrophic factor and nerve growth factor play a role in this relationship? *Int J Dev Disabil*. 2015;

93. Rai D, Lewis G, Lundberg M, Araya R, Svensson A, Dalman C, et al. Parental socioeconomic status and risk of offspring autism spectrum disorders in a Swedish population-based study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2012;51(5).
94. Burstyn I, Sithole F, Zwaigenbaum L. Autism spectrum disorders, maternal characteristics and obstetric complications among singletons born in Alberta, Canada. *Chronic Dis Can*. 2010 Sep;30(4):125–34.
95. Hagberg H, Gressens P, Mallard C. Inflammation during fetal and neonatal life: Implications for neurologic and neuropsychiatric disease in children and adults. *Ann Neurol*. 2012 Apr 1;71(4):444–57.
96. Cohly HHP, Panja A. Immunological Findings in Autism. Vol. 71, *International Review of Neurobiology*. Academic Press; 2005. p. 317–41.
97. Abdallah MW, Larsen N, Grove J, Nørgaard-Pedersen B, Thorsen P, Mortensen EL, et al. Amniotic fluid chemokines and autism spectrum disorders: An exploratory study utilizing a Danish Historic Birth Cohort. *Brain Behav Immun*. 2012 Jan 1;26(1):170–6.
98. Blaylock R, Strunecka A. Immune-Glutamatergic Dysfunction as a Central Mechanism of the Autism Spectrum Disorders. *Curr Med Chem*. 2008 Dec 30;16(2):157–70.
99. Zhu X, Han Y, Du J, Liu R, Jin K, Oncotarget WY-, et al. Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *ncbi.nlm.nih.gov*. 2017;
100. Kostiukow A, Poniewierski P, Daroszewski P, Samborski W. Gastrointestinal disorders in children with autism spectrum disorder. Vol. 48, *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. NLM (Medline); 2020. p. 69–72.
101. König J, Wells J, Cani PD, García-Ródenas CL, MacDonald T, Mercenier A, et al. Human intestinal barrier function in health and disease. *Clin Transl Gastroenterol*. 2016;
102. González-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2003.
103. Matter K, Balda MS. Signalling to and from tight junctions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2003.

104. Fasano A, Baudry B, Pumpin DW, Wasserman SS, Tall BD, Ketley JM, et al. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;
105. Fasano A. Regulation of intercellular tight junctions by Zonula occludens toxin and its eukaryotic analogue zonulin. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000.
106. Fasano A, Uzzau S, Fiore C, Margaretten K. The enterotoxic effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology*. 1997;
107. Fasano A. Intestinal Permeability and Its Regulation by Zonulin: Diagnostic and Therapeutic Implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;
108. Maes M, Kanchanatawan B, Sirivichayakul S, Carvalho AF. In Schizophrenia, Increased Plasma IgM/IgA Responses to Gut Commensal Bacteria Are Associated with Negative Symptoms, Neurocognitive Impairments, and the Deficit Phenotype. *Neurotox Res*. 2019 Apr 15;35(3):684–98.
109. Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Increased serum IgA and IgM against LPS of enterobacteria in chronic fatigue syndrome (CFS): Indication for the involvement of gram-negative enterobacteria in the etiology of CFS and for the presence of an increased gut-intestinal permeability. *J Affect Disord*. 2007;
110. Simeonova D, Stoyanov D, Leunis J –C, Carvalho AF, Kubera M, Murdjeva M, et al. Increased Serum Immunoglobulin Responses to Gut Commensal Gram-Negative Bacteria in Unipolar Major Depression and Bipolar Disorder Type 1, Especially When Melancholia Is Present. *Neurotox Res*. 2020;
111. Józefczuk J, Konopka E, Bierła JB, Trojanowska I, Sowińska A, Czarnecki R, et al. The occurrence of antibodies against gluten in children with autism spectrum disorders does not correlate with serological markers of impaired intestinal permeability. *J Med Food*. 2018;
112. Sartor RB. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2008 Feb 1;134(2):577–94.
113. Khanna S, Tosh PK. A clinician’s primer on the role of the microbiome in human health and disease. Vol. 89, *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier Ltd; 2014. p. 107–14.

114. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012.
115. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. Vol. 157, *Cell*. Cell Press; 2014. p. 121–41.
116. Takahashi K. Influence of bacteria on epigenetic gene control. Vol. 71, *Cellular and Molecular Life Sciences*. Springer; 2014. p. 1045–54.
117. Borre YE, O’Keeffe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends in molecular medicine*. 2014.
118. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012.
119. 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;
120. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc*. 2003;
121. Rieder R, Wisniewski PJ, Alderman BL, Campbell SC. Microbes and mental health: A review. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2017.
122. Evrensel A, Ceylan E. Bağırsak Beyin Ekseni: Psikiyatrik Bozukluklarda Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü-Gut-Brain Axis: The Role of Gut Microbiota in the Psychiatric Disorders. *Psikiyatr Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches Psychiatry*. 2015;7(4):461–72.
123. Forsythe P, Kunze WA. Voices from within: Gut microbes and the CNS. Vol. 70, *Cellular and Molecular Life Sciences*. Springer; 2013. p. 55–69.
124. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Innate immune recognition of the indigenous microbial flora. Vol. 1, *Mucosal Immunology*. Nature Publishing Group; 2008. p. 10–4.
125. Teshima CW, Meddings JB. The measurement and clinical significance of intestinal permeability. *Current Gastroenterology Reports*. 2008.
126. Kranich J, Maslowski KM, Mackay CR. Commensal flora and the regulation of inflammatory and autoimmune responses. *Seminars in Immunology*. 2011.

