

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΥΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΑΥΤΙΣΜΟ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ



ΕΞΑΡΧΟΠΟΥΛΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ :

Επιβλέπων: Κυριακού Αδαμαντίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια

Μέλη: Γιαννακούλια Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2011

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Τίτλος : «ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ
ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ
ΜΕ ΑΥΤΙΣΜΟ»

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2011

EΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ολόψυχα την επιβλέπουσα καθηγήτρια της πτυχιακής μου εργασίας, κυρία Αδαμαντίνη Κυριακού και την συνεπιβλέπουσα καθηγήτρια, κυρία Μαίρη Γιαννακούλια, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν αναθέτοντάς μου αυτήν την εργασία καθώς και για την αμέριστη υποστήριξη τους καθόλη τη διάρκεια της ερευνητικής και συγγραφικής πορείας της μελέτης.

Τις θερμότερες ευχαριστίες μου θα ήθελα ακόμα να εκφράσω στις κυρίες Μήτσου Εύη και Katia Turrunen για την απεριόριστη βοήθεια τους κατά τη διάρκεια των πειραμάτων στο Εργαστήριο Βιολογίας Βιοχημείας Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και για την ακούραστη επιθυμία τους να διευκολύνουν τις πειραματικές μας προσπάθειες.

Η εργασία αυτή αποτέλεσε αντικείμενο ομαδικής δουλείας και προσπάθειας για αυτό οφείλω να ευχαριστήσω τους συναδέλφους Αγάπη Κυριακίδου και Δημήτρη Παπακυριαζή για την άψογη συνεργασία μας και ιδιαίτερα την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Στέλλα Κοϊνάκη με την οποία μοιράστηκα τις δύσκολες αλλά και πολύ ευχάριστες στιγμές αυτής της εργασίας. Εύχομαι σε όλους τους καλή σταδιοδρομία και την εκπλήρωση όλων των προσδοκιών τους.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου και τον αδερφό μου για την αγάπη και την υποστήριξη τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου και την εμπιστοσύνη που πάντα δείχνουν σε μένα και τις επιλογές μου. Τέλος, ευχαριστώ θερμά τους αγαπημένους μου φίλους για την έμπρακτη υποστήριξη τους και την αγάπη τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8

Κεφάλαιο 1^ο : ΑΥΤΙΣΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

1.1	Ορισμός.....	8
1.2	Ιστορική Αναδρομή.....	8
1.3	Επιπολασμός.....	9
1.4	Διάκριση αυτιστικών διαταραχών.....	11
1.5	Συμπτωματολογία και διάγνωση.....	13
1.6	Αιτιολογία της νόσου.....	18
1.7	Θεραπεία.....	20

Κεφάλαιο 2^ο : ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ

2.1	Εντερική μικροχλωρίδα.....	22
2.2	Σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας.....	22
2.3	Λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας.....	23
2.4	Παράγοντες που επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα.....	27

Κεφάλαιο 3^ο : ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ

3.1	Εισαγωγή – οξυγαλακτικά βακτήρια.....	28
3.2	Λακτοβάκιλλοι (<i>Lactobacillus spp.</i>).....	29
3.3	Μπιφιδοβακτήρια (<i>Bifidobacterium spp.</i>).....	31

Κεφάλαιο 4^ο : ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΑΥΤΙΣΜΟ

4.1	Εισαγωγή.....	32
4.2	Εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού....	32
4.3	Γαστρεντερολογικά συμπτώματα παιδιών με αυτιστικές διαταραχές...33	

Κεφάλαιο 5^ο : ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΑΥΤΙΣΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

5.1	Εισαγωγή.....	36
5.2	Διατροφικές διαταραχές παιδιών με αυτισμό.....	36
5.3	Διατροφικά προβλήματα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές κατά τη διάρκεια του γεύματος.....	38
5.4	Συσχέτιση διατροφικών προβλημάτων με τη διαιτητική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό.....	39

3. ΣΚΟΠΟΣ.....	40
-----------------------	-----------

4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Κεφάλαιο 6 ^ο :	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	42
Κεφάλαιο 7 ^ο :	ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	
7.1	Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	43
7.2	Αξιολόγηση διαιτητικής πρόσληψης.....	43
7.3	Δειγματοληψία κοπράνων	44
Κεφάλαιο 8 ^ο :	ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ	
8.1	Θρεπτικά υλικά καλλιέργειας και απομόνωσης.....	45
8.2	Μέσο αραίωσης.....	47
8.3	Επεξεργασία του δείγματος υπό αναερόβιες συνθήκες.....	47
Κεφάλαιο 9 ^ο :	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΑΠΟΙΚΙΩΝ.....	49
Κεφάλαιο 10 ^ο :	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΩΠΟΥ ΚΑΙ ΞΗΡΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ- ΜΕΤΡΗΣΗ pH.....	51
Κεφάλαιο 11 ^ο :	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	51

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κεφάλαιο 12 ^ο :	ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	53
Κεφάλαιο 13 ^ο :	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ.....	54
Κεφάλαιο 14 ^ο :	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ.....	56
Κεφάλαιο 15 ^ο :	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΒΑΡΟΥΣ ΚΑΙ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΕΝΩΣΗΣ ΚΑΙ pH ΚΟΠΡΑΝΩΝ.....	57
Κεφάλαιο 16 ^ο :	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΛΑΚΤΟΒΑΚΙΛΛΩΝ ΜΕ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	58
Κεφάλαιο 17 ^ο :	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΜΠΙΦΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	60
Κεφάλαιο 18 ^ο :	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΜΕΣΟΦΙΛΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ ΜΕ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	62
Κεφάλαιο 19 ^ο :	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΟΜΑΔΕΣ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	63

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	68
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75

1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός : Ο αυτισμός αποτελεί ένα σύνολο αναπτυξιακών διαταραχών που εκδηλώνεται με την εμφάνιση προβλημάτων στην επικοινωνία, την ανάπτυξη κοινωνικών δεξιοτήτων και την εμφάνιση συγκεκριμένων στερεοτυπικών συμπεριφορών. Πλήθος μελετών έχουν συσχετίσει τον αυτισμό με την εκδήλωση γαστρεντερολογικών διαταραχών και την εμφάνιση διαφορών στην εντερική μικροχλωρίδα. Ακόμα, η διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό έχει διερευνηθεί σε σχέση με την πρόσληψη τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών ωστόσο είναι αντικρουόμενα και στο σύνολο τους δεν μπορούν να εκφράσουν έναν συγκεκριμένο τρόπο αλληλεπίδρασης της διατροφικής πρόσληψης με την εντερική μικροχλωρίδα. Σκοπός της μελέτης είναι να διαπιστωθεί η ύπαρξη διαφορών στην διατροφική πρόσληψη και την εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με αυτιστικές διαταραχές σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα, καθώς και να διερευνηθεί η συσχέτιση των δυο αυτών παραγόντων.

Μεθοδολογία : Πρόκειται για αναδρομική μελέτη ασθενών μαρτύρων. Το δείγμα της μελέτης αποτελείται από 37 παιδιά ηλικία 4 έως 10 ετών, από τα οποία τα 17 έχουν διαγνωσθεί, από ειδικούς επιστήμονες υγείας, ότι πάσχουν από αυτιστικές διαταραχές και τα 20 εμφανίζουν τυπική ανάπτυξη. Η διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε από τριήμερα ημερολόγια καταγραφής τροφίμων τα οποία συμπληρώθηκαν από τους γονείς των παιδιών και τα θρεπτικά συστατικά που μελετήθηκαν είναι η ενέργεια, το ποσοστό των υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιπαρών οξέων, κορεσμένων λιπαρών οξέων, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, η ποσότητα των διαιτητικών ινών, του ασβεστίου και της βιταμίνης C. Ο προσδιορισμός της εντερικής μικροχλωρίδας των παιδιών του δείγματος πραγματοποιήθηκε με εργαστηριακή επεξεργασία δείγματος κοπράνων και οι μικροοργανισμοί που μελετήθηκαν ήταν οι λακτοβάκιλλοι, τα μπιφιδοβακτήρια και τα ολικά αναερόβια μεσόφιλα βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας. Για την επεξεργασία των διατροφικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Nutritionist PRO, version 2.2 (Axxya Systems-Nutritionist Pro, Stafford, TX, USA), το οποίο αποτελεί βάση δεδομένων σύστασης τροφίμων του οποίου στηρίζεται κυρίως στους Πίνακες Ανάλυσης Τροφίμων του USDA (US Department of Agriculture). Ενώ για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS Statistics 18.0 (Statistics – Statistical Package for Social Sciences).

Αποτελέσματα : Τα αποτελέσματα της μελέτης δεν αναδεικνύουν καμία σημαντική διαφορά στην διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό και με τυπική ανάπτυξη. Αναφορικά με τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν, ο συνολικός αριθμός των αναερόβιων μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας και των μπιφιδοβακτηρίων δεν φαίνεται να διαφέρει ανάμεσα στις δυο ομάδες καθώς η διαφορά των μέσων όρων των δεκαδικών λογαρίθμων δεν διαφέρει. Ωστόσο, οι λακτοβάκιλλοι των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές ($5,00 \pm 0,98 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / \text{g}$ κοπράνων) σε σχέση με των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών ($4,20 \pm 1,30 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / \text{g}$ κοπράνων), φαίνεται ότι έχουν μια τάση να διαφέρουν σε σημαντικό βαθμό ($p=0,069$). Τέλος, στο σύνολο του πληθυσμού φαίνεται η ύπαρξη ελαφριάς συσχέτισης των λακτοβακίλλων με το ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της διατροφής ($r = 0,426$, $p= 0,021$), ωστόσο η συσχέτιση αυτή δεν υπάρχει στις δυο επιμέρους ομάδες όταν αυτές διακριθούν. Τέλος μόνο στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά εμφανίζεται σημαντική αύξηση των ολικών αναερόβιων μεσόφιλων βακτηρίων όταν αυξάνεται η πρόσληψη των κορεσμένων λιπαρών οξέων της διατροφής ($r = 0,588$, $p= 0,017$).

Συμπέρασμα : Σύμφωνα με την μελέτη δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στην διατροφική πρόσληψη και την εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών με αυτισμό σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα της μελέτης με εξαίρεση τους λακτοβακίλλους οι οποίοι έχουν εμφανιστεί και σε άλλες μελέτες ότι είναι αυξημένοι στις αυτιστικές διαταραχές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : ΑΥΤΙΣΜΟΣ

1.1 Ορισμός

Ο αυτισμός αποτελεί μια διάχυτη νευρολογική διαταραχή της ψυχολογικής ανάπτυξης του ατόμου, η οποία χαρακτηρίζεται από επιφυλακτική κοινωνική συμπεριφορά, προβλήματα στην επικοινωνία και την κοινωνική αλληλεπίδραση. Συχνά συνοδεύεται από επιληψία και γνωστικά ελλείμματα, ενώ οι δυσκολίες και η βαρύτητα της νόσου ποικίλουν από άτομο σε άτομο και αποτελούν χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την συνολική λειτουργικότητα του ατόμου.(Parris M. Kidd,2002)

Ο αυτισμός είναι μια από τις πιο δυσνόητες και αινιγματικές καταστάσεις, καθώς τόσο η αιτιολογία όσο και η θεραπεία του δεν έχουν προσδιοριστεί. Η διαταραχή εκδηλώνεται κατά τα τρία πρώτα χρόνια της ζωής και εξακολουθεί να υφίσταται μέχρι την ενηλικίωση.(Parris M. Kidd,2002)

1.2 Ιστορική Αναδρομή

Ο όρος «αυτισμός» προέρχεται από την ελληνική λέξη «εαυτός» και υποδηλώνει την απομόνωση ενός ατόμου στον εαυτό του. Αρχικά, ο όρος χρησιμοποιήθηκε από τον Ελβετό ψυχίατρο Eugen Bleuler το 1911, για να χαρακτηρίσει κάποια άτομα με σχιζοφρένεια που είχαν χάσει την επαφή με την πραγματικότητα.(Κάκουρος, Μανιαδάκη, 2005).

Στην συνέχεια, ο Αμερικάνος νευροψυχίατρος Leo Kanner, ήταν ο πρώτος που μελέτησε τον αυτισμό σε μια μελέτη που δημοσίευσε το 1943. Συγκεκριμένα, μελέτησε μια ομάδα έντεκα παιδιών που παρουσίαζαν ως κύρια χαρακτηριστικά την μοναχική απασχόληση, την εμμονή στη διατήρηση σταθερότητας περιβάλλοντος και άγχος αλλαγής, ψυχαναγκαστική επανάληψη κινήσεων ή άλλων τελετουργικών συμπεριφορών, συμπεραίνοντας ότι συνιστούν συμπτώματα μιας ιδιαίτερης διαταραχής, την οποία ο ίδιος ονόμασε αυτισμό.