127. Parracho HMRT, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol.* 2005;
128. Smits LP, Bouter KEC, De Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology.* 2013.
129. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. *Nat Neurosci.* 2015;
130. 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 Behav Immun.* 2015;
131. 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;
132. 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. *Schizophr Res.* 2018;
133. 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.* 2016.
134. Pärty 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. *Pediatr Res.* 2015;
135. Özyurt G, Öztürk Y, Appak YÇ, Arslan FD, Baran M, Karakoyun İ, et al. Increased zonulin is associated with hyperactivity and social dysfunctions in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Compr Psychiatry.* 2018;
136. Liu Z, Li N, Neu J. Tight junctions, leaky intestines, and pediatric diseases. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics.* 2005.
137. White JF. Intestinal Pathophysiology in Autism. *Exp Biol Med.* 2003 Jun 29;228(6):639–49.

138. 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 Gastroenterol.* 2011;
139. 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;
140. Song Y, Liu C, Finegold SM. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl Environ Microbiol.* 2004;
141. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol.* 2000;
142. Persico AM, Napolioni V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicol Teratol.* 2013;
143. Dupont FM, Vensel WH, Tanaka CK, Hurkman WJ, Altenbach SB. Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry. *Proteome Sci.* 2011;
144. Saemundsen E, Ludvigsson P, Rafnsson V. Risk of autism spectrum disorders after infantile spasms: A population-based study nested in a cohort with seizures in the first year of life. *Epilepsia.* 2008 Nov 1;49(11):1865–70.
145. Dosman C, Adams D, Wudel B, Vogels L, Turner J, Vohra S. Complementary, holistic, and integrative medicine: Autism spectrum disorder and gluten- and casein-free diet. *Pediatrics in Review.* 2013.
146. Hemmings WA. The entry into the brain of large molecules derived from dietary protein. *Proc R Soc London - Biol Sci.* 1978;
147. Cornish E. Gluten and casein free diets in autism: A study of the effects on food choice and nutrition. *J Hum Nutr Diet.* 2002;
148. Abbas AK LA. Temel immünoloji, immün sistemin işlev ve bozuklukları. Camcıoğlu Y. DG, editor. istanbul medikal yayıncılık; 2007. 21–29 p.
149. Money J, Bobrow NA, Clarke FC. Autism and autoimmune disease: A family study. *J Autism Child Schizophr.* 1971;

150. Wu S, Ding Y, Wu F, Li R, Xie G, Hou J, et al. Family history of autoimmune diseases is associated with an increased risk of autism in children: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2015.
151. Saghaizadeh A, Ataeinia B, Keynejad K, Abdolalizadeh A, Hirbod-Mobarakeh A, Rezaei N. A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in autism spectrum disorders: Effects of age, gender, and latitude. *Journal of Psychiatric Research*. 2019.
152. Grigorenko EL, Han SS, Yrigollen CM, Leng L, Mizue Y, Anderson GM, et al. Macrophage migration inhibitory factor and autism spectrum disorders. *Pediatrics*. 2008;
153. Enstrom AM, Onore CE, Van de Water JA, Ashwood P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*. 2010;
154. Ashwood P, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen R, Pessah I, Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav Immun*. 2011;
155. Xie J, Huang L, Li X, Li H, Zhou Y, Zhu H, et al. Immunological cytokine profiling identifies TNF- α as a key molecule dysregulated in autistic children. *Oncotarget*. 2017;
156. Ashwood P, Enstrom A, Krakowiak P, Hertz-Picciotto I, Hansen RL, Croen LA, et al. Decreased transforming growth factor beta1 in autism: A potential link between immune dysregulation and impairment in clinical behavioral outcomes. *J Neuroimmunol*. 2008;
157. Fiorentino M, Sapone A, Senger S, Camhi SS, Kadzielski SM, Buie TM, et al. Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders. *Mol Autism*. 2016;
158. Gonzalez-Gronow M, Cuchacovich M, Francos R, Cuchacovich S, del Pilar Fernandez M, Blanco A, et al. Antibodies against the voltage-dependent anion channel (VDAC) and its protective ligand hexokinase-I in children with autism. *J Neuroimmunol*. 2010;

159. Portela LVC, Tort ABL, Schaf D V., Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. Clin Chem. 2002;
160. Adami C, Sorci G, Blasi E, Agneletti AL, Bistoni F, Donato R. S100B expression in and effects on microglia. Glia. 2001;
161. Biberthaler P, Mussack T, Wiedemann E, Kanz KG, Koelsch M, Gippner-Steppert C, et al. Evaluation of S-100b as a specific marker for neuronal damage due to minor head trauma. World J Surg. 2001;
162. Wilder PT, Rustandi RR, Drohat AC, Weber DJ. S100b($\beta\beta$) inhibits the protein kinase C-dependent phosphorylation of a peptide derived from p53 in a Ca^{2+} -dependent manner. Protein Sci. 1998;
163. Sen J, Belli A. S100B in neuropathologic states: The CRP of the brain? J Neurosci Res. 2007;
164. Teepker M, Munk K, Mylius V, Haag A, Möller JC, Oertel WH, et al. Serum concentrations of s100b and NSE in migraine. Headache. 2009;
165. Rothermundt M, Arolt V, Wiesmann M, Missler U, Peters M, Rudolf S, et al. S-100B is increased in melancholic but not in non-melancholic major depression. J Affect Disord. 2001;
166. Rothermundt M, Ponath G, Glaser T, Hetzel G, Arolt V. S100B serum levels and long-term improvement of negative symptoms in patients with schizophrenia. Neuropsychopharmacology. 2004;
167. Pinto SS, Gottfried C, Mendez A, Gonçalves D, Karl J, Gonçalves CA, et al. Immunocontent and secretion of S100B in astrocyte cultures from different brain regions in relation to morphology. FEBS Lett. 2000;
168. Kaiser E, Kuzmits R, Pregant P, Burghuber O, Worofka W. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. Clin Chim Acta. 1989;
169. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochem Biophys Res Commun. 1965;
170. Ivanov M V., Zubov DS. Electroconvulsive therapy in treatment of resistant schizophrenia: Biological markers of efficacy and safety. Vol. 119, Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova. Media Sphera Publishing Group; 2019. p. 92–7.

171. Lv MN, Zhang H, Shu Y, Chen S, Hu YY, Zhou M. The neonatal levels of TSB, NSE and CK-BB in autism spectrum disorder from Southern China. *Transl Neurosci*. 2016;
172. Li Q, Han Y, Dy ABC, Hagerman RJ. The gut microbiota and autism spectrum disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2017.
173. Schopler Reichler, R.J., & Renner, B.R. E. Childhood Autism Rating Scale (CARS). Los Angeles West Psychol Serv. 1988;
174. Gassaloğlu SI, Baykara B, Avc S İl, Dem Yİ. Validity and reliability analysis of turkish version of childhood autism rating scale. *Turk Psikiyatı Derg*. 2016;
175. H. G, D. S, S.L. B. Prenatal risk factors for autism: Comprehensive meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 2009;
176. Evans EW, Must A, Anderson SE, Curtin C, Scampini R, Maslin M, et al. Dietary patterns and body mass index in children with autism and typically developing children. *Res Autism Spectr Disord*. 2012;
177. Zak-Gołąb A, Kocelak P, Aptekorz M, Zientara M, Juszczak Ł, Martirosian G, et al. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *Int J Endocrinol*. 2013;
178. Berding K, Donovan SM. Diet Can Impact Microbiota Composition in Children With Autism Spectrum Disorder. *Front Neurosci*. 2018;
179. Graff H, Handford A. Celiac syndrome in the case histories of five schizophrenics. *Psychiatr Q*. 1961;
180. Goodwin MS, Goodwin TC, Cowen MA. Malabsorption and cerebral dysfunction: A multivariate and comparative study of autistic children. *J Autism Child Schizophr*. 1971;
181. Ibrahim SH, Voigt RG, Katusic SK, Weaver AL, Barbaresi WJ. Incidence of gastrointestinal symptoms in children with autism: A population-based study. *Pediatrics*. 2009;
182. Wakefield AJ, Anthony A, Murch SH, Thomson M, Montgomery SM, Davies S, et al. Enterocolitis in children with developmental disorders. *Am J Gastroenterol*. 2000;

183. Torrente F, Ashwood P, Day R, Machado N, Furlano RI, Anthony A, et al. Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism. *Mol Psychiatry*. 2002;
184. De Magistris L, Familiari V, Pascotto A, Sapone A, Froli A, Iardino P, et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;
185. 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. *Physiol Res*. 2017;
186. Aydoğan A, Avşar P, Işık Ü, Aktepe E, Kılıç F, Doğuç DK, Büyükbayram Hİ. Serum zonulin and claudin-5 levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Int J Psychiatry Clin Pract*. 2020;
187. Ohlsson B, Orho-Melander M, Nilsson PM. Higher levels of serum zonulin may rather be associated with increased risk of obesity and hyperlipidemia, than with gastrointestinal symptoms or disease manifestations. *Int J Mol Sci*. 2017;
188. Stevens BR, Goel R, Seungbum K, Richards EM, Holbert RC, Pepine CJ, et al. Increased human intestinal barrier permeability plasma biomarkers zonulin and FABP2 correlated with plasma LPS and altered gut microbiome in anxiety or depression. *Gut*. 2018.
189. Ohlsson L, Gustafsson A, Lavant E, Suneson K, Brundin L, Westrin, et al. Leaky gut biomarkers in depression and suicidal behavior. *Acta Psychiatr Scand*. 2019;
190. Küme T, Acar S, Tuhan H, Çatlı G, Anık A, Gürsoy Çalan Ö, et al. The relationship between serum zonulin level and clinical and laboratory parameters of childhood obesity. *JCRPE J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2017;
191. Wobeto VP de A, Zaccariotto TR, Sonati M de F. Polymorphism of human haptoglobin and its clinical importance. *Genetics and Molecular Biology*. 2008.
192. Scheffler L, Crane A, Heyne H, Tönjes A, Schleinitz D, Ihling CH, et al. Widely used commercial ELISA does not detect precursor of haptoglobin2, but recognizes properdin as a potential second member of the zonulin family. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;