Έναν χρόνο αργότερα, ένας ιατρός στην Αυστρία ο Hans Asperger, δημοσίευσε μια νέα εργασία στην οποία αναφερόταν σε μια διαταραχή με παρόμοια συμπτωματολογία, στην οποία ωστόσο εντοπίζονταν και σημαντικές διαφορές, καθώς το δείγμα των παιδιών που μελέτησε παρουσίαζε καλύτερη ικανότητα ομιλίας και γνωστικές λειτουργίες, αλλά και αυξημένες κινητικές δυσκολίες. Το σύνδρομο Asperger, σήμερα, αποτελεί για πολλούς ερευνητές μια πιο ήπια μορφή αυτισμού.(L. Wing 1988)

1.3 Επιπολασμός

Από το 1943, όπου για πρώτη φορά πραγματοποιήθηκε διάγνωση αυτιστικών διαταραχών, και για πολλές δεκαετίες ο αυτισμός θεωρούνταν μια σπάνια νευρολογική διαταραχή, με συχνότητα 2 με 4 παιδιά στις 10.000 γεννήσεις. Μεταγενέστερες έρευνες για την συχνότητα του αυτισμού, αναφέρουν μια σημαντική αύξηση του αριθμού των περιστατικών σε 60 παιδιά ανά 10.000 γεννήσεις. Η αύξηση αυτή έχει διερευνηθεί και αποδίδεται σε πολλούς παράγοντες, όπως οι αλλαγές στα διαγνωστικά κριτήρια, η ανάπτυξη της έννοιας της ευρύτητας του αυτιστικού φάσματος, οι διαφορετικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται από κάθε μελέτη, η αυξανόμενη ευαισθητοποίηση τόσο των γονέων όσο και των επαγγελματιών υγείας, η ανάπτυξη εξειδικευμένων υπηρεσιών ενώ τέλος δεν μπορεί να αποκλεισθεί και η δυνατότητα πραγματικής αύξησης του αριθμού των παιδιών με αυτισμό. Διάφορες περιβαλλοντικές αιτίες και ισχυροί γενετικοί παράγοντες αποτελούν τις σημαντικότερες παραμέτρους που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πιθανή πραγματική αύξηση της συχνότητας εμφάνισης των αυτιστικών διαταραχών. (Wing L, Potter D, 2002)

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Καλιφόρνια για την αύξηση της συχνότητας των αυτιστικών διαταραχών από το 1990 μέχρι το 2006, με βάση τα δεδομένα από το Τμήμα Αναπτυξιακών Υπηρεσιών το οποίο συντονίζει τις υπηρεσίες για τα άτομα με αναπτυξιακές διαταραχές, η συχνότητα στα παιδιά αυξήθηκε καθόλη αυτή την περίοδο. Αθροιστικά η συχνότητα σε παιδιά ηλικίας 5 ετών ανά 10.000 γεννήσεις αυξήθηκε σταθερά από 6,2 γεννήσεις το 1990 σε 42,5 για το 2001 γεννήσεις. τα ποσοστά αυτά φαίνεται ακόμα ότι αυξάνονται περισσότερο ανάμεσα στις ηλικίες 2 με 3 ετών και λιγότερα για τα παιδιά που η διάγνωση έγινε σε ηλικία 5 ετών. Ωστόσο και εδώ τα αίτια της αύξησης δεν μπορούν να προσδιοριστούν με σιγουριά.(Hertz-Picciotto I, Delwiche L, 2009)

Σύμφωνα με το ADDM (The Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network), το οποίο οργανώθηκε από το CDC (Centers for Disease Control and Prevention) με

σκοπό να μελετά τον επιπολασμό της νόσου στον πληθυσμό των Η.Π.Α, η συχνότητα εμφάνισης αυτιστικών διαταραχών σε παιδιά ηλικίας 8 ετών έχει αυξηθεί στο χρονικό διάστημα 2000 με 2006 σε περιοχές της χώρας. Συγκεκριμένα το 2000, 4,5 ανά 1000 γεννήσεις εμφάνιζαν αυτιστικές διαταραχές ενώ το 2006 περίπου 9 παιδιά ανά 1000 γεννήσεις. Επιπλέον, σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, τέτοιου είδους διαταραχές εμφανίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα στα αγόρια σε σχέση με τα κορίτσια ίδιας ηλικίας, 5,0 με 16,8 αγόρια ανά 1,000 γεννήσεις σε σχέση με 1,4 με 3,1 κορίτσια ανά 1,000 γεννήσεις. Τέλος δεδομένα που δημοσιεύθηκαν το 2009 από το ίδιο οργανισμό αναφέρουν ότι ο επιπολασμός των αυτιστικών διαταραχών ανέρχεται σε 1 παιδί ανά 110 γεννήσεις.

Ανάλογα είναι τα δεδομένα και από ευρωπαϊκές χώρες, όπως για παράδειγμα στη Νορβηγία όπου σύμφωνα με τον Weidle B. και τους συνεργάτες του ο αριθμός των παιδιών και των εφήβων που διαγνώστηκαν με σύνδρομο Asperger αυξήθηκε από 70 το 2005 σε 121 το 2008 και το 0,35% του συνολικού πληθυσμού της Νορβηγίας ηλικίας 5 έως 18 ετών πάσχουν από αυτιστικές διαταραχές.(Weidle B. et al., 2011)

Αναφορικά με δεδομένα για τον επιπολασμό του συνδρόμου στον ενήλικο πληθυσμό, έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2007 στο Ηνωμένο Βασίλειο σε δείγμα 7.461 εφήβων και ενηλίκων ηλικίας 16 χρονών και άνω, υπολόγισε ότι 9,8 ανά 1000 άτομα πάσχουν από κάποια αυτιστική διαταραχή και ότι συνολικά το ποσοστό των ανδρών με διαταραχές είναι υψηλότερο. (Brugha TS, 2011)

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν έρευνες που μελετούν τον επιπολασμό ανάμεσα σε αδέρφια. Συγκεκριμένα έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ουάσινγκτον των Η.Π.Α σε 2.920 παιδιά από 1.235 οικογένειες, έδειξε ότι στο 10,9% των οικογενειών γεννήθηκε και δεύτερο παιδί με αυτιστική διαταραχή, ενώ το 20% των μη προσβεβλημένων παιδιών εμφάνισε προβλήματα καθυστέρησης στην ομιλία κάποια άλλη αυτιστική συμπεριφορά.(John N. Constantino,2010). Ενώ μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί σε διδύμους, αναφέρει ότι η πιθανότητα να διαγνωσθεί και το δεύτερο αδερφάκι με αυτιστική διαταραχή ύστερα από διάγνωση του πρώτου είναι 31% για τους διζυγωτικούς διδύμους και 88% για τους μονοζυγωτικούς. Ακόμα αν το δεύτερο παιδάκι είναι κορίτσι έχει μικρότερη πιθανότητα, 20% σε σχέση με 40% για τα αρσενικά δίδυμα αδέρφια, να εκδηλώσει αυτιστική διαταραχή σε σχέση με το αρσενικό αδερφάκι. (Rosenberg RE,2009)

Ο προσδιορισμός του επιπολασμού των αυτιστικών διαταραχών στην Ελλάδα δεν είναι εύκολο να προσδιοριστεί καθώς δεν υπάρχουν επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες να διατυπώνουν με ακρίβεια τον αριθμό αυτό. Ωστόσο σύμφωνα με την Ελληνική Εταιρία

Προστασίας Αυτιστικών Ατόμων (Ε.Ε.Π.Α.Α), η συχνότητα του αυτισμού στην Ελλάδα ανέρχεται σε 1 προς 166 άτομα.

1.4 Διάκριση αυτιστικών διαταραχών

Σύμφωνα με το επίσημο διαγνωστικό εγχειρίδιο της Αμερικανικής Ψυχιατρικής Εταιρίας (DSM – IV) ο αυτισμός κατατάσσεται στην κατηγορία των εκτεταμένων εξελικτικών διαταραχών, μιας κατηγορίας νευρολογικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από σοβαρή και εκτεταμένη βλάβη σε αρκετούς τομείς της εξελικτικής ανάπτυξης του παιδιού. Σε αυτήν την κατηγορία περιλαμβάνονται πέντε κλινικές διαγνώσεις: ο αυτισμός, το σύνδρομο Asperger, το σύνδρομο Rett, η Παιδική Διαταραχή Αποδιοργάνωσης και η Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή μη καταχωρήσιμη σε άλλη κλινική κατηγορία.

Ο αυτισμός ή κλασσική αυτιστική διαταραχή, πρόκειται για το συγκεκριμένο είδος αυτισμού το οποίο περιέγραψε το 1940 ο Δρ Kanner. Τα άτομα με κλασσικό αυτισμό χαρακτηρίζονται από διαταραγμένη σκέψη, συναισθήματα και κοινωνική λειτουργία. Παράλληλα, η διαταραχή προσβάλει την ικανότητα του ατόμου να επικοινωνεί, να δημιουργεί σχέσεις με τους άλλους και να ανταποκρίνεται κατάλληλα στο εξωτερικό περιβάλλον. Αποτελεί τη συχνότερη μορφή αυτιστικών διαταραχών και εκδηλώνεται σε παιδιά μέχρι την ηλικία των 3 ετών.

Το σύνδρομο Asperger πρόκειται για μια διαταραχή του φάσματος του αυτισμού και αποτελεί μια ξεχωριστή ομάδα νευρολογικών καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό διαταραχής στη γλώσσα, τις επικοινωνιακές δεξιότητες καθώς και επαναλαμβανόμενα ή περιοριστικά πρότυπα σκέψης και συμπεριφοράς. Τα παιδιά με σύνδρομο Asperger μπορεί συχνά να εμφανίζουν υψηλό επίπεδο λεξιλογίου και τεχνογνωσίας, ωστόσο αυτό μπορεί να μην γίνεται αντιληπτό λόγω των περιορισμένων κοινωνικών δεξιοτήτων τους και των περιορισμένων ενδιαφερόντων τους. Τέλος συχνά παιδιά με σύνδρομο Asperger έχουν ιστορικό με αναπτυξιακές καθυστερήσεις σε κινητικές δεξιότητες. (Sharma S, 2011)

Το σύνδρομο Rett είναι μια σπάνια σχετικά πάθηση που επηρεάζει σχεδόν αποκλειστικά τα κορίτσια με συχνότητα περίπου ένα ανά 10.000 με 15.000 άτομα. Μια μετάλλαξη στην αλληλουχία ενός γονιδίου στο χρωμόσωμα X φαίνεται πως είναι υπεύθυνη για την εκδήλωση της νόσου, η οποία χαρακτηρίζεται από φυσιολογική ανάπτυξη κατά τους 6 με 18 πρώτους μήνες της ζωής του ατόμου μετά το πέρας των οποίων ξεκινά η εκδήλωση των συμπτωμάτων της αυτιστικής διαταραχής. Συγκεκριμένα, εμφανίζονται προβλήματα στην ψυχική και

κοινωνική ανάπτυξη και απομάκρυνση από κάθε είδους κοινωνικής επαφής. Συχνή είναι η εμφάνιση παλινδρόμησης του λόγου, αν αυτός είχε εμφανιστεί πριν την εκδήλωση της νόσου. Επιπλέον, οι ασθενείς αντιμετωπίζουν προβλήματα ατροφίας των μυών και τείνουν να κάνουν επαναλαμβανόμενες κινήσεις του χεριού. Συχνή είναι και η παρουσία καθυστερημένης νοητικής ανάπτυξης σε κάποιο βαθμό, ενώ και η λειτουργικότητα των ατόμων αυτών είναι περιορισμένη, με αποτέλεσμα η βοήθεια και η φροντίδα από κάποιον ειδικό ή από την οικογένεια να θεωρείται δεδομένη καθόλη τη διάρκεια της ζωής του ατόμου. (Percy AK, 2011)

Η Παιδική Διαταραχή Αποδιοργάνωσης είναι ένα είδος διάχυτης αναπτυξιακής διαταραχής, η οποία χαρακτηρίζεται από ποικίλου βαθμού επίδραση στις δεξιότητες επικοινωνίας και τις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και περιορισμένες, επαναλαμβανόμενες και στερεοτυπικές συμπεριφορές. Η συχνότητα εμφάνισης αυτής της διαταραχής είναι μικρή, καθώς πολύ λίγα από τα παιδιά που έχουν διαγνωσθεί με διαταραχή του φάσματος του αυτισμού τηρούν τα κριτήρια για παιδική διαταραχή Αποδιοργάνωσης. Συγκεκριμένα λιγότερο από 2 παιδιά ανά 100.000 πάσχουν από τη διαταραχή αυτή και γενικά είναι πιο συχνή σε άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες. Τα συμπτώματα της νόσου μπορούν να εμφανιστούν στα δυο πρώτα χρόνια της ζωής, ωστόσο η μέση ηλικία έναρξης είναι τριών με τεσσάρων ετών. Μέχρι εκείνη την ηλικία τα παιδιά αναπτύσσονται φυσιολογικά, ενώ μετά την εκδήλωση της νόσου εμφανίζεται απώλεια λεξιλογίου και έντονη απώλεια των κοινωνικών δεξιοτήτων. Τα συμπτώματα είναι πιο δραματικά από τον κλασικό αυτισμό και συχνά εμφανίζεται αδυναμία ελέγχου της ουροδόχου κύστης και χαμηλός δείκτης νοημοσύνης. (Mercadante MT, 2006)

Η Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή μη καταχωρήσιμη σε άλλη κλινική κατηγορία χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα άτομα που δεν πληρούν απολύτως τα κριτήρια για το κλασικό αυτισμό ή το σύνδρομο Asperger. Συχνά θεωρείται ως άτυπος αυτισμός, καθώς κάποιος μπορεί να έχει ήπια συμπτώματα της νόσου ή να έχει συμπτώματα σε μια περιοχή όπως στις κοινωνικές δεξιότητες χωρίς να έχει σε άλλο βασικό τομέα όπως οι περιορισμένες και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές. Τέλος, διαφορές υπάρχουν και στην ηλικία εμφάνισης των συμπτωμάτων της νόσου, καθώς αυτά μπορεί να εμφανιστούν και σε μεγαλύτερες ηλικίες. (Mercadante MT, 2006)

1.5 Συμπτωματολογία και διάγνωση

Πρώτο βήμα για την αντιμετώπιση των αυτιστικών διαταραχών είναι η αναγνώριση των πρώιμων συμπτωμάτων του από την οικογένεια και τους ειδικούς επιστήμονες ψυχικής υγείας προκειμένου το παιδί με αυτιστικές διαταραχές να δεχθεί την σωστή φροντίδα. Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού μπορούν να διαγνωσθούν μέχρι την ηλικία των τριών ετών με παρατήρηση των συμπεριφορών του παιδιού και από την βρεφική ηλικία ακόμα.

Συγκεκριμένα, κατά την βρεφική ηλικία μπορεί να παρατηρηθεί αποστροφή και αδιαφορία προς την φυσική επαφή, όπως η αγκαλιά από τους γονείς. Επιπλέον το βρέφος μπορεί να αποφεύγει την οπτική επαφή με άλλα άτομα και να μην αντιδρά στη φωνή των γονιών του. Συχνή είναι ακόμα η έλλειψη μωρολογίας και η προσπάθεια επικοινωνίας με χειρονομίες μέχρι την ηλικία των 12 μηνών και η αποτυχία να μιλήσουν με απλές λέξεις, όπως μαμά ή μπαμπάς, μέχρι την ηλικία των 12 μηνών. Εξίσου πιθανή είναι επίσης και η απώλεια του λεξιλογίου που έχει αποκτηθεί προηγουμένως, μια διαδικασία που ονομάζεται παλινδρόμηση λόγου και κατά την οποία το παιδί δεν μπορεί να πει ούτε τις κουβέντες που έλεγε πριν.(Judith H Miles, 2006)

Παρά τις πρώτες ενδείξεις η διάγνωση της αυτιστικής διαταραχής πραγματοποιείται μετά το δεύτερο χρόνο της ζωής του παιδιού καθώς οι γονείς δεν επισκέπτονται νωρίτερα τον ιατρό. Έρευνες δείχνουν ότι το 30% περίπου των παιδιών παρουσιάζουν οπισθοδρομική εμφάνιση της νόσου, καθώς ξεκινούν να μιλούν και στη συνέχεια σταδιακά χάνουν την ικανότητα επικοινωνίας και ακολουθεί η εκδήλωση και των υπόλοιπων συμπτωμάτων όπως η άρνηση οπτικής επαφής και η μη ανταπόκριση του παιδιού στο όνομά του καθώς και η εμφάνιση των στερεοτυπικών και επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών. (Lord 2004, Volkmar 2005, Stefanatos 2008)

Σύμφωνα με το DSM, ένα ταξινομητικό εγχειρίδιο κατηγοριοποίησης των ψυχικών διαταραχών το οποίο εκδίδει η Αμερικανική Ψυχιατρική Εταιρία, η εμφάνιση των αυτιστικών διαταραχών σχετίζεται με ανώμαλη λειτουργία σε ένα τουλάχιστον από τα παρακάτω κριτήρια: την κοινωνική αλληλεπίδραση, την γλωσσική επικοινωνία και τις στερεοτυπικές και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές.

Αναφορικά με την κοινωνική αλληλεπίδραση είναι αυτή που κυρίως διαφοροποιεί τα άτομα με αυτιστικές διαταραχές από τα τυπικά αναπτυσσόμενα άτομα. Η επίδραση της διαταραχής στην κοινωνική αλληλεπίδραση καθορίζεται από τη βαρύτητα της διαταραχής. Έτσι στις μορφές αυτισμού τα άτομα αλληλεπιδρούν κοινωνικά, χωρίς ωστόσο να αναγνωρίζουν τα

συναισθήματα και τις ανάγκες των άλλων. Στις πιο σοβαρές περιπτώσεις τα παιδιά μπορεί να είναι εντελώς αποκομμένα ή να εμφανίζουν περιορισμένες αλληλεπιδράσεις κυρίως μηχανικές. Άλλα συμπτώματα που σχετίζονται με τη κοινωνική αλληλεπίδραση είναι η απομόνωση που συχνά εμφανίζουν και η αδυναμία συμμετοχής σε αυθόρμητο παιχνίδι. Τα παιδιά με αυτιστική διαταραχή συχνά αποτυγχάνουν να ξεκινήσουν απλά παιχνίδια με άλλους και να συμμετέχουν σε κοινωνικά παιχνίδια και οι συμπεριφορές τους μπορεί να θεωρηθούν επιθετικές ή να προκαλούν αναστάτωση.

Τα προβλήματα επικοινωνίας και συγκεκριμένα η αδυναμία τους να αναπτύξουν λεκτική επικοινωνία είναι το πρώτο σημάδι που ανησυχεί τους γονείς και τους οδηγεί στο να ζητήσουν ιατρική βοήθεια. Ωστόσο τα προβλήματα στην επικοινωνία μπορεί να είναι και μη λεκτικά καθώς τα παιδιά αδυνατούν να χρησιμοποιήσουν το βλέμμα των ματιών τους και να δείξουν προκειμένου να κατευθύνουν τους γονείς τους σε αυτό που επιθυμούν. Και εδώ η βαρύτητα των συμπτωμάτων εξαρτάται από την σοβαρότητα της διαταραχής. Έτσι είναι δυνατό το παιδί να παρουσιάζει πλήρη έλλειψη λεκτικής ομιλίας ή να αναπτύσσει ομιλία με χρήση μοτίβων που είναι εντελώς προσωπικά. Ακόμα συχνά το παιδί με αυτιστικές διαταραχές μπορεί να αναπτύξει σωστή γραμματικά γλώσσα και ομιλία αλλά να μη μπορεί να διατηρήσει μια συζήτηση με νόημα, να εμφανίζει αδιάκοπη ομιλία για ένα αγαπημένο θέμα του αλλά να μην επιτρέπει την αλλαγή θέματος. Ακόμα, δεν μπορούν να αναγνωρίσουν κοινωνικά χαρακτηριστικά της επικοινωνίας όπως η χρήση των χεριών κατά το λόγο και ακόμα δεν αντιλαμβάνονται το χιούμορ και των υπαινιγμό. Τέλος, συχνά παρατηρείται εμμένουσα ηχολαλία, επαναληπτική χρήση λέξεων και φράσεων που δεν ανταποκρίνονται σε φυσιολογική ανταπόκριση της γλώσσας, καθώς και λανθασμένη χρήση των αντωνυμιών.

Το τελευταίο κριτήριο για την ύπαρξη αυτιστικής διαταραχής σχετίζεται με τη συμπεριφορά. Συχνά τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές παραμένουν προσκολλημένα σε πολύ συγκεκριμένες συνήθειες τις οποίες δεν επιθυμούν να αλλάξουν με τίποτα. Τείνουν να έχουν περιορισμένα ενδιαφέροντα ή να γοητεύονται από συγκεκριμένα αντικείμενα, παιχνίδια ή μέρη του σώματος με τα οποία θέλουν να ασχολούνται. Επίσης συχνή είναι και η τάση τους στην ανάπτυξη επαναλαμβανόμενων κινήσεων του σώματος, των χεριών και του κεφαλιού, αλλά και ανωμαλιών στην στάση του σώματος και στην κίνηση, όπως το περπάτημα στις μύτες.

Ολοκληρώνοντας, ο αυτισμός έχει συσχετισθεί και με μια σειρά άλλων συμπτωμάτων, το οποία έχουν εμφανισθεί σε σημαντικό αριθμό ατόμων με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού. Ένα από αυτά είναι η αυξημένη ή μειωμένη ευαισθησία στον ήχο και την αφή που μπορούν να προκαλέσουν έντονη δυσφορία και μικρότερη αίσθηση του πόνου, καθώς αγνοούν

επώδυνα ερεθίσματα όπως το έγκαυμα. Συχνές είναι και οι διαταραχές στον ύπνο που εμφανίζονται στο 60% των παιδιών με αυτιστική διαταραχή, τα ξεσπάσματα και η εκδήλωση επιθετικών συμπεριφορών μετά από αλλαγή στη ρουτίνα. Προβλήματα μπορούν να εμφανισθούν στην κινητική ανάπτυξη του παιδιού. Η υποτονία, η γενική απροσεξία και η αδιαφορία για το κίνδυνο εμφανίζονται συχνά.

Επιδημιολογική μελέτη από τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων ανέφερε ότι το 44,6% του πληθυσμού με αυτισμό εμφανίζουν νοητική υστέρηση, ενώ το 25% εμφανίζουν επιληπτικές κρίσεις. Αυξημένη είναι η συχνότητα εμφάνισης γαστρεντερολογικών λοιμώξεων, ωτίτιδας, χρόνιων φλεγμονών και μολύνσεων, καθώς και αυτοάνοσων εκδηλώσεων σε οργανικά συστήματα όπως στον εγκέφαλο και στο γαστρεντερολογικό σύστημα (Jepson,2007). Τέλος τα γαστρεντερολογικά προβλήματα είναι εξίσου σημαντικά καθώς 70 – 80% των αυτιστικών παιδιών εμφανίζουν συμπτώματα όπως οι διαρροϊκές κενώσεις και κοιλιακό άλγος.

Η διάγνωση του αυτισμού αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία που πραγματοποιείται με συνεργασία των γονέων με ειδικούς επιστήμονες υγείας. Βάση για τη διάγνωση αποτελούν τα κριτήρια της Αμερικάνικης Ψυχιατρικής Εταιρείας για το Αυτισμό (DSM-IV-TR) και η διάγνωση πραγματοποιείται με βάση τα τρία κριτήρια που αναπτύχθηκαν νωρίτερα, την κοινωνική αλληλεπίδραση, την επικοινωνία και τη συμπεριφορά. Για κάθε ένα από τα παραπάνω έχουν αναπτυχθεί διαφορετικά κριτήρια τα οποία αν πληρούνται πραγματοποιείται για το άτομο διάγνωση για ύπαρξη αυτιστικής διαταραχής.(Πίνακας 1)

Πίνακας 1: Περιγραφή κριτηρίων της Αμερικάνικης Ψυχιατρικής Εταιρείας για το Αυτισμό για τη διάγνωση του αυτισμού. Στην παρένθεση αναγράφεται ο αριθμός των κριτηρίων που πρέπει να εμφανίζονται προκειμένου να πραγματοποιηθεί διάγνωση.

Κοινωνική αλληλεπίδραση (τουλάχιστον 2)	Επικοινωνία (τουλάχιστον 1)	Συμπεριφορά (τουλάχιστον 1)
• Δυσκολίες στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις • Έλλειψη σχέσεων με τους συνομηλίκους • Δεν μοιράζεται τα επιτεύγματά του και τα ενδιαφέροντά του • Δεν απαντά σε συναισθηματικές αλληλεπιδράσεις.	• Καθυστερημένη ή απούσα ανάπτυξη της ομιλούμενης γλώσσας και χειρονομίες • Ανεπαρκείς προσπάθειες να αρχίσουν ή να συνεχίσουν μια συνομιλία • Επαναληπτική, στερεοτυπική ή ιδιαίτερα προσωπική χρήση της γλώσσας. • Απουσία κοινωνικής μίμησης, αυθόρμητου παιχνιδιού	• Έντονη ενασχόληση με μη φυσιολογικά περιορισμένα ενδιαφέροντα • Αυστηρή προσκόλληση σε ρουτίνες ή τελετουργίες • Στερεοτυπικές, επαναλαμβανόμενες κινήσεις σώματος • Επίμονη ενασχόληση με τμήματα των αντικειμένων.

Μετά την πρώτη διάγνωση των αυτιστικών διαταραχών με τη χρήση των παραπάνω κριτηρίων, ειδικά και αναλυτικά τεστ ως προς της γνωσιακές και γλωσσικές ικανότητες πραγματοποιούνται από μια ομάδα ειδικών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα παρακάτω διαγνωστικά τεστ που έχουν αναπτυχθεί ειδικά για τη διάγνωση των αυτιστικών διαταραχών.

- Η κλίμακα κατάταξης αυτισμού σε παιδιά (CARS, Childhood Autism Rating Scale), η οποία αποτελείται από 15 ερωτήσεις οι οποίες απαντώνται από το γονέα ή έναν παροχέα φροντίδας. Χρησιμοποιείται σε παιδιά μεγαλύτερα των δυο ετών για να εκτιμηθούν οι κινήσεις του σώματος, η προσαρμογή στην αλλαγή, η αντίδραση στην ακοή, τη λεκτική επικοινωνία και τις σχέσεις με τους άλλους. Πρόκειται για ένα αξιόπιστο τεστ το οποίο είναι γρήγορο και εύκολο. Η βαθμολογία των 30 με 35 δείχνει ήπιο αυτισμό, ενώ για 36 και πάνω μέτριο ή σοβαρό αυτισμό. (Teal MB, 1986)
- Ο πίνακας ελέγχου για τον αυτισμό σε νήπια (M-CHAT, Modified Checklist for Autism in Toddlers), είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο εργαλείο ελέγχου και αποτελείται από 23 σημεία που στοχεύουν στον εντοπισμό υψηλού κινδύνου για εμφάνιση αυτιστικής διαταραχής σε νήπια έως 18 μηνών. Συμπληρώνεται από τους γονείς, ενώ από πρόσφατες έρευνες έχει επιβεβαιωθεί η εγκυρότητα του στην ανίχνευση αυτιστικών διαταραχών. (Kleinman 2008, Dumont-Mathieu T 2005)
- Η αναθεωρημένη συνέντευξη διάγνωσης αυτισμού (ADI-R, Autism Diagnostic Interview – Revised), είναι μια δομημένη συνέντευξη 100 σημείων που διεξάγεται με τους γονείς ή κάποιο παροχέα φροντίδας και επικεντρώνεται στη επικοινωνία του παιδιού, την κοινωνική αλληλεπίδραση, στις επαναληπτικές συμπεριφορές και τα συμπτώματα στην ηλικία εμφάνισης της διαταραχής. Έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Φιλανδία σε 96 παιδιά με παιδικό αυτισμό ή άλλη αναπτυξιακή διαταραχή έδειξε ότι το τεστ ανιχνεύει το 96% των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές. (Lampi KM, 2010)
- Το πρόγραμμα διαγνωστικής παρατήρησης αυτισμού (ADOS-G, Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic), το οποίο χρησιμοποιείται ως μέτρο παρατήρησης των κοινωνικών και επικοινωνιακών συμπεριφορών που συχνά καθυστερούν ή απουσιάζουν από τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές. (Lord C, 2000). Η εγκυρότητα του συγκεκριμένου διαγνωστικού κριτηρίου διερευνήθηκε και επιβεβαιώθηκε και από μια ομάδα ελλήνων επιστημόνων, σε δείγμα 77 παιδιών και εφήβων με αυτιστικές διαταραχές. (Papanikolaou K, 2009)

1.6 Αιτιολογία της νόσου

Τα αίτια του αυτισμού και οι παράγοντες που επιδρούν στην εκδήλωση του είναι ακόμη και σήμερα δύσκολο να κατανοηθούν και να προσδιοριστούν με ακρίβεια. Έτσι ενώ το αίτιο παραμένει άγνωστο, οι επιστήμονες πιστεύουν ότι νευρολογικές διαταραχές μπορούν να επηρεάζουν την λειτουργία του εγκεφάλου και να σχετίζονται με την εμφάνιση αυτιστικών διαταραχών, καθώς απεικονιστικές εξετάσεις στον εγκεφαλο ανθρώπων με και χωρίς αυτισμό υποδεικνύουν διαφορές στο σχήμα και τη δομή του εγκεφάλου. Διάφορα πιθανά αίτια, όπως η κληρονομικότητα και η γενετική, διάφορες ιατρικές καταστάσεις, η χρήση επικίνδυνων ουσιών κατά την εγκυμοσύνη και περιβαλλοντικοί παράγοντες ελέγχονται προκειμένου να διευκρινιστεί η αιτιολογία των αυτιστικών διαταραχών.

Η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της νόσου τα τελευταία χρόνια οδήγησε στην διερεύνηση των περιβαλλοντικών παραγόντων που σχετίζονται με την εκδήλωση του αυτισμού. Η έκθεση κατά την εμβρυική ζωή σε ουσίες όπως το βαλπροϊκό οξύ, η θαλιδομίδη και η μισοπροστόλη, έχει αναγνωρισθεί ως αιτία του αυτισμού. Έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον Bromley και τους συνεργάτες του το 2008 σε 632 παιδιά που είχαν εκτεθεί σε αντιεπιληπτικά φάρμακα κατά τη διάρκεια της κύησης, έδειξε ότι τα παιδιά που εκτέθηκαν σε βαλπροϊκό οξύ έχουν επτά φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν αυτισμό σε σχέση με εκείνα που δεν είχαν εκτεθεί. Ενώ για τη θαλιδομίδη, εάν η χρονική στιγμή τη έκθεσης συμπίπτει με το κλείσιμο του νευρικού σωλήνα, την τέταρτη με πέμπτη εβδομάδα της κύησης η έκθεση αυτή φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση αυτιστικής διαταραχής. (Rodier και Hyman 1998). Η διευρυμένη χρήση τεχνολογιών τεχνητής αναπαραγωγής και η χρήση τοκολυτικών φαρμάκων έχουν επίσης διερευνηθεί και εντοπίστηκε συσχέτιση. (Knoester 2007, Connors 2005)

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 1978 σε 250 παιδιά που είχαν μολυνθεί με τον ιο της ερυθράς έδειξε ότι το 7% διαγνώστηκε αργότερα με αυτιστική διαταραχή (Chess,1978). Ενώ αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση της διαταραχής εμφανίζουν και παιδιά των οποίων η μητέρα νόσησε από γρίπη ή από τον ιο της ερυθράς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης(Deykin & MacMahon,1979). Μικρός αριθμός μελετών έχει διερευνήσει περιπτώσεις εμφάνισης αυτισμού μετά από μόλυνση της μητέρας από κυτταρομεγαλοϊό (Markowitz 1983,Stubbs 1984), από τον ιο της ιλαράς και παρωτίτιδας (Deykin & MacMahon, 1979), από έρπητα (Ritvo,1990) καθώς και μετά από την εκδήλωση ασθενειών όπως η σύφιλη και η τοξοπλάσμωση (Rutter & Bartak, 1971). Ωστόσο οι έρευνες αυτές αφορούν μικρό αριθμό περιστατικών και δεν επιβεβαιώνουν με εγκυρότητα αιτιολογική σχέση ανάμεσα στον αυτισμό και αυτούς τους παράγοντες.