193. Cupaioli FA, Mosca E, Magri C, Gennarelli M, Moscatelli M, Raggi ME, et al. Assessment of haptoglobin alleles in autism spectrum disorders. *Sci Rep*. 2020;
194. Vojdani A, Vojdani E, Kharrazian D. Fluctuation of zonulin levels in blood vs stability of antibodies. *World J Gastroenterol*. 2017;
195. Pavone L, Fiumara A, Bottaro G, Mazzone D, Coleman M. Autism and celiac disease: Failure to validate the hypothesis that a link might exist. *Biol Psychiatry*. 1997;
196. Batista IC, Gandolfi L, Nobrega YKM, Almeida RC, Almeida LM, Campos Junior D, et al. Autism spectrum disorder and celiac disease: no evidence for a link. *Arq Neuropsiquiatr*. 2012;
197. De Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R, et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. *Biomed Res Int*. 2013;
198. Abdel-Maksoud M, Aly El-Gabry D, Al Kayoumi T, Alketbi J, Mohamednour D, Elhassan Elamin M, et al. Measures of gluten-related reactivity in children with autism spectrum disorders in the absence of overt gastrointestinal symptoms: a pilot study from the United Arab Emirates. *J Int Med Res*. 2020;
199. Haba R, Shintani N, Onaka Y, Wang H, Takenaga R, Hayata A, et al. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behav Brain Res*. 2012;
200. J. Kastin A, Pan W. Concepts for Biologically Active Peptides. *Curr Pharm Des*. 2010;
201. Jyonouchi H, Sun S, Itokazu N. Innate immunity associated with inflammatory responses and cytokine production against common dietary proteins in patients with autism spectrum disorder. *Neuropsychobiology*. 2002;
202. 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;
203. Theoharides TC, Stewart JM, Panagiotidou S, Melamed I. Mast cells, brain inflammation and autism. *Eur J Pharmacol*. 2016;

204. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. 2010.
205. Masi A, Quintana DS, Glozier N, Lloyd AR, Hickie IB, Guastella AJ. Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2015;
206. Hu CC, Xu X, Xiong GL, Xu Q, Zhou BR, Li CY, et al. Alterations in plasma cytokine levels in chinese children with autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2018;
207. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann Neurol*. 2005;
208. Mostafa GA, Al-Ayadhi LY. The relationship between the increased frequency of serum antineuronal antibodies and the severity of autism in children. *Eur J Paediatr Neurol*. 2012;
209. de Souza DF, Wartchow K, Hansen F, Lunardi P, Guerra MC, Nardin P, et al. Interleukin-6-induced S100B secretion is inhibited by haloperidol and risperidone. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2013;
210. Steiner J, Schroeter ML, Schiltz K, Bernstein HG, Müller UJ, Richter-Landsberg C, et al. Haloperidol and clozapine decrease S100B release from glial cells. *Neuroscience*. 2010;
211. Beharier O, Kahn J, Shusterman E, Sheiner E. S100B a potential biomarker for early detection of neonatal brain damage following asphyxia. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2012.

EKLER

EK-1. Sosyodemografik Veri Formu

Tarih: / /

SOSYODEMOGRAFİK VERİ FORMU

Çocuğunuzun adı-soyadı:

Doğum tarihi:

Çocuğunuzun cinsiyeti:

Telefon no:

Baba yaşı-mesleği-eğitim durumu:

Anne yaşı-mesleği-eğitim durumu:

Yaşadığı yer: 1) köy 2)ilçe 3)il

Kardeş sayısı:

Çocuğunuzun okul düzeyi:

1) gitmiyor 2)ilkokula gidiyor 3) anaokuluna-kreşe gidiyor 4)ortaokula gidiyor

Özel eğitime gidiyor mu? 1)evet 2)hayır

Anne-Baba birlikte mi?

1) Birlikte 2) Evli ama Ayrı Yaşıyor 3)Anne Vefat Etmiş 2)Baba Vefat Etmiş 5)Boşanmış

Çocuk kiminle yaşıyor) 1)ailesiyle 2)yurtta 3)akrabalarıyla

Ailenin tipi: 1)Çekirdek 2)Geniş

Anne-baba arasında akrabalık var mı? 1)var 2)yok

Ailenin toplam geliri ne kadar? 1) 1000 tl'den az 2)1000-3000 tl 3)3000tl'den fazla

Çocuğunuzun kronik fiziksel bir hastalığı var mı?

1)yok 2)var,hastalığı.....

Çocuğunuzun sürekli kullandığı bir ilaç var mı?

1)yok 2)var,adı.....

Ailenizde psikiyatrik hastalığı olan kimse var mı? 1)yok 2)var,.....

GELİŞİM DEĞERLENDİRME FORMU

Çocuğun adı-soyadı:

Yaşı: Cinsiyeti:

DOĞUM ÖNCESİ:

Kaçıncı gebelik/çocuk:

Gebelik oluşması için tedavi aldınız mı?