Μια θεωρία που κυριάρχησε, ύστερα από μελέτη του Wakefield και των συνεργατών του το 1998, προκαλώντας την έντονη ανησυχία των γονέων είναι η συσχέτιση του αυτισμού με ουσίες που περιέχονται στο εμβόλιο της ιλαράς-παρωτίτιδας-ερυθρας (MMR). Παρόλο που πλήθος ερευνών έχουν αποκλείσει αυτή τη συσχέτιση (DeStefano & Thompson 2004, Taylor 2006, Schechter & Grether 2008) πολλοί γονείς αποφεύγουν να εμβολιάσουν τα παιδιά τους θέτοντας σε κίνδυνο την υγεία των παιδιών τους.

Η κληρονομικότητα και η γενετική έχουν μελετηθεί από πλήθος ερευνητών που προσπαθούν να διατυπώσουν την αιτιολογία του αυτισμού. Αποτέλεσμα αυτής της εντατικοποιημένης προσπάθειας είναι η συσχέτιση των αυτιστικών διαταραχών με πλήθος γενετικών μεταλλάξεων και κληρονομικών ασθενειών και η ενοχοποίηση πολλών γονιδίων που εμφανίζονται σε άτομα με αυτιστικές διαταραχές.

Αναφορικά με την κληρονομικότητα μελέτες σε μονοζυγωτικούς και διζυγωτικούς διδύμους έχουν αναδείξει μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης της διαταραχής και στα δυο παιδιά στους διζυγωτικούς διδύμους σε σχέση με τους μονοζυγωτικούς, γεγονός που αποδεικνύει την συσχέτιση του γενετικού υπόβαθρου με την εκδήλωση της νόσου (Folstein & Rutter, 1977, Cook 1998). Επιπλέον, αυξημένο κίνδυνο (2-14%) να αναπτύξουν αυτιστικές διαταραχές, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, εμφανίζουν τα αδέρφια παιδιών που ήδη νοσούν (Jorde 1990, Ritvo 1989, Smalley 1988). Επιπλέον, οι συγγενείς αυτιστικών παιδιών πάσχουν σε μεγαλύτερη συχνότητα από ανωμαλίες στην γλώσσα, από κοινωνικά ελλείμματα και ψυχιατρικές διαταραχές (Folstein & Rutter 1988, Piven & Palmer 1999)

Έρευνες δείχνουν ότι ο αυτισμός συνυπάρχει με ένα σύνολο γενετικών και μεταβολικών διαταραχών, όπως η οξώδη σκλήρυνση, όπου το 1,1 με 1,3% των παιδιών που πάσχουν από αυτισμό το εμφανίζουν (Smalley 1998, Fombonne 1997b, Baker 1998, Asano 2001, de Vries 2007), το σύνδρομο Angelman (Steffenburg et al. 1996), τη φαινυλκετονουρία όπου 5,7% των παιδιών των οποίων η διάγνωση για φαινυλκετονουρία έχει καθυστερήσει εμφανίζουν αυτιστικές διαταραχές. Σημαντική είναι και η συσχέτιση της διαταραχής με το σύνδρομο του εύθραυστου Χ, καθώς το ήμισυ των παιδιών με σύνδρομο έχουν κάποιες αυτιστικές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένης της αποφυγής της οπτικής επαφής, της καθυστέρησης ανάπτυξης της γλώσσας, των επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών, των διαταραχών του ύπνου, της υπερκινητικότητας, της έλλειψης προσοχής και της ευαισθησίας στον ήχο (Harris, 2008). Η ανάπτυξη αυτιστικών διαταραχών είχε έντονα συσχετιστεί και με την ύπαρξη συγκεκριμένων γονιδίων, όπως το γονίδιο HOXA1 του 7 χρωμοσώματος το οποίο φαίνεται να διπλασιάζει το κίνδυνο αυτιστικής διαταραχής (Ingram, 2000).

1.7 Θεραπεία

Οι έρευνες σχετικά με τις αυτιστικές διαταραχές υποδεικνύουν ότι δεν υπάρχει θεραπεία για τον αυτισμό η οποία να οδηγεί στην εξάλειψη των συμπτωμάτων. Ωστόσο υπάρχουν θεραπευτικές προσεγγίσεις που αν εφαρμοστούν εγκαίρως και με κατάλληλο τρόπο μπορεί να επέλθει σημαντική βελτίωση στην ζωή του ατόμου. Κάθε θεραπευτική παρέμβαση πρέπει να ανταποκρίνεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του παιδιού, στο βαθμό των διαταραχών που εμφανίζει, το επίπεδο των ικανοτήτων του και της επίδρασης της διαταραχής στην λειτουργικότητα του ατόμου. Στη συνέχεια θα αναπτυχθούν περιληπτικά κάποιες από τις πιο συχνά εφαρμόσιμες θεραπευτικές παρεμβάσεις για την διαχείριση των αυτιστικών διαταραχών.

- Η μέθοδος TEACCH (The Treatment and Education of Autistic and related Communication-handicapped Children), η οποία στηρίζεται στην οργάνωση της διδασκαλίας των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές, με αυστηρά δομημένα πλαίσια και συνεχή αξιολόγηση των ικανοτήτων και των αναγκών κάθε παιδιού. Πραγματοποιείται σε συνεργασία με τους γονείς, οι οποίοι λειτουργούν ως συνθεράποντες. Στόχος είναι το παιδί να κατανοήσει το περιβάλλον στο οποίο λειτουργεί και να αναπτύξει ανεξαρτησία μέσα σε αυτό. Για την επίτευξη αυτού του στόχου το περιβάλλον οργανώνεται και οριοθετείται με φυσικά και οπτικά όρια, ώστε να είναι προβλέψιμο για το παιδί, ενώ παράλληλα ελαχιστοποιούνται τα οπτικά και ακουστικά ερεθίσματα του περιβάλλοντος. (Mesibov, 2004)
- Η ανάλυση εφαρμοσμένης συμπεριφοράς (ABA, Applied Behavior Analysis), η οποία έχει ως στόχο να αλλάξει τις συμπεριφορές των παιδιών με αυτισμό. Στηρίζεται στην υποστήριξη του παιδιού από το φυσικό του περιβάλλον προκειμένου να αποκτήσει και να αναπτύξει δεξιότητες σε όλους τους τομείς της εξέλιξης του και να πλησιάσει σε ένα πιο φυσιολογικό επίπεδο λειτουργικότητας. Η μέθοδος δεν έχει όριο ηλικίας και εφαρμόζεται συνήθως κατ'οίκον από κάποιο ψυχολόγο. (Judith H Miles, 2003)
- Η παρέμβαση γνωστικής συμπεριφοράς (Cognitive Behavior Intervention), η οποία στοχεύει και αυτή στην αυτοδιαχείριση και τη ρύθμιση της συμπεριφοράς, μέσω της εκπαίδευσης των παιδιών στην επίλυση προβλημάτων με υποστήριξη από το περιβάλλον τους. (Judith H Miles, 2003)
- Picture Exchange Communication System (PECS), η οποία αναπτύχθηκε ως λειτουργικό σύστημα επικοινωνίας για τη μη λεκτική επικοινωνία στα παιδιά. Τα παιδιά

χρησιμοποιούν οπτικές αναπαραστάσεις προκειμένου να ζητήσουν ένα αντικείμενο ή να πραγματοποιήσουν μια δραστηριότητα. Ακόμα διδάσκονται από οπτικές αναπαραστάσεις και αντικείμενα ή δραστηριότητες που προκαλούν ενδιαφέρον. Η εκπαίδευση διακρίνεται σε έξι φάσεις, κατά τη διάρκεια των οποίων το παιδί συνδέει κάθε εικόνα με μια δραστηριότητα, απαντά σε ερωτήσεις σε σχέση με αυτή τη δραστηριότητα και αν και δεν είναι αυτός ο στόχος μπορεί να μάθει να μιλά.(Bondy 2004, Simpson 2005)

- Οι θεραπείες λειτουργικών και επικοινωνιακών δεξιοτήτων. Σε αυτές ανήκουν οι λογοθεραπείες, εργοθεραπείες και φυσιοθεραπείες. Η λογοθεραπεία αποτελεί μια ακόμα θεραπευτική μέθοδο η οποία στοχεύει σε μια βασική αδυναμία των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές την επικοινωνία. Ενώ οι εργοθεραπείες και φυσιοθεραπείες χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των ελλειμμάτων στις δεξιότητες, του σωματικού συντονισμού και κίνησης.
- Η ιατρική και φαρμακευτική αγωγή στην αντιμετώπιση του αυτισμού στοχεύει στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη νόσο και όχι στην ίαση της νόσου. Σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Ψυχικής Υγείας των Η.Π.Α, το οποίο πραγματοποίησε μελέτες για τη χρήση φαρμάκων σε παιδιά με αυτισμό, αναφέρεται ότι τα φάρμακα δεν είναι ειδικά για τον αυτισμό και θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για την βελτίωση ορισμένων συμπτωμάτων όπως η επιθετικότητα, το άγχος, τα προβλήματα του ύπνου, η υπερκινητικότητα, τα γαστρεντερολογικά προβλήματα όπως διαρροϊκές κενώσεις και γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση.(Bodfish 2004, McDougle 2005) Τα φαρμακευτικά σκευάσματα που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι: εκλεκτικοί αναστολείς της σερετονίνης, αντικαταθλιπτικά, σταθεροποιητές διάθεσης, αντιψυχωσικά και αγχολυτικά.(Judith H Miles,2003)
- Τέλος, συχνά οι γονείς των παιδιών με αυτισμό χρησιμοποιούν μη θεραπευτικές προσεγγίσεις. Τέτοια παραδείγματα είναι ειδικές δίαιτες, όπως δίαιτα ελεύθερη γλουτένης και χορήγηση συγκεκριμένων συμπληρωμάτων καθώς και παρεμβάσεις με αντιβιοτικά (Sydney M. Finegold, 2007). Ωστόσο τα αποτελέσματα των ερευνών για αυτές τις προσεγγίσεις είναι αντικρουόμενα με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η πρόταση για εφαρμογή τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ

2.1 Εντερική μικροχλωρίδα

Προτού περιγραφεί ο όρος εντερική μικροχλωρίδα, απαραίτητη είναι η αναφορά με λίγα λόγια το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται, τον εντερικό σωλήνα. Ο εντερικός σωλήνας αποτελείται από το λεπτό έντερο και το παχύ έντερο, καθένα από τα οποία υποδιαιρούνται σε επιμέρους τμήματα. Έτσι, το λεπτό έντερο αποτελείται από δυο τμήματα το δωδεκαδάκτυλο και τον ειλεό, τα οποία ενώνονται μεταξύ τους μέσω της νήστιδας. Ο ειλεός εκκενώνεται στο τυφλό, την πρώτη μοίρα του παχέος εντέρου, ενώ το υπόλοιπο τμήμα του συνιστά το κόλον. Κάθε τμήμα του σωλήνα ανάλογα με τις ιδιότητες του ευνοεί την ανάπτυξη διαφορετικών μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, στο δωδεκαδάκτυλο όπου το pH είναι ιδιαίτερα όξινο, δεν αναπτύσσονται μικρόβια, ενώ όσο οδεύουμε προς τον ειλεό όπου το pH γίνεται σταδιακά λιγότερο όξινο ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται και φθάνουν το 10^5 - 10^7 κύτταρα ανά γραμμάριο υλικού. Σε τεράστιους αριθμούς φτάνουν τα βακτήρια στο κόλον, τα οποία χρησιμοποιώντας θρεπτικά συστατικά από την πέψη των τροφών μπορούν και αναπτύσσονται. Ο μεγαλύτερος όγκος των μικροοργανισμών του παχέος εντέρου, είναι υποχρεωτικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι δεν μπορούν να αναπτυχθούν παρουσία οξυγόνου. Σε ένα μικρό ποσοστό αναπτύσσονται και προαιρετικά αερόβιοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι αναπτύσσονται με καλύτερο ρυθμό παρουσία οξυγόνου, ο ρόλος των οποίων στηρίζεται στην κατανάλωση των διαθέσιμων ποσοτήτων οξυγόνου, καθιστώντας το περιβάλλον του παχέος εντέρου αυστηρά αναερόβιο και ευνοώντας την ανάπτυξη των αναερόβιων μικροοργανισμών. (Brock,2007)

2.2 Σύσταση Εντερικής μικροχλωρίδας

Η εντερική μικροχλωρίδα αποτελεί το σύνολο των μικροοργανισμών που αποικίζουν στο λεπτό και παχύ έντερο του εντερικού σωλήνα. Σε αυτόν αναπτύσσονται 300 με 500 διαφορετικά είδη βακτηρίων (Borriello SP 1986, Simon GL 1984) και ο αριθμός των μικροβιακών κυττάρων εντός του αυλού είναι 10 φορές μεγαλύτερος από τον αριθμό των ευκαρυωτικών κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα. (Bengmark S.,1998). Κατά τη γέννηση του εμβρύου ο γαστρεντερολογικός σωλήνας είναι στείρος από μικροοργανισμούς, αμέσως μετά τη γέννηση όμως ξεκινά ο σχηματισμός του. Έρευνα από τον Hentges και τους συνεργάτες του το 1993, ανέδειξε ότι η αναερόβια εντερική μικροχλωρίδα αρχίζει να

εγκαθίσταται μετά τους δυο μήνες της ζωής του ατόμου. Το είδος του τοκετού, ο θηλασμός, διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν σημαντικά το είδος των μικροοργανισμών που θα αναπτυχθούν και ο αρχικός αποικισμός έχει ιδιαίτερη σημασία για την τελική σύνθεση των μικροβιακών πληθυσμών της εντερικής μικροχλωρίδας. (Long SS 1977, Yoshioka H 1983, Harmsen HJ 2000).

Όπως διατυπώθηκε και παραπάνω τα αναερόβια βακτήρια υπερτερούν έναντι των αερόβιων σε μια αναλογία 100-1000:1. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αναερόβιων βακτηρίων που κυριαρχούν στον άνθρωπο είναι τα γένη *Bacteroides*, τα δισχιδή βακτήρια (*Bifidobacterium* spp.), τα ευβακτήρια (*Eubacterium* spp.), τα προπιονιβακτήρια (*Propionibacterium* spp) και τα κλωστρίδια (*Clostridium* spp.). Τα σημαντικότερα προαιρετικά αναερόβια βακτήρια του εντερικού σωλήνα του ανθρώπου που έχουν απομονωθεί είναι τα *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*. Κάθε άτομο έχει πολλές εκατοντάδες είδη τα οποία ανήκουν σε αυτά τα γένη, αλλά ο συνδυασμός των ειδών και ο αριθμός κάθε μικροοργανισμού διαφέρει από άτομο σε άτομο. (Gronlund 1999, Moore WE 1975)

2.3 Λειτουργίες εντερικής μικροχλωρίδας

Για πολλά χρόνια οι επιστήμονες πίστευαν ότι οι μικροοργανισμοί που αποικίζουν το παχύ έντερο είναι περιττοί και βλαβεροί για τον ανθρώπινο οργανισμό. Στις αρχές της δεκαετίας του 1900 έρευνες, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν από τον επιστήμονα Metchnikoff και του συνεργάτες τους, ανέδειξαν το ρόλο της εντερικής μικροχλωρίδας στην φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού και αποτέλεσαν την αφετηρία για πλήθος άλλων μελετών που διερεύνησαν τις λειτουργίες του δυναμικού και σύνθετου αυτού μίγματος μικροοργανισμών. (McFarland, 2000). Η εξέλιξη μοριακών τεχνικών έχει επίσης συμβάλει στον τομέα των ερευνών για τις λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας. Στον τομέα αυτό, έρευνες σε πειραματόζωα που γεννήθηκαν με στείρο από μικροοργανισμούς εντερικό σωλήνα και η σταδιακή εισαγωγή σε αυτά μεμονωμένων γνωστών μικροοργανισμών, δημιούργησε ζώα με γνωστή σύσταση μικροχλωρίδας η οποία αποκάλυψε τις σημαντικές λειτουργίες της στον ξενιστή (Falk PG, 1998). Σήμερα, επομένως είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε πολλές και διαφορετικές λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως η πέψη απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και η προστασία από επιβλαβή βακτήρια.

Μερικές από τις λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας, σύμφωνα με τις ανασκοπήσεις των McFarland το 2000 και Guarner το 2003, περιγράφονται συνοπτικά ως εξής:

Μεταβολική λειτουργία

Οι μεταβολικές λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας περιλαμβάνουν τον καταβολισμό θρεπτικών συστατικών καθώς και την παραγωγή βιταμινών και ενζύμων.

Στο παχύ έντερο πραγματοποιείται ο καταβολισμός υποστρωμάτων όπως άμυλο, φυτικές ίνες, ολιγοσακχαρίτες, σάκχαρα, πρωτεΐνες και λιπαρά οξέα, τα οποία προέρχονται είτε από την τροφή είτε από το ίδιο το κόλον από ενδογενή βλέννα, απόβλητα βακτηρίων, χολικά οξέα, χοληστερόλη και κατακερματισμένα επιθηλιακά και εντερικά κύτταρα. Συγκεκριμένα, η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών στο παχύ έντερο ενός ενήλικα είναι 20-60 g υδατανθράκων και 5- 20 g πρωτεϊνών ανά ημέρα (Silvester KR, 1995). Αποτέλεσμα της πέψης των παραπάνω συστατικών είναι η παροχή ενέργειας από τον μεταβολισμό τους καθώς και η παροχή θρεπτικών συστατικών που συμβάλουν στην ανάπτυξη και την επιβίωση των βακτηριακών πληθυσμών του παχέος εντέρου. Η ζύμωση των υδατανθράκων αποτελεί την βασικότερη πηγή ενέργειας για το παχύ έντερο, καθώς σε αυτό φτάνουν άπεπτα μεγάλες ποσότητες πολυσακχαριτών, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και τη λειτουργία του παχέος εντέρου. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το οξικό και προπιονικό οξύ που διεγείρουν την απορρόφηση ύδατος και ιόντων από το παχύ έντερο και το βουτυρικό οξύ, το οποίο αποτελεί κύρια πηγή ενέργειας για τα επιθηλιακά κύτταρα.

Καθοριστικός είναι ο ρόλος της εντερικής μικροχλωρίδας στην σύνθεση βιταμινών τις οποίες ο οργανισμός δεν προσλαμβάνει από την τροφή σε επαρκείς ποσότητες ή σε απορροφήσιμες μορφές και δεν μπορεί να συνθέσει. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν βιταμίνες όπως το παντοθενικό οξύ, η βιοτική, η πυριδοξίνη και η μενακινόνη τις οποίες η εντερική μικροχλωρίδα παράγει και παρέχει στον οργανισμό καλύπτοντας τις ανάγκες του. Παράλληλα, σημαντική είναι και η ικανότητα τμήματος της εντερικής μικροχλωρίδας να παράγει πρωτεολυτικά και γλυκοζυτικά ένζυμα τα οποία σχετίζονται με τον καταβολισμό της βλέννας, η παραγωγή της οποίας είναι απαραίτητη για τη λίπανση και τη προστασία του εντερικού αυλού, την απορρόφηση ύδατος και ηλεκτρολυτών και την προσκόλληση των μικροβίων.

Επιθηλιακή κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση

Έρευνες σε ποντίκια στείρα σε μικροοργανισμούς σε σχέση με ποντίκια με φυσιολογική χλωρίδα, ανέδειξαν την σπουδαιότητα της στην παραγωγή κυττάρων του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου που παράγονται από το καταβολισμό των θρεπτικών συστατικών μέσω της δράσης της εντερικής μικροχλωρίδας συμβάλουν στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου. (Siavoshian S, 2000). Επιπλέον, η ύπαρξη των βακτηριακών πληθυσμών στον εντερικό βλεννογόνο, διεγείρει την παραγωγή γλυκοπρωτεϊνών, όπως η βλέννα, οι οποίες αποτελούν θέσεις προσκόλλησης των βακτηρίων και συμβάλουν στην ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας, ιδιαίτερα στα πρώτα στάδια αποικισμού της εντερικής μικροχλωρίδας.

Αντίσταση στον αποικισμό και ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος

Ο αποικισμός του γαστρεντερικού σωλήνα από την φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα, αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού στην εισβολή παθογόνων μικροοργανισμών, όπως τα *Clostridium difficile*, *Candida Albicans*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., και *Pseudomonas* spp. Χωρίς τους φυσιολογικούς μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας, ο οργανισμός είναι πολύ ευπαθής στις μολύνσεις, ενώ απαραίτητη είναι και η διατήρηση της σταθερότητας των μικροβιακών πληθυσμών καθώς οποιαδήποτε μεταβολή μπορεί να επιτρέψει την ανάπτυξη ειδών, όπως το *Clostridium difficile*, που είναι δυνητικά παθογόνα.

Αρκετοί μηχανισμοί έχουν μελετηθεί για τη διερεύνηση της σχέσης της φυσιολογικής εντερικής μικροχλωρίδας με την αντίσταση στον αποικισμό. Μια άποψη είναι ότι τα βακτήρια που φυσιολογικά αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα ανταγωνίζονται στα σημεία προσκόλλησης και αποτρέπουν την σύνδεση στις θέσεις αυτές των παθογόνων μικροοργανισμών. Ο ανταγωνισμός των βακτηρίων δεν αφορά μόνο τις θέσεις σύνδεσής τους στον ξενιστή αλλά και τις διαθέσιμες πηγές ενέργειας και άνθρακα, που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροοργανισμών.

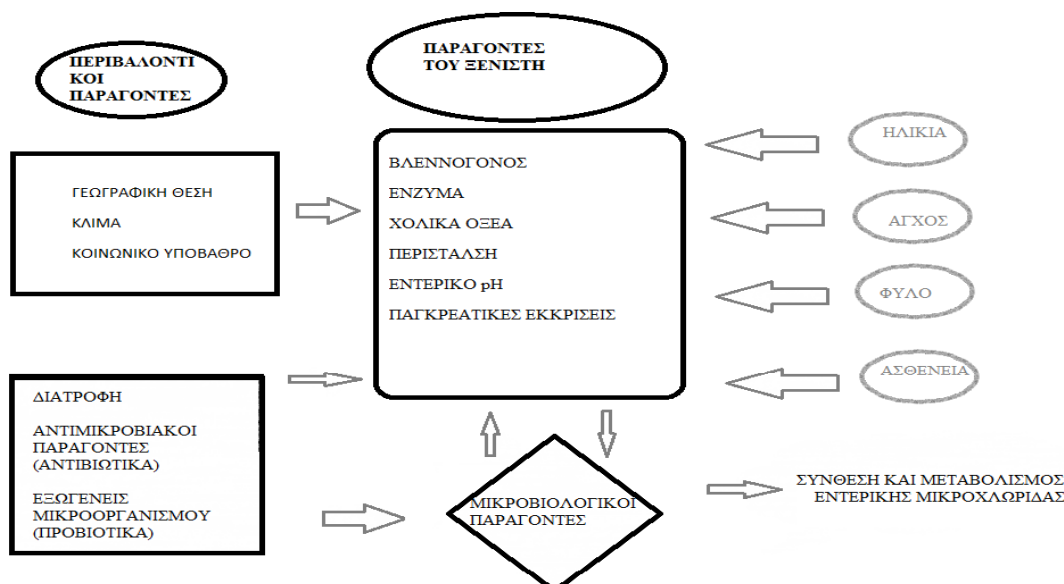
Μικροοργανισμοί της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως το βακτήριο *Lactobacillus* spp., αναστέλλουν τον αποικισμό ενός ευρέως φάσματος μικροοργανισμών μέσω της παραγωγής αντιμικροβιακών πρωτεϊνών όπως οι βακτηριοσίνες. Ακόμα προϊόντα του μεταβολισμού των μικροοργανισμών της φυσιολογικής χλωρίδας, όπως το υπεροξείδιο του

υδρογόνου και το γαλακτικό οξύ, εμποδίζουν την προσκόλληση στην εντερική μικροχλωρίδα νέων ειδών μικροοργανισμών.

Τέλος, σημαντικός είναι ο ρόλος της εντερικής μικροχλωρίδας στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο βλεννογόνος του εντερικού επιθηλίου, διαθέτει ένα εκτεταμένο ανοσολογικό σύστημα το οποίο ενώ βρίσκεται σε ισορροπία με τους μικροοργανισμούς της φυσιολογικής μικροχλωρίδας, διεγείρεται εύκολα από την παρουσία στον εντερικό σωλήνα εντερικών παθογόνων. Το εκτεταμένο αυτό ανοσολογικό σύστημα, αναγνωρίζει τα βακτήρια που δεν απαντώνται φυσιολογικά στην εντερική μικροχλωρίδα και μέσω της έκκρισης ειδικών ανοσοσφαιρινών, ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί άμυνας του οργανισμού που οδηγούν στην φαγοκυττάρωση παθογόνων μικροοργανισμών.

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα

Οι λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας, οι οποίες αναφέρθηκαν παραπάνω, καθώς και η σύσταση της επηρεάζονται από μια σειρά παραγόντων όπως η ηλικία, η γεωγραφική προέλευση των ανθρώπων, η διατροφή, το άγχος και η λήψη αντιβιοτικών. Η σταθερότητα στην σύνθεση και την ποιότητα της εντερικής μικροχλωρίδας είναι πολύ σημαντική για την διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού και την προστασία του από την ανάπτυξη νοσημάτων. Ωστόσο πολλοί παράγοντες που σχετίζονται τόσο με το περιβάλλον όσο και τον ίδιο τον ξενιστή αλληλεπιδρούν με μικροβιολογικούς παράγοντες επηρεάζοντας την σύνθεση και τον μεταβολισμό της εντερικής μικροχλωρίδας.



Εικόνα 1: Αναφέρονται οι παράγοντες που επιδρούν στην σύσταση και τις λειτουργίες της εντερικής μικροχλωρίδας. Προσαρμοσμένος από την Kleessen B. και τους συνεργάτες της, 2000.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ

3.1 Εισαγωγή

Η εντερική μικροχλωρίδα, όπως έχει ήδη διατυπωθεί, αποτελεί ένα πολύπλοκο σύμπλοκο μικροοργανισμών με σημαντικό ρόλο στην διατήρηση και την ανάπτυξη της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού. Οι μικροοργανισμοί που κυριαρχούν και αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της εντερικής μικροχλωρίδας είναι τα βακτήρια ενώ ένα μικρό τμήμα της καταλαμβάνουν οι μύκητες και τα πρωτόζωα. Από μελέτες καλλιέργειών στο εργαστήριο έχουν γίνει γνωστά τουλάχιστον 17 γένη βακτηρίων, ενώ υπάρχουν και πολλά άλλα τα οποία έχουν ανιχνευθεί αλλά δεν έχουν καλλιεργηθεί στο εργαστήριο. Από τα βακτήρια αυτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την έρευνα μας εμφανίζουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας. (Brock,2007)

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι θετικοί κατά Gram βάκιλοι και κόκκοι οι οποίοι παράγουν ως κύριο ή/και μοναδικό προϊόν της ζύμωσης τους το γαλακτικό οξύ. Με βάση τα προϊόντα που παράγονται κατά την ζύμωση την οξυγαλακτικών βακτηρίων, αυτά διακρίνονται σε ομοζυμωτικά όταν το μόνο προϊόν είναι το γαλακτικό οξύ και ετεροζυμωτικά όταν παράγονται και άλλα προϊόντα όπως η αιθανόλη και το διοξείδιο του άνθρακα. Η μορφολογία του κυττάρου, η σύνθεση των βάσεων του DNA, ο τύπος της ζύμωσης, η ανθεκτικότητα τους σε αντιβιοτικά και σε όξινο περιβάλλον καθώς και μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος καθορίζουν τα διάφορα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Τα πιο χαρακτηριστικά γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι τα γένη *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* και *Bifidobacterium*.

Χαρακτηριστικές ιδιότητες της ομάδας των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι ότι τα μέλη της δεν διαθέτουν πορφυρίνες και κυτοχρώματα, δεν εκτελούν φωσφορυλίωση από μεταφορά ηλεκτρονίων επομένως η ενέργεια που απαιτείται για τις διεργασίες του μεταβολισμού τους προέρχεται από την φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος. Ακόμα, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι στο σύνολο τους αναερόβια, αλλά η ανάπτυξη τους δεν επηρεάζεται από την παρουσία O₂ στην ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζονται ως αεροανεκτικά αναερόβια βακτήρια. Απαραίτητο υπόστρωμα για την ανάπτυξη τους

αποτελούν τα σάκχαρα, αλλά και ποσότητες αμινοξέων, βιταμινών, πουρίνων και πυριμιδίνων. (Brock,2007)

Ολοκληρώνοντας, τα οξυγαλακτικά βακτηρία συναντώνται τόσο στην ενδογενή χλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα όσο και σε τρόφιμα τα οποία αποτελούν προϊόντα ζύμωσης όπως το γιαούρτι, το τυρί, οι ελιές, τα αλλαντικά, ποτά όπως η μύρα. Οι ευεργετικές δράσεις των βακτηρίων αυτών στην λειτουργία της εντερικής μικροχλωρίδας, οδήγησαν σε μια σειρά μελετών για τη δυνατότητα χορήγησης τους μέσω της διατροφής προκειμένου να βελτιωθεί η λειτουργία του εντερικού σωλήνα. Αποτέλεσμα αυτών των μελετών είναι η χρησιμοποίηση πολλών οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως ο *Lactobacillus* spp. και τα *Bifidobacterium* spp., ως προβιοτικά στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων.