Planlı-istenen bir gebelik miydi? 1)Evet 2)Hayır

Gebeliğinizde herhangi bir ilaç kullandınız mı? 1)Evet
2)Hayır

Gebeliğinizde sigara/alkol kullandınız mı? 1)Evet 2)Hayır

DOĞUM:

Zamanında doğdu mu?

Doğum şekli? 1)NSVD 2)C/S

Oksijensiz kalma-morarma oldu mu? 1)Evet 2)Hayır

Küvözde kaldı mı? 1)Evet 2)Hayır

Sarılığı oldu mu? 1)Evet 2)Hayır

Doğum kilosı:

DOĞUM SONRASI:

Anne sütü aldı mı? 1)Evet 2)Hayır

Aldıysa tek başına anne sütü ne kadar aldı?

Biberonla beslendi mi? 1)Evet 2)Hayır

Hazır formül mamalara ne zaman geçti?

İnek sütüne ne zaman geçti?

Unlu gıdalara ne zaman geçti?

Emzik kullandı mı? 1)Evet 2)Hayır

Ek gıdaya geçerken güçlük yaşadı mı? 1)Evet 2)Hayır

Bebekliğinde,

-sık ishal olur muydu? 1)Evet 2)Hayır

-sık kabız olur muydu? 1)Evet 2)Hayır

-sık kusması olur muydu? 1)Evet 2)Hayır

-sık karın ağrısı olur muydu? 1)Evet 2)Hayır

Zor beslenen bir bebek miydi? 1)Evet 2)Hayır

Besinlerde seçiciliği var mıydı? 1)Evet 2)Hayır

Destekli oturması ne zaman oldu?

Desteksiz oturması ne zaman oldu?

Kaç aylıkken emekledi?

Kaç aylıkken yürüdü?

Kaç aylıkken konuştu?

Ne zaman tuvalet alışkanlığı kazandı?

Herhangi bir besin alerjisi var mı? 1)Evet,..... 2)Hayır

Şu anda,

-sık ishal olur mu? 1)Evet 2)Hayır

-sık kabız olur mu? 1)Evet 2)Hayır

-sık kusması olur mu? 1)Evet 2)Hayır

-sık karın ağrısı olur mu? 1)Evet 2)Hayır

Belli kıvamdaki yiyecekleri reddeder mi? 1)Evet 2)Hayır

Çocuğunuz normal diyetinde kaç çeşit yiyeceği rahatlıkla yiyebilir

1)5'den az 2)6-10 3)11-20 4)21-30 5)30'dan fazla

EK-3. CARS Çocukluk Otizminin Derecelendirme Ölçeği

C.A.R.S

ÇOCUKLUK OTİZMİNİ DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

Adı, Soyadı:				Cinsiyet:	
Test Tarihi:	Yıl:	Ay:	Gün:		
Doğum Tarihi:	Yıl:	Ay:	Gün:		
Takvim Yaşı:	Yıl:	Ay:			
Değerlendiren:					

Kategorileri Dereceleme Puanları

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	Toplam
---	----	-----	----	---	----	-----	------	----	---	----	-----	------	-----	----	--------

Toplam Puan

15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51	54	57	60
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Otistik değil

Hafif otistik

Ağır derecede otistik

CARS Değerlendirme Formu

Her bir kategori için her bir ölçeğin altında bırakılan yeri kullanınız. Çocuğu gözlemlemeyi bitirdikten sonra, ölçeğin maddeleri ile ilgili davranışları değerlendiriniz. Her madde için çocuğu en iyi biçimde tanımlayan ifadenin numarasını daire içine alınız. İki ifade arasında değerlendirmeniz gerekiyorsa 1.5, 2.5, 3.5 değerlerinden birini kullanabilirsiniz. Her ölçek için kısaltılmış değerlendirme ölçütü gösterilmiştir. Ayrıntılı dereceleme için el kitabının ikinci bölümüne bakınız.

I. İNSANLARLA İLİŞKİ

1. İnsanlarla ilişki kurmada bir anormallik ya da zorluk belirtisi yok: Çocuğun davranışı yaşına uygun. Bir şey yapması istendiğinde utangaçlık, mazmızlık ya da rahatsızlık belirtileri gözlemlenir, ancak bunlar atipik derecede değildir.

1,5

2. Hafif derecede anormal ilişki: çocuk yetişkinin gözüne bakmaktan kaçınabilir ya da etkileşime zorlandığı zaman huyuzlanabilir. çok utangaç olabilir, yetişkine tipik tepkiler vermeyebilir ya da yaşatlarından daha fazla anne-babaya yapışabilir.

2,5

3. Orta derecede anormal ilişki: çocuk zaman zaman çevreden kopmuş (yetişkinin farkında değili) gibi görünür. Çocuğun dikkatini çekebilmek için zaman zaman ısrarlı ve zorlayıcı girişimler gerekir. Çok az ilişki çocuk tarafından başlatılır.

3,5

4. Ağır derecede anormal ilişki: çocuk sürekli bir şekilde çevreden kopuktur ya da yetişkinin ne yaptığına farkında değildir. Hemen hemen hiçbir zaman yetişkine tepki vermez ya da yetişkinle ilişki başlatmaz. Çocuğun dikkatini çekmek için ancak çok ısrarlı girişimlerin bir etkisi olabilir.