3.2 Λακτοβάκιλλοι (*Lactobacillus* spp.)

Οι λακτοβάκιλλοι είναι τυπικά ραβδόμορφα βακτήρια που ποικίλουν από επιμήκεις και λεπτούς βακίλλους μέχρι πολύ λεπτούς και μικρούς κοκκοβάκιλλους. Τα κύτταρα τους παρουσιάζουν θετική χρώση κατά Gram, δεν σχηματίζουν ενδοσπόρια και έχουν περιορισμένη αυτόνομη κίνηση ενώ συχνά απαντώνται σε αλυσίδες. (Brock,2007)

Το γένος *Lactobacillus* αποτελείται από 50 περίπου διαφορετικά είδη τα οποία συναντώνται σε τρόφιμα, στο φυσικό περιβάλλον και στην ενδογενή χλωρίδα του ανθρώπινου οργανισμού, αλλά και σε άλλα ζώα όπως οι χοίροι, οι κόττες, οι σκύλοι, τα ποντίκια και οι αρουραίοι. Στον πίνακα 1 παρατίθενται τα πιο συχνά ενδιαιτήματα των λακτοβακίλλων τόσο στους ζώντες οργανισμούς όσο και στη φύση και τα τρόφιμα. (Stiles MM, 2007)

Ενδαιτήματα Λακτοβακίλλων

Ανθρωπος και Ζώα	Στοματική κοιλότητα
	Εντερική μικροχλωρίδα
	Κόλπος
Φυσικό περιβάλλον	Φυτά και προϊόντα των φυτών
	Χώμα, Νερό, Λύματα, Κοπριά
	Φρούτα
	Δημητριακά
Τρόφιμα (προϊόντα ζύμωσης)	Μπύρα
	Γάλα και γιαούρτι
	Μαριναρισμένα ψάρια
	Αλλαντικά

Πίνακας 1 : Ενδαιτήματα των λακτοβακίλλων, προσαρμοσμένο από Stiles et al. 1997.

Η ιδανική ανάπτυξη των λακτοβακίλλων πραγματοποιείται σε συνθήκες μικροαερόφιλες ή αναερόβιες με αυξημένη συγκέντρωση CO₂, σε μεσόφιλες θερμοκρασίες, περίπου 40°C, παρουσία θρεπτικών συστατικών, όπως άνθρακας, νουκλεοτίδια, αμινοξέα και βιταμίνες, τα οποία είναι απαραίτητες πηγές ενέργειας και σε ήπια όξινες συνθήκες με pH 4,5 – 6,4. (Stiles MM, 2007)

Οι λακτοβάκιλλοι είναι σπάνια έως καθόλου παθογόνοι και η λειτουργία τους στηρίζεται στην μείωση του pH του εντερικού σωλήνα, μέσω της παραγωγής γαλακτικού και άλλων οργανικών οξέων. Η δράση αυτή σε συνδυασμό με την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου και αντιμικροβιακών ουσιών λειτουργούν ως ανασταλτικοί παράγοντες για την προσκόλληση παθογόνων μικροοργανισμών τόσο στον εντερικό σωλήνα όσο και στο ουρογενετικό σύστημα. (Stiles MM, 1997 , Brock,2007)

3.3 Μπιφιδοβακτήρια (*Bifidobacterium* spp.)

Τα μπιφιδοβακτήρια ή δισχιδή βακτήρια ανακαλύφθηκαν το 1900 σε κόπρανα εμβρύων αλλά άρχισαν να προκαλούν το ενδιαφέρον των ερευνητών μετά το 1960. Παρόλο που δεν ανήκουν στην οικογένεια των οξυγαλακτικών βακτηρίων και διαφέρουν από τα υπόλοιπα γένη της ως προς τα προϊόντα ζύμωσης του μεταβολισμού τους, καθώς παράγουν όχι μόνο γαλακτικό αλλά και οξικό οξύ σε αναλογία 2:3., συχνά μελετώνται μαζί γιατί απαντώνται μαζί στη φυσική μικροχλωρίδα του ανθρώπου και των ζώων. Τα μπιφιδοβακτήρια ανήκουν στα Ακτινοβακτήρια (Stiles MM, 1997)

Πρόκειται για βάκιλλους, συχνά σχήματος Y, που ποικίλουν από κοντά και λεπτά κύτταρα με ροπαλοειδή άκρα και επιμήκεις σε ανώμαλους βάκιλλους με διακλαδώσεις ή αστεροειδείς διατάξεις. Τα κύτταρα τους παρουσιάζουν θετική χρώση κατά Gram, δεν σχηματίζουν ενδοσπόρια, με εξαίρεση τα *Bifidobacterium indicum* και *Bifidobacterium asteroides*, δεν παρουσιάζουν αυτόνομη κίνηση και σχηματισμούς σε αλυσίδες. (Felis & Dellaglio, 2005)

Ως ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης των δισχιδών βακτηρίων αναφέρονται οι θερμοκρασίες 37- 41 °C και ουδέτερο ή ήπια όξινο pH 6,7 -7,0. Ακόμα χαρακτηρίζονται ως υποχρεωτικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί, και η ευαισθησία τους στην παρουσία οξυγόνου διαφέρει ανάμεσα στα διαφορετικά είδη . Για την ανάπτυξη των μπιφιδοβακτηρίων απαραίτητη είναι η παρουσία σακχάρων αλλά κυρίως βιταμινών όπως η θειαμίνη, η ριβοφλαβίνη, η πυριδοξίνη, το φυλικό οξύ, το παντοθενικό οξύ και η κυανοκοβαλαμίνη, οι οποίες δρουν ως αυξητικοί παράγοντες (Arunachalam, K.D., 1999).

Το γένος *Bifidobacterium* spp. αποτελείται από περίπου 36 είδη τα οποία έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα και τα οποία συναντώνται κυρίως στο παχύ έντερο ανθρώπων και ζώων, στον γυναικείο κόλπο, στην οδοντική πλάκα, στα λύματα και στις μέλισσες. Ολοκληρώνοντας, η δράση των μπιφιδοβακτηρίων έχει διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό, με αποτέλεσμα να γνωρίζουμε ότι αυτά σχετίζονται με την παραγωγή βιταμινών, τη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος, την αναστολή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών στην εντερική μικροχλωρίδα, την μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στον ορό και αμμωνίας στο αίμα και με την βελτίωση των επιπέδων ανοχής της γλυκόζης. (Arunachalam, K.D., 1999)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΑΥΤΙΣΜΟ

4.1 Εισαγωγή

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο αυτισμός αποτελεί ένα σύνολο αναπτυξιακών διαταραχών, οι οποίες εμφανίζονται τα πρώτα χρόνια της ζωής ενός ατόμου και επηρεάζουν την κοινωνική και επικοινωνιακή ανάπτυξη του. Πολλοί είναι οι παράγοντες οι οποίοι έχουν συσχετισθεί με την αιτιολογία της νόσου χωρίς ωστόσο αυτή να έχει γίνει απόλυτα κατανοητή. Πληθώρα μελετών πραγματοποιούνται τα τελευταία χρόνια προκειμένου να διερευνηθεί ο πιθανός ρόλος της εντερικής μικροχλωρίδας τόσο στη συμπτωματολογία όσο και τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων των αυτιστικών διαταραχών.

4.2 Εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού

Η μελέτη της εντερικής μικροχλωρίδας παιδιών με αυτιστικές διαταραχές ξεκίνησε το 1998, όταν η Ellen Bolte διατύπωσε την υπόθεση ότι το *Clostridium tetani* ή και άλλα βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας μπορεί να σχετίζονται με την εμφάνιση των αυτιστικών διαταραχών. Η υπόθεση της αυτή στηρίζεται στην παρατήρηση, ότι μετά την χορήγηση από του στόματος βανκομυκίνης, τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφάνισαν σημαντική βελτίωση στις κοινωνικές τους δεξιότητες, την επικοινωνία και την συμπεριφορά. Στη συνέχεια άλλοι ερευνητές όπως ο Finegold και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν νέες έρευνες στις οποίες περιέγραφαν τις διαφορές της εντερικής μικροχλωρίδας ανάμεσα σε παιδιά με τυπική ανάπτυξη και παιδιά με αυτιστικές διαταραχές. Συγκεκριμένα διέκρινε ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές κυρίως ανάμεσα στα βακτήρια του γένους των κλωστριδίων, με τα αυτιστικά παιδιά να εμφανίζουν μεγαλύτερη ποσότητα κλωστριδίων και μεγαλύτερη ποικιλία αυτού του γένους από τα παιδιά που αναπτύσσονται κανονικά. Περαιτέρω έρευνες πραγματοποιήθηκαν τα επόμενα χρόνια από πολλούς ερευνητές οι οποίοι χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές διερεύνησαν τον αυξημένο αριθμό κλωστριδίων σε άτομα που πάσχουν από διαταραχές του φάσματος του αυτισμού. (Parracho, 2005)

Οι διαφορές των μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας δεν αφορούν μόνο τα είδη του γένους *Clostridium*, αλλά έχουν ανιχνευθεί και σε πολύ μεγαλύτερες ταξινομικές διαιρέσεις όπως τα *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* και *Proteobacteria*. Έτσι στην εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με τυπική ανάπτυξη το 68% των βακτηρίων των κοπράνων αποτελείται από βακτήρια που ανήκουν στη διαίρεση των *Firmicutes* ενώ στα αυτιστικά παιδιά το 38%. Ακόμα η εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές αποτελείται από μεγαλύτερο ποσοστό βακτηρίων που ανήκουν στα *Bacteroidetes* και στο φύλο των Πρωτεοβακτηρίων σε σχέση με την ενδογενή χλωρίδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών (51% σε σχέση με 30% και 2,3 με 3,1% σε σχέση με 0,5%), ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τα Ακτινοβακτήρια όπου εμφανίζουν σημαντικά μικρότερο αριθμό (0,4 με 0,7% σε σχέση με 1,8%).

Μελετώντας δείγματα κοπράνων τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και παιδιών με αυτιστικές διαταραχές, διαπιστώθηκε ότι στα παιδιά με αυτιστική συμπεριφορά το μεγαλύτερο ποσοστό βακτηρίων αποτελούν τα γένη *Bacteroides* και *Desulfovibrio*. Τα *Desulfovibrio* εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με την σοβαρότητα των συμπτωμάτων του αυτισμού καθώς όσο αυξάνεται το ποσοστό τους στα κόπρανα φαίνεται να εμφανίζονται σοβαρότερες επιπλοκές της διαταραχής του αυτισμού (Finegold S.M., 2011)

Ολοκληρώνοντας, έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον Adams και τους συνεργάτες το 2011, σε δείγμα 58 παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και 39 παιδιών με τυπική ανάπτυξη, έδειξε ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα μπιφιδοβακτηρίων (-43%, $p=0,002$) και υψηλότερα επίπεδα λακτοβακίλλων (+100%, $p=0,04$), ενώ δεν εμφανίζουν διαφορές σε άλλα είδη βακτηρίων.

4.3 Γαστρεντερολογικά συμπτώματα παιδιών με αυτιστικές διαταραχές

Όπως έχει ήδη διατυπωθεί ο αυτισμός αποτελεί ένα σύνολο διαταραχών με ποικίλη συμπτωματολογία. Οι αναφορές πολλών γονέων ότι τα παιδιά τους εμφάνιζαν συχνά γαστρεντερικά προβλήματα, όπως διάρροια, δυσκοιλιότητα, μετεωρισμό, κοιλιακό άλγος, δυσφορία και γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση οδήγησαν σε μια σειρά μελετών για την συσχέτιση των αυτιστικών διαταραχών με τα γαστρεντερολογικά προβλήματα. Έτσι έχει υπολογιστεί ότι το 46-76% των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές εμφάνισαν γαστρεντερολογικά προβλήματα, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά αφορά το 10 με 30% των παιδιών (Horvath & Perman, 2002 Wakefield, 2002).

Ακόμα, μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 36 παιδιών με αυτισμό, το 70 % των παιδιών αυτών εμφάνιζε ενδείξεις φλεγμονής, το 69% γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, το 49% χρόνια γαστρίτιδα και το 67% χρόνια φλεγμονή του δωδεκαδάκτυλου. (Horvath, 1999)

Ερευνες που συγκρίνουν την βαρύτητα και την συχνότητα των γαστρεντερικών συμπτωμάτων πραγματοποιήθηκαν και από άλλους ερευνητές. Έτσι, το 2000 ο Melmed και οι συνεργάτες τους, σε δείγμα 385 παιδιών με αυτισμό, 48 τυπικά αναπτυσσόμενα αδέρφια και 102 τυχαία τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, διαπίστωσαν ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν έως και 36% φορές συχνότερα συμπτώματα όπως οι υδαρείς κενώσεις και η δυσκοιλιότητα, σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και τα αδέρφια τους. Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα από άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 150 παιδιά. Στην μελέτη αυτή έγινε διάκριση των παιδιών σε τρεις ισάριθμες ομάδες, την ομάδα των παιδιών με αυτιστική διαταραχή, με άλλη αναπτυξιακή διαταραχή και τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντική διαφορά στην συχνότητα εμφάνισης γαστρεντερικών διαταραχών και συγκεκριμένα, το 70% των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές είχαν ιστορικό γαστρεντερικών προβλημάτων ενώ μόνο το 48% των παιδιών με άλλες διαταραχές και το 28% των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών εμφάνιζαν ανάλογα συμπτώματα. (Valicenti, 2006)

Παράλληλα, πολλές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί δεν πιστοποιούν την παραπάνω συσχέτιση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η έρευνα του Ibrahim και των συνεργατών του, η οποία πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 124 παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και 121 τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και στην οποία μελετήθηκαν τόσο συμπτώματα που σχετίζονται με τον γαστρεντερικό σωλήνα όσο και διατροφικές διαταραχές. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δεν υποδεικνύουν συσχέτιση ανάμεσα στον αυτισμό και τα γαστρεντερολογικά συμπτώματα, παρά μόνο στην ύπαρξη δυσκοιλιότητας η οποία ήταν κατά 15% συχνότερη στα παιδιά με αυτισμό σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα.

Μια σειρά παραγόντων έχει συσχετισθεί με την ανάπτυξη γαστρεντερολογικών προβλημάτων σε παιδιά με αυτιστικές διαταραχές. Έναν από αυτούς είναι η μορφολογία του εντερικού σωλήνα η οποία έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό. Συγκεκριμένα οι ερευνητές επικεντρώθηκαν στα αυξημένα επίπεδα λακτουλόζης στον εντερικό αυλό των παιδιών με αυτισμό και στα χαμηλά επίπεδα α-1- αντιθρυψίνης. Οι διαφορές των επιπέδων αυτών σε

σχέση με τυπικά αναπτυσσόμενα άτομα υποδηλώνουν αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού αυλού και σχετίζονται με συμπτώματα όπως οι υδαρείς κενώσεις που όπως είδαμε είναι συχνές σε παιδιά με αυτισμό. (D'Eufemia,1996, Horvath, 2000, Walker-Smith& Andrews,1972)

Παθολογικοί παράγοντες του παχέος εντέρου έχουν επίσης διερευνηθεί από πολλές μελέτες στις οποίες αναδεικνύεται η ύπαρξη υπερπλασιών στο παχύ έντερο παιδιών με αυτιστικές διαταραχές. Το 2003, ο Wakefield και οι συνεργάτες του μελέτησαν δείγμα 60 παιδιών με διαταραχές στην ανάπτυξη, από τα οποία τα 50 έπασχαν από αυτιστικές διαταραχές και 37 τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά τα οποία όλα εμφάνιζαν φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Από αυτά το 97% των παιδιών με αυτισμό εμφάνιζαν υπερπλασία, ενώ μόνο το 14,3 % των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών εμφάνιζαν τέτοια κλινική εικόνα.

Επιπλέον, παράγοντες όπως η διατροφή και τα θρεπτικά συστατικά που λαμβάνουν τα παιδιά φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση γαστρεντερικών συμπτωμάτων, καθώς μπορεί να σχετίζονται με τροφικές αλλεργίες στα παιδιά αυτά. Το ενδιαφέρον των ερευνητών επικεντρώθηκε αρχικά στην ευαισθησία των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές στην γλουτένη και την καζεΐνη. Τα αποτελέσματα των μελετών ωστόσο και για τις δυο πρωτεΐνες είναι αντικρουόμενα. Έτσι ενώ κάποιες μελέτες αναφέρουν την βελτίωση των συμπτωμάτων του αυτισμού όταν το παιδί ακολουθεί δίαιτα ελεύθερη σε γλουτένη, καζεΐνη και σόγια αυτά τα στοιχεία αναιρούνται από άλλους ερευνητές καθιστώντας αδύνατη την παροχή σύστασης προς τους γονείς να υιοθετήσουν για τα παιδιά τους τέτοια διατροφή. (Erickson C., 2006)

Ολοκληρώνοντας, μικροβιολογικοί παράγοντες που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, όπως ο αυξημένος αριθμός βακτηρίων του γένους των κλωστρίδιων, φαίνεται ότι σχετίζονται με την εμφάνιση γαστρεντερολογικών προβλημάτων στα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές.

Τέλος, η αντιμετώπιση των γαστρεντερολογικών συμπτωμάτων έχει διερευνηθεί αρκετά, ωστόσο και εδώ τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατό να ορισθεί ένα συγκεκριμένο θεραπευτικό σχέδιο αντιμετώπισης τους. Συχνή είναι ωστόσο η χρήση αντιβιοτικών ουσιών, όπως η βανκομυκίνη και πεπτιδίων όπως η σεκρετίνη, τα οποία φαίνεται ότι μειώνουν την εμφάνιση συμπτωμάτων του γαστρεντερικού συστήματος και συμβάλουν στην βελτίωση της συμπεριφοράς και της επικοινωνίας παιδιών με αυτισμό. (Erickson C., 2006)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΑΥΤΙΣΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

5.1 Εισαγωγή

Τα παιδιά που έχουν διαγνωσθεί με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν μια σειρά συμπτωμάτων τα οποία σχετίζονται με τις κοινωνικές δεξιότητες τους, την ικανότητα επικοινωνίας αλλά και την εμφάνιση συγκεκριμένων στερεοτυπικών συμπεριφορών. Παράλληλα, οι γονείς των παιδιών με τέτοιες διαταραχές συχνά αναφέρουν ότι τα παιδιά τους εμφανίζουν ιδιόμορφες συμπεριφορές που σχετίζονται με τα τρόφιμα και το φαγητό (Lockner, 2008). Παρόλο που το 30% των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζει διατροφικές διαταραχές και πολλές μελέτες αναφέρουν ότι η διατροφική πρόσληψη μπορεί να σχετίζεται με την αιτιολογία και την αντιμετώπιση των αυτιστικών διαταραχών, λίγες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να διερευνηθούν οι παραπάνω ισχυρισμοί.(Lukens C., 2008)

5.2 Διατροφικές διαταραχές παιδιών με αυτισμό

Ως διατροφικές διαταραχές στα παιδιά με αυτισμό ορίζεται η μη επαρκής πρόσληψη θρεπτικών συστατικών η οποία είναι απαραίτητη προκειμένου το παιδί να αυξήσει το σωματικό του βάρος, να διατηρήσει την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού του και να αναπτυχθεί. Οι διαταραχές αυτές μπορούν να εκδηλωθούν ως άρνηση κατανάλωσης συγκεκριμένων τροφίμων, με αποτέλεσμα το παιδί να προσλαμβάνει λιγότερες από το επιθυμητό θερμίδες και να μη επιτυγχάνεται η φυσιολογική ανάπτυξη (Field,2003). Ακόμα μπορούν να εκδηλωθούν με τη μορφή επιλεκτικότητας, η οποία εκφράζεται ως κατανάλωση συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων που μπορεί να καταναλώνονται ή όχι σε ανεπαρκείς ποσότητες και μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών.(Luiselli,1989,Munk, 1994)

Στην βιβλιογραφία αναφέρονται πολλές διαταραχές που σχετίζονται με την διατροφή και έχουν παρατηρηθεί σε σύνολο παιδιών με αυτισμό ή σε μεμονωμένα περιστατικά. Γονείς έχουν αναφέρει στην Αμερικάνικη Ψυχιατρική Ένωση περιπτώσεις παιδιών τα οποία κατανάλωναν μόνο τρόφιμα συγκεκριμένου χρώματος, όπως το κίτρινο όπου το παιδί έτρωγε μόνο πατάτες τηγανιτές, κοτόπουλο παναρισμένο και άλλα τηγανιτά κυρίως τρόφιμα, αλλά και περιπτώσεις κατανάλωσης μόνο βρεφικών τροφίμων όπως παιδικές κρέμες και πραγματοποιήσεις γευμάτων κάτω από αυστηρά συγκεκριμένες συνθήκες, σε ειδική καρέκλα φαγητού για παιδιά, με συγκεκριμένο πιάτο και εικόνα του φαγητού σε αυτό. Οι αναφορές αυτές ωστόσο είναι

περιορισμένες και παρόλο που αποτελούν σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο για ανάπτυξη προβλημάτων θρέψης στα παιδιά δεν έχουν μελετηθεί αρκετά. Ακόμα περιπτώσεις κατανάλωσης αντικειμένων τα οποία δεν είναι τρόφιμα, όπως χαρτί, πλαστικό, μέταλλα, ασβέστης και πολλά άλλα, οι οποίες αποτελούν ένα γνωστό φαινόμενο που ονομάζεται *pica*, έχει καταγραφεί ως διατροφική διαταραχή πολλών παιδιών με αυτισμό.(Ferreti SJ, 2006)

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε από των Schreck και τους συνεργάτες τους το 2004, με σκοπό να συγκρίνει την διατροφική συμπεριφορά παιδιών με αυτισμό και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών διέκρινε σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε δείγμα παιδιών ηλικίας 5 έως 12 ετών και περιελάμβανε δυο ομάδες, την ομάδα των 298 τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και την ομάδα των 138 παιδιών με αυτιστικές διαταραχές. Τα αποτελέσματα της μελέτης αναφέρουν ότι τα παιδιά με αυτισμό εμφανίζουν μια μεγαλύτερη τάση άρνησης στο να δοκιμάσουν νέα φαγητά και είναι πολύ πιθανό να απαιτούν ειδικά σκευή προκειμένου να καταναλώσουν την τροφή τους. Ακόμα αναφέρεται ότι η υφή των τροφίμων καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τα τρόφιμα που θα καταναλωθούν από τα παιδιά και δημιουργεί ένα μεγάλο περιορισμό για την εισαγωγή νέων τροφίμων στο διαιτολόγιο τους. Τέλος, μελετήθηκε η κατανάλωση τροφίμων από τις ομάδες των φρούτων, λαχανικών, γαλακτοκομικών, κρέατος και αμύλου και παρατηρήθηκε σημαντικά μικρότερη κατανάλωση τροφίμων από όλες τις ομάδες, με εξαίρεση την ομάδα του αμύλου, από τα αυτιστικά παιδιά σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παρόλο που οι διαφορές αυτές δεν εντοπίστηκαν ανάμεσα στις οικογένειες των παιδιών.

Επιπλέον το 2006 η ομάδα του Schreck πραγματοποίησε μια ακόμα μελέτη με σκοπό να διερευνήσει την επιλεκτικότητα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές αναφορικά με την ποσότητα κατανάλωσης διαφορετικών τροφίμων από συγκεκριμένες ομάδες. Έτσι συγκεντρώθηκαν 137 παιδιά με αυτιστικές διαταραχές ηλικίας 4 έως 12 ετών των οποίων η επιλεκτικότητα εξετάστηκε μέσω συμπλήρωσης ειδικών ερωτηματολογίων από τους γονείς, τα οποία ανέφεραν τρόφιμα από συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων και κάθε ομάδα περιέχει περισσότερα από 10 τρόφιμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα παιδιά κατανάλωναν λιγότερα από δέκα τρόφιμα από κάθε ομάδα τροφίμων με εξαίρεση την ομάδα των υδατανθράκων, ενώ οι οικογένειες των παιδιών κατανάλωναν πολύ περισσότερα τρόφιμα από κάθε ομάδα. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν τις υποθέσεις για αυξημένη επιλεκτικότητα και μειωμένη ποικιλία στην διατροφή παιδιών με αυτιστικές διαταραχές.

Μια ακόμα ενδεικτική έρευνα για τις διατροφικές διαταραχές των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές πραγματοποιήθηκε από τον Bandini και τους συνεργάτες του το 2010, σε δείγμα 53

παιδιών με αυτιστική διαταραχή και 58 φυσιολογικά αναπτυσσόμενα ηλικίας 3 έως 11 ετών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας το σύνολο των παιδιών εμφάνισε άρνηση για κάποιο τρόφιμο ωστόσο τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφάνισαν κατά μέσο όρο άρνηση σε περισσότερα τρόφιμα, ιδιαίτερα στην ομάδα των λαχανικών η άρνηση κατά απόλυτη τιμή υπήρξε μεγαλύτερη. Μια ακόμα σημαντική παρατήρηση της μελέτης ήταν ότι η τάση άρνησης μειώνεται οριακά όσο τα παιδιά μεγαλώνουν. Η παρατήρηση αυτή ωστόσο εμφανίζεται μόνο στην ομάδα των παιδιών με αυτισμό και όχι στα τυπικά αναπτυσσόμενα. Τέλος διερευνήθηκε ένας ακόμα ισχυρισμός αρκετών γονέων ότι το παιδί τους με διαταραχή του φάσματος του αυτισμού εμφανίζει αυξημένη κατανάλωση συγκεκριμένων τροφίμων. Ωστόσο, η υπόθεση αυτή δεν επιβεβαιώθηκε από την μελέτη.

5.3 Διατροφικά προβλήματα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές κατά τη διάρκεια του γεύματος

Πέρα από τα προβλήματα που ήδη αναφέρθηκαν και τα οποία σχετίζονται και με τη διάρκεια των γευμάτων έχουν παρατηρηθεί και άλλα που σχετίζονται με την συμπεριφορά των παιδιών κατά τη διάρκεια του γεύματος. Έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις όπου τα παιδιά εμφανίζουν ασυνήθιστες συμπεριφορές κατά την διάρκεια του γεύματος όπως έντονο κλάμα και ουρλιαχτό, επιθετική και ανάρμοστη συμπεριφορά όπως το να φτύνει το παιδί το φαγητό του, να πετάει τα τρόφιμα μακριά και να εγκαταλείπει το τραπέζι, καθώς εμφάνιση υπερκινητικότητας και υπερδιέγερσης. (Ahearn 2001, Luiselli,1989)

Επιπλέον, η μειωμένη ικανότητα επικοινωνίας που αποτελεί χαρακτηριστικό σύμπτωμα των αυτιστικών διαταραχών σχετίζεται με την μειωμένη ικανότητα του παιδιού να εκφράσει τις διατροφικές του ανάγκες και επιλογές. Αυτό μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα κατά τη διάρκεια του γεύματος καθώς το παιδί δεν είναι σε θέση να εκφράσει αισθήματα όπως η πείνα, ο κορεσμός, προτιμήσεις και απέχθειες απέναντι σε τρόφιμα και παράλληλα δεν μπορεί να δεχθεί την θετική επιρροή των γονέων για τη σωστή συμπεριφορά κατά τη διάρκεια των γευμάτων. (Raiten, 1986)

Τέλος, ένα άλλο χαρακτηριστικό σύμπτωμα των αυτιστικών διαταραχών στα παιδιά, η ύπαρξη συγκεκριμένων στερεοτυπικών συμπεριφορών μπορεί να σχετίζεται με κάποια από τα προβλήματα που όπως αναφέραμε εμφανίζουν τα παιδιά κατά τη διάρκεια των γευμάτων. Τέτοια είναι, η άρνηση για κάποιο καινούριο τρόφιμο και η μεγάλη κατανάλωση άλλων

συγκεκριμένων, η επιθυμία για συγκεκριμένη παρουσίαση των τροφίμων στο πιάτο και η μειωμένη ποικιλία. (Raiten, 1986, Whitely, 2000, Williams, 2000)

Το 2008, ο Lukens και οι συνεργάτες του μελέτησαν την ύπαρξη προβλημάτων συμπεριφοράς κατά τη διάρκεια των γευμάτων σε παιδιά με αυτιστικές διαταραχές. Συγκεκριμένα σε δείγμα 68 παιδιών με αυτισμό και 40 τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, τα οποία αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, ηλικίας 3 έως 11 ετών συγκεντρώθηκαν πληροφορίες σχετικά με την συχνότητα εμφάνισης περίπου 20 διατροφικών προβλημάτων κατά τη διάρκεια του γεύματος, όπως άρνηση, κατανάλωση τροφίμων με συγκεκριμένη υφή και χρώμα, αλλά και άλλα. Οι πληροφορίες για κάθε παιδί δόθηκαν από το γονέα ή κάποιον άλλο παροχέα φροντίδας στο παιδί. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι το 70% των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζει τουλάχιστον ένα πρόβλημα κατά τη διάρκεια των γευμάτων.