Gözlemler:

II. TAKLİT

1. Uygun taklit: çocuk beceri düzeyine uygun ses, kelime ve hareketleri taklit edebilir.

1,5

2. Hafif derecede anormal taklit: çocuk çoğu zaman el çırpma, tek ses çıkartma gibi basit davranışları taklit eder; bazen sadece zorlandıktan sonra ya da gecikmeli olarak taklit eder.

2,5

3. Orta derecede anormal taklit: çocuk ancak anasıra taklit eder ve bu, yetişkinin yoğun yardım ve ısrarını gerektirir; taklit çoğunlukla gecikmeli olarak ortaya çıkar.

3,5

4. Ağır derecede anormal taklit: Çocuk yetişkinin ısrar ve yardımına rağmen sesleri, kelimeleri, hareketleri çok seyrek taklit eder ya da hiç emez.

Gözlemler:

III. DUYGUSAL TEPKİLER:

1. Yaş ve duruma uygun duygusal tepkiler: çocuk duygusal tepkilerini uygun tarz ve derecede yüz ifadesi, duruş ve davranış değişikliği ile gösterir.

1,5

2. hafif derecede anormal duygusal tepkiler: ara sıra çocuk kısmen uygun olmayan tarz ve derecede duygusal tepkiler gösterir. Tepkiler bazen, tepkileri çevreleyen nesneler ve olaylarla ilişkili değildir.

2,5

3. orta derecede anormal duygusal tepkiler: çocuk belirgin olarak uygun olmayan tarz ve derecede duygusal tepkiler gösterir. Tepkiler azalmış ya da abartılı ya da durumla bağınırsız olabilir; duygu uyandıran belirgin olaylar ve nesneler olmasa bile yüz buruşuma, gülme ya da kaskatı kesilme görülebilir.

3,5

4. ağır derecede anormal duygusal tepkiler: tepkiler nadiren duruma uygundur; çocuk belirli bir duygu durumunda iken bu durumu değiştirmek çok zordur. Buna karşın, hiçbir şey değışmediği halde aşırı duygu değışiklikleri gösterebilir.

Gözlemler:

IV. BEDENİN KULLANIMI

1. bedenin yaşa uygun kullanımı: çocuk normal yaşları ile aynı rahatlık, çeviklik ve koordinasyonla hareket eder.

1,5

2. bedenin hafif derecede anormal kullanımı: hantallık, yineleyici hareketler, koordinasyon zayıflığı gibi küçük, kendine özgü tuhaflıklar olabilir ya da seyrek olarak alışılmadık beden hareketlerine rastlanabilir.

2,5

3. bedenin orta derecede anormal kullanımı: bu yaştaki bir çocuk için alışılmadık ya da belirgin derecede garip olan parmak hareketleri, tuhaf parmak ve vücut duruşu, bedenin bir parçasına takılıp kalma ya da çimdikleme, kendine yönelik saldırganlık, sallanma, dönme, parmak oynatma, ayakucularında yürüme gibi davranışlar görülebilir.

3,5

4. bedenin ağır derecede anormal kullanımı: yukarıda sıralanan hareketlerin sık ya da yoğun görülmesi, bedenin ağır derecede anormal kullanımının belirtileridir. Bu davranışlar, bunları engelleme ya da çocuğu başka etkinlikler içine sokma girişimlerine karşın ısrarlı bir devamlılık gösterebilir.

Gözlemler:

V. NESNE KULLANIMI

1. oyuncak ve diğer nesnelere uygun ilgi ve kullanım: çocuk kendi beceri düzeyine uygun oyuncaklar ve diğer nesnelere normal ilgi gösterir ve bu oyuncakları normal şekilde kullanır.

1,5

2. oyuncak ve diğer nesnelere hafif derecede uygun olmayan ilgi ve kullanım: çocuk bir oyuncaka atipik bir ilgi gösterebilir ya da onunla uygun olmayan bebeksi biçimde oynar (oyuncaka vurma, emme gibi)

2,5

3. oyuncak ve nesnelere orta derecede uygun olmayan ilgi ve kullanım: çocuk oyuncaklara ve diğer nesnelere çok az ilgi gösterebilir ya da bir oyuncak ya da nesneyi tuhaf bir şekilde kullanmaya kendini kapırmış olabilir. Oyuncanın önemsiz bir parçasına odaklanabilir, nesnenin yansıttığı ışıktan çok hoşlanabilir. Yineleyici bir biçimde oyuncanın bazı kısımlarını hareket ettirebilir ya da yalnızca bir nesne ile yoğun bir şekilde oynar.

3,5

4. oyuncak ve nesnelere ağır derecede uygun olmayan ilgi ve kullanım: çocuk yukarıdaki davranışları daha sık ve yoğun olarak gösterebilir. Bu uygun olmayan etkinliklere kendini kaptırdığında çocuğun dikkatini başka bir tarafa çekmek zordur.

Gözlemler:

VI. DEĞİŞİKLİĞE UYUM

1. değişikliğe yaşa uygun uyum: çocuk alıştığı düzendeki değişiklikleri fark edebilir ya da bunları (sözel olarak) belirtirlerse de yersiz rahatsızlık göstermeden bu değişiklikleri kabul eder.

1,5

2. değişikliğe hafif derecede anormal uyum: yetişkin yapılan etkinliği değiştirmeye kalktığı zaman çocuk aynı etkinliğe ya da aynı araç gereci kullanmaya devam eder.

2,5

3. değişikliğe orta derecede anormal uyum: çocuk alıştığı düzendeki değişikliklere etkin olarak direnir, eski etkinliğe devam etmeye çalışır, dikkatini başka tarafa çekmek zordur. Düzen değiştirildiği zaman mutsuz ve öfkeli olabilir.

3,5

4. değişikliklere ağır derecede anormal uyum: çocuk değişikliğe ağır tepkiler verir. Eğer değişikliğe zorlanırsa çok fazla kızabilir ya da işbirliği yapmaz ve öfke nöbetleri ile tepki verebilir.

Gözlemler:

VII. GÖRSEL TEPKİ

1. yaşa uygun görsel tepki: çocuğun görsel davranışları normaldir ve yaşına uygundur. Görmek, yeni bir nesneyi keşfetmek için diğer duygularla birlikte kullanılır.

1,5

2. hafif derecede anormal görsel tepki: çocuğa zaman zaman nesnelere bakması hatırlatılmalıdır. Arkadaşları yerine ışığa ya da aynaya bakmakla daha çok ilgilenebilir, ara sıra boşluğa gözünü dikip bakabilir ya da insanların gözlerine bakmaktan kaçınabilir.

2,5

3. orta derecede anormal görsel tepki: çocuğa sık sık yaptığını bakması hatırlatılmalıdır. Boşluğa gözünü dikip bakabilir. İnsanlara gözüne bakmaktan kaçınabilir, nesnelere alışılmadık bir açıdan bakabilir, nesneleri gözlerine çok yakın tutabilir.

3,5

4. ağır derecede anormal görsel tepki: çocuk ısrarlı bir şekilde insanlar ya da belirli nesnelere bakmaktan kaçınır ve yukarıda tanımlanan diğer görsel tepkilerin aşırı biçimlerini sergiler.

Gözlemler:

VIII. DİNLEME TEPKİSİ

1. **yaşa uygun dinleme tepkisi:** çocuğun dinleme davranışı normal ve yaşına uygundur. Dinleme diğer duyu organlarıyla birlikte kullanılır.

1,5

2. **hafif derecede anormal dinleme tepkisi:** belirli seslere karşı hafif tepkisizlik gösterebilir ya da hafif derecede fazla tepki verebilir. Seslere tepkiler gecikebilir, çocuğun dikkatini çekebilmek için sesin tekrar edilmesi gerekebilir. Çocuğun dikkatli yabancı (dışarı gelen) seslerle dağulanabilir.

2,5

3. **orta derecede anormal dinleme tepkisi:** çocuğun seslere tepkileri değişkenlik gösterir, ilk birkaç defada sesi duymazlıktan gelebilir, bazı günlük sesleri işittiği zaman ürkebilir ya da kulaklarını kapatabilir.

3,5

4. **ağır derecede anormal dinleme tepkisi:** çocuk sesin türünden bağımsız olarak, seslere karşı aşırı derecede tepkisel ya da tepkisiz davranabilir.

Gözlemler:

IX. TATMA, KOKLAMA, DOKUNMA TEPKİSİ ve KULLANIMI

1. **tatma, koklama ve dokunmaya normal tepki ve kullanımı:** çocuk yeni nesneleri yaşına uygun şekilde, genellikle bakarak ve hissederek keşfeder. Tatma ve koklama duyu organlarını gerektğinde kullanabilir. Küçük gündelik acı veren durumlar karşısında çocuk rahatsızlığını belirtir, ancak aşırı tepki göstermez.

1,5

2. **tatma, koklama ve dokunmaya hafif derecede anormal tepki ve kullanımı:** çocuk nesneleri ısrarla bir şekilde ağzına koyabilir, yenmeyen nesneleri koklayabilir, tadabilir, normal çocukların rahatsızlık ifade ettikleri orta şiddetli ağrıları fark etmiyor gibi davranabilir ya da aşırı tepki verebilir.

2,5

3. **tatma, koklama ve dokunmaya orta derecede anormal tepki ve kullanımı:** çocuk insanlara ya da nesnelere dokunma, koklama ve tatmaya yönelik orta derecede bir eğilim gösterebilir, çok az ya da çok fazla tepki verebilir.

3,5

4. **tatma, koklama ve dokunmaya ağır derecede anormal tepki ve kullanımı:** çocuk normal kullanım ve keşfetme yerine sadece duymasına amacıyla nesneleri koklar, tadar ya da onlara dokunur. Çocuk ağrıyı (acıyı) tümüyle algılamaz görünür ya da hafif derecede rahatsızlık veren durumlarda çok aşırı tepki verir.

Gözlemler:

X. KORKU YA DA SINIRLILIK

1. **normal korku ya da sınırlılık:** çocuğun davranışları hem yaşına hem de durumuna uygundur.

1,5

2. **hafif derecede anormal korku ya da sınırlılık:** çocuk aynı yaş ve benzer durumdaki çocuğun tepkileri ile karşılaştırıldığında, ara sıra çok az ya da çok fazla korku ve sınırlılık gösterir.

2,5

3. **orta derecede anormal korku ya da sınırlılık:** çocuk benzer durumdaki daha küçük bir çocuk için bile tipik olandan biraz daha az ya da biraz daha fazla korku gösterir.