Έρευνα του Provost και των συνεργατών του που πραγματοποιήθηκε το 2010, επιβεβαιώνει τα δεδομένα των περισσότερων ερευνών για διαφορές ανάμεσα στην διατροφική συμπεριφορά παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και τυπικά αναπτυσσόμενων. Συγκεκριμένα, συγκεντρώθηκαν από τους ερευνητές 24 παιδιά σε κάθε ομάδα ηλικίας 3 έως 6 ετών και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα περισσότερα παιδιά της ομάδας των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα επιλεκτικότητα, επιλογή τροφίμων με βάση το χρώμα και την υφή, άρνηση για νέα τρόφιμα, κατανάλωση μη βρώσιμων τροφίμων και δυσκολία να καταναλώσουν φαγητό σε εστιατόριο ή στο σχολείο.

5.4 Συσχέτιση διατροφικών προβλημάτων με τη διαιτητική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό.

Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα, ένα σύνολο μελετών έχει ασχοληθεί με τη διερεύνηση διατροφικών προβλημάτων σε παιδιά με αυτιστικές διαταραχές, αποδεικνύοντας ότι όντως υπάρχουν και επηρεάζουν την διατροφή και τις επιλογές των παιδιών. Ενδιαφέρον επομένως παρουσιάζει η διερεύνηση της συσχέτισης των προβλημάτων αυτών, με την διατροφική πρόσληψη των παιδιών με αυτισμό.

Πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει την παραπάνω συσχέτιση, τα αποτελέσματα ωστόσο είναι αντικρουόμενα. Ο Shearer το 1982, υποστήριζε ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφάνιζαν σημαντικά χαμηλότερη πρόσληψη ασβεστίου και ριβοφλαβίνης, ενώ εμφανίζουν και μικρότερη ποικιλία στην διατροφή τους. Το 1986, ωστόσο, ο Raiten και οι συνεργάτες τους αναλύοντας την διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό σε σχέση με τυπικά αναπτυσσόμενα με τη χρήση ημερολογίου καταγραφής επτά ημερών δεν διέκρινε καμία διαφορά ανάμεσα τις

δυο ομάδες παιδιών. Ενώ το 1998 ο Cornish συνέκρινε την διαιτητική πρόσληψη των παιδιών με αυτισμό με τις συστάσεις που υπάρχουν για κάθε μακροθρεπτικό και μικροθρεπτικό συστατικό και υποστήριξε ότι το 53% των παιδιών εμφανίζει μειωμένη πρόσληψη σε ένα τουλάχιστον συστατικό, όπως η βιταμίνη C, ο σίδηρος, το ασβέστιο, η βιταμίνη D, η νιασίνη, η ριβοφλαβίνη και η βιταμίνη B₃.

Το 2007, ο Levy και οι συνεργάτες του διερεύνησαν την διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτιστικές διαταραχές, συγκρίνοντας την με τις τιμές αναφοράς που υπάρχουν ως σύσταση για πρόσληψη θρεπτικών συστατικών σε παιδιά. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε μέσω καταγραφής ημερολογίου από τους γονείς των παιδιών για τρεις μέρες και δεν έδειξε ανεπάρκεια σε κάποιο από τα θρεπτικά συστατικά που μελετήθηκαν. Αντίθετα, η πρόσληψη ενέργειας, υδατανθράκων και λιποειδών έφτανε κατά μέσο όρο το 95-101% της συνιστώμενης πρόσληψης και η πρόσληψη πρωτεΐνης το 211%.

Το 2009, ο Herndon και οι συνεργάτες του μελέτησαν την ύπαρξη διαφορών ανάμεσα στη διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Σε δείγμα 77 παιδιών, 46 από τα οποία είχαν διαγνωσθεί με αυτιστικές διαταραχές και τα 31 χαρακτηρίστηκαν ως τυπικά αναπτυσσόμενα, δεν βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες αναφορικά με την πρόσληψη ενέργειας, υδατανθράκων, λιποειδών, πρωτεϊνών και διαιτητικών ινών. Διαφορές ανιχνεύθηκαν στην πρόσληψη ασβεστίου όπου τα παιδιά με αυτισμό ($746,52 \pm 444,31 \text{ mg}$) προσλάμβαναν σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα ($894,08 \pm 292,55 \text{ mg}$) και στην πρόσληψη βιταμίνης E όπου συνέβαινε το αντίθετο ($7,95 \pm 6,37 \text{ mg}$ vs. $4,44 \pm 1,83 \text{ mg}$).

Τέλος ενδιαφέρον παρουσιάζει έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2011 και στην οποία συμμετείχαν 44 παιδιά. Τα παιδιά διακρίθηκαν αρχικά σε δυο ομάδες των 22 ατόμων, την ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και την ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές. Επιπλέον, διάκριση πραγματοποιήθηκε ανάμεσα στα αυτιστικά παιδιά με βάση την εκδήλωση ή μη επιλεκτικότητας στην διατροφή. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές που εμφανίζουν επιλεκτικότητα βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο για εμφάνιση ανεπαρκειών ασβεστίου, ψευδαργύρου, βιταμίνης B₁₂ και βιταμίνης D σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο ανεπάρκειας μόνο ασβεστίου σε σχέση με τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές που δεν εμφανίζουν επιλεκτικότητα (Zimmer, 2011).

4. ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης και του αριθμού ορισμένων μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας παιδιών με αυτιστικές διαταραχές συγκρίνοντας τις τιμές αυτές με τις αντίστοιχες παιδιών ίδιας ηλικίας, σωματικού βάρους και ύψους που εμφανίζουν τυπική ανάπτυξη καθώς και η συσχέτιση της διατροφικής πρόσληψης με τους μικροοργανισμούς του παχέος εντέρου.

Για την επίτευξη αυτών των στόχων, επιλέχθηκαν οι διατροφικοί παράγοντες που θα μελετηθούν προκειμένου να αξιολογηθεί η διατροφική πρόσληψη των αυτιστικών παιδιών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου των τυπικά αναπτυσσόμενων και οι οποίοι είναι η ενέργεια, το ποσοστό των πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιποειδών, κορεσμένων λιπαρών οξέων, πολυακόρεστων και μονοακόρεστων, τα γραμμάρια των διαιτητικών ινών και οι ποσότητες της βιταμίνη C και του ασβεστίου. Ενώ από το σύνολο των μικροοργανισμών του παχέος εντέρου τα βακτήρια *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και τα ολικά αναερόβια μεσόφιλα βακτήρια μελετήθηκαν, συγκρίθηκαν ανάμεσα στις δυο ομάδες και συσχετίστηκαν με τους διατροφικούς παράγοντες τόσο στο σύνολο των παιδιών όσο και ξεχωριστά στις δυο επιμέρους ομάδες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο : ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 37 παιδιά ηλικίας 4 έως 10 ετών , από τα οποία τα 18 έπασχαν από αυτιστικές διαταραχές ενώ τα υπόλοιπα 20 χαρακτηρίστηκαν ως τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και αποτέλεσαν την ομάδα έλεγχου.

Οι ερευνητές της μελέτης ήρθαν σε επαφή με οικογένειες παιδιών με αυτιστικές διαταραχές μέσω του Νοσοκομείου Παίδων «Αγία Σοφία» και συγκεκριμένα σε συνεργασία με την Πανεπιστημιακή Παιδοψυχιατρική Κλινική και το Τμήμα Αναπτυξιακής Παιδιατρικής του νοσοκομείου. Οι γονείς αφού ενημερώθηκαν λεπτομερώς για τον σκοπό της μελέτης και τις υποχρεώσεις που θα αναλάμβαναν απέναντι σε αυτή δέχτηκαν να συμμετάσχει το παιδί τους στην έρευνα. Τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά βρέθηκαν από τυχαίες οικογένειες που ενημερώθηκαν για την μελέτη και θέλησαν να συμμετέχουν. Επιπλέον στην ομάδα ελέγχου συμπεριλήφθηκαν τα αδέρφια των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές τα οποία παρουσίαζαν τυπική ανάπτυξη.

Από κάθε οικογένεια ζητήθηκε η συμπλήρωση ενός τριήμερου ημερολογίου καταγραφής τροφίμων και ενός επταήμερου ερωτηματολογίου γαστρεντερολογικών συμπτωμάτων, καθώς και ένα δείγμα κοπράνων. Ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις η συλλογή του δείγματος κοπράνων δεν ήταν δυνατή. Μερικά παιδιά για παράδειγμα αρνήθηκαν να συνεργαστούν, ενώ σε άλλες περιπτώσεις οι ώρες που τα παιδιά συνήθιζαν να πηγαίνουν τουαλέτα ήταν ασύνδετες με το ωράριο λειτουργίας του εργαστηρίου. Αποτέλεσμα αυτών, είναι η έλλειψη δείγματος κοπράνων από 3 παιδιά με αυτιστικές διαταραχές, από 2 αδέρφια με τυπική ανάπτυξη και 1 παιδί με τυπική ανάπτυξη.

Κριτήρια αποκλεισμού για τη συμμετοχή στη μελέτη ήταν η λήψη αντιβιοτικών λιγότερο από δυο μήνες πριν την δειγματοληψία και η συστηματική κατανάλωση προβιοτικών και πρεβιοτικών συμπληρωμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο : ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

7.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που συλλέχθηκαν ήταν η ηλικία, το βάρος και το ύψος των παιδιών. Τα δεδομένα αυτά προήλθαν από συνέντευξη των ερευνητών με τους γονείς των παιδιών. Επιπλέον, συγκεντρώθηκαν πληροφορίες για τον τρόπο γέννησης των παιδιών, αν γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό ή με καισαρική, και για το αν πραγματοποιήθηκε μητρικός θηλασμός για περισσότερο από ένα μήνα. Οι πληροφορίες αυτές προήλθαν για τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές κυρίως από τη μελέτη των φακέλων που διατηρεί για κάθε παιδί το Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία», ενώ για τα υπόλοιπα παιδιά η πληροφορία αυτή δόθηκε από τους γονείς.

7.2 Αξιολόγηση διαιτητικής πρόσληψης

Η αξιολόγηση της διαιτητικής πρόσληψης των παιδιών έγινε με τη συμπλήρωση από τους γονείς ενός τριήμερου ημερολογίου καταγραφής τροφίμων. Συγκεκριμένα ζητήθηκε από τους γονείς να καταγράψουν δύο ημέρες από Δευτέρα έως Παρασκευή και μια ημέρα Σαββατοκύριακου την συνολική ημερήσια κατανάλωση τροφίμων και ποτών των παιδιών τους. Οι γονείς κατέγραψαν το όνομα και τη μάρκα του τροφίμου αν αυτό ήταν συσκευασμένο, την ποσότητα που κατανάλωσε το παιδί τους καθώς και πληροφορίες για το πότε έγινε η κατανάλωση, που, μαζί με ποίον και το πόσο ήσυχο ή ανήσυχο ήταν το παιδί τους πριν, κατά τη διάρκεια και μετά το τέλος του γεύματος.

Η επιλογή του τριήμερου ημερολογίου καταγραφής τροφίμων για την αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης των παιδιών πραγματοποιήθηκε από τους ερευνητές και στηρίχτηκε στο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής να προσδιορίζει με ακρίβεια την πραγματική πρόσληψη θρεπτικών συστατικών ενός ατόμου ή μια μικρής ομάδας ατόμων, χωρίς να απαιτεί ικανότητες μνήμης και με εύκολο προσδιορισμό των μερίδων. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου, το ότι είναι χρονοβόρα και απαιτεί μεγάλο βαθμό συνεργασίας από τους γονείς των παιδιών, αντιμετωπίστηκαν από τους ερευνητές μέσω της επιλογής, το ημερολόγιο να αφορά 3 μόνο μέρες ώστε να μην γίνει κουραστικό και επηρεάσει τις συνήθειες της οικογένειας.

7.3 Δειγματοληψία κοπράνων

Για την διεξαγωγή της μελέτης απαιτείται η συλλογή δείγματος κοπράνων, η οποία πραγματοποιήθηκε από τους γονείς των παιδιών. Για το σκοπό αυτό δόθηκε σε αυτούς ένας πλαστικός συλλέκτης κοπράνων, ένας μικρότερος αποστειρωμένος συλλέκτης κοπράνων SARSTEDT με κοχλιάριο ενσωματωμένο στο καπάκι και μια φορητή συσκευή δημιουργίας αναερόβιας ατμόσφαιρας (GENbag anaer, 45534 BiomerieuxRSA, Marcy-1'Etoile/France). Στον πλαστικό συλλέκτη κοπράνων έγινε η συλλογή της συνολικής ποσότητας των κοπράνων και αμέσως μετά μεταφέρθηκε στον αποστειρωμένο συλλέκτη μια μικρότερη ποσότητα (τουλάχιστον μέχρι τη μέση του συλλέκτη) με τη βοήθεια του κοχλιαρίου. Στην συνέχεια ο αποστειρωμένος συλλέκτης τοποθετήθηκε στην φορητή συσκευή δημιουργίας αναερόβιας ατμόσφαιρας προκειμένου να προστατευθούν οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί του παχέος εντέρου που μελετάμε από την επιβλαβή παρατεταμένη επίδραση του ατμοσφαιρικού αέρα. Η λήψη του δείγματος κοπράνων και η παροδική εναποθήκευσή τους σε αναερόβιες συνθήκες λάμβανε χώρα το μέγιστο εντός μιας ώρας από την κένωση ενώ η μεταφορά τους στο Εργαστήριο Βιολογίας Βιοχημείας Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, όπου πραγματοποιήθηκαν οι επεξεργασίες των κοπράνων, πραγματοποιούνταν το μέγιστο δυο ώρες μετά την παραγωγή του δείγματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο : ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

8.1 Θρεπτικά υλικά καλλιέργειας και απομόνωσης

Όπως διατυπώθηκε και στο σκοπό της μελέτης στόχος είναι η καταμέτρηση συγκεκριμένων πληθυσμών της εντερικής μικροχλωρίδας: ολικά αναερόβια μεσόφιλα βακτήρια, λακτοβάκιλλους και μπιφιδοβακτήρια ανά γραμμάριο κοπράνων. Η μέθοδος που ακολουθείται για την καταμέτρηση των βακτηριακών πληθυσμών στα κόπρανα, είναι η μέθοδος καταμέτρησης των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων μετά από διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις.

Πρώτο βήμα για την επίτευξη αυτού του στόχου είναι επιλογή του κατάλληλου θρεπτικού υλικού για την καλλιέργεια των μικροοργανισμών και την απομόνωση του από το σύνολο των μικροοργανισμών του παχέος εντέρου. Τα υλικά επιλέχθηκαν μετά από μελέτη της ήδη υπάρχουσας βιβλιογραφίας στην οποία περιγράφονται τα θρεπτικά υλικά που είναι κατάλληλα για την ανάπτυξη κάθε μικροοργανισμού.

Λακτοβάκιλλοι (*Lactobacillus.spp*)

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια και απομόνωση των στελεχών του