3,5

4. **ağır derecede anormal korku ya da sınırlılık:** zamansız olaylar ve nesnelere ilişkin yineleyici deneylerden sonra bile korku sürer. Çocuğu sakinleştirmek ya da rahatlatmak çok zordur. Buna karşın çocuk aynı yaştaki diğer çocukların kaçtığı tehlikelere karşı uygun davranışı göstermekte başarısızdır.

Gözlemler:

XI. SÖZEL İLETİŞİM

1. **yaş ve duruma uygun normal sözel iletişim.**

1,5

2. **hafif derecede anormal sözel iletişim:** konuşma genel olarak gerilik gösterir. Konuşmanın çoğu anlamlıdır, ancak ekolali ve kişi zamirlerinin ters kullanımı görülebilir. Bazı özel sözcükler ve jargon kullanılabilir.

2,5

3. **orta derecede anormal sözel iletişim:** konuşma olmayabilir. Konuşma olsa da sözel iletişim, "anlamlı konuşma" ile "jargon, ekolali, zamir değiştirme gibi kendine özgü konuşma" karışımından oluşabilir. Anlamlı konuşmada yoğun soru sorma ve belirli konular üzerinde ısrarla durma gibi özellikler görülebilir.

3,5

4. **ağır derecede anormal sözel iletişim:** anlamlı konuşma kullanılmaz. Çocuk bebeksi sesler, tuhaf ya da hayvan seslerine benzer sesler, konuşmaya yakın karmaşık sesler çıkarabilir ya da tanıdık kelimeler ve cümlelerin tuhaf kullanımı görülebilir.

Gözlemler:

XII. SÖZEL OLMAYAN İLETİŞİM

1. sözel olmayan iletişimin yaşa ve duruma uygun normal kullanımı.

1,5

2. sözel olmayan iletişimin hafif derecede anormal kullanımı: sözel olmayan iletişimin olgunlaşmamış kullanımı; yaşatlarının istediklerini daha belirgin işaret ettikleri ya da gösterdikleri durumlarda çocuk belirsizce işaret edebilir ya da istediğine uzanabilir.

2,5

3. sözel olmayan iletişimin orta derecede anormal kullanımı: çocuk genellikle isteklerini ya da gereksinimlerini sözel olmayan şekilde ifade edemez ve diğerlerinin sözel olmayan iletişimini anlayamaz.

3,5

4. sözel olmayan iletişimin ağır derecede anormal kullanımı: çocuk sadece belirgin bir anlamı olmayan garip ya da özel jestler kullanır ve diğerlerinin yüz ifadelerinin ya da jestlerinin farkında değildir.

Gözlemler:

XIII. ETKİNLİK DÜZEYİ

1. yaşa ve koşullara uygun normal etkinlik düzeyi: çocuk benzer koşuldaki normal bir yaşıtımdan ne daha fazla ne de daha az hareketlidir.

1,5

2. hafif derecede anormal etkinlik düzeyi: çocuk hafif derecede huzursuzdur ya da biraz "tembelce" ve yavaş hareket edebilir. Çocuğun etkinlik düzeyi performansını hafifçe etkiler.

2,5

3. orta derecede anormal etkinlik düzeyi: çocuk oldukça aktiftir ve onu zapt etmek zordur. Sınırsız enerjisi olabilir ve uykuya dalmakta güçlük çeker. Buna karşın, çocuk oldukça hareketsiz olabilir ve harekete geçirebilmek için oldukça fazla çaba gerekebilir.

3,5

4. ağır derecede anormal etkinlik düzeyi: çocuk hareketlilik ya da hareketsizliğin en uç noktalarındadır ve bir aşım uçtan diğerine geçebilir.

Gözlemler:

XIV. ZİHİNSEL TEPKİLERİN DÜZEYİ VE TUTARLILIĞI

1. normal ve pekçok alanda uygun tutarlılık gösteren zeka: çocuk aynı yaştaki tipik çocuklar kadar zekidir ve olağan dış zihinsel becerileri ya da problemleri yoktur.

1,5

2. hafif derecede anormal zihinsel işlevsellik: çocuk aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değildir, yaklaşık tüm alanlarda beceriler aynı düzeyde gerilik gösterir.

2,5

3. orta derecede anormal zihinsel işlevsellik: çocuk genel olarak aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değildir ancak bir yada daha fazla alanda normale yakın işlevsellik gösterebilir.

3,5

4. ağır derecede anormal zihinsel işlevsellik: çocuk aynı yaştaki tipik bir çocuk kadar zeki değilken, zihinsel gelişimin bir ya da daha fazla alanında normal bir çocuktan bile daha iyi işlev gösterebilir.

Gözlemler:

XV. GENEL İZLENİMLER

1. otizm yok: çocuk otizme özgü belirtilerin hiçbirini göstermez.

1,5

2. hafif otizm: çocuk yalnızca az sayıda ya da yalnızca hafif derecede otizm belirtileri gösterir.

2,5

3. orta derece otizm: çocuk belirli sayıda ya da orta derecede otizm belirtileri gösterir.

3,5

4. ağır otizm: çocuk otizm belirtilerinden çoğunu ya da ağır derecede otizm gösterir.

Gözlemler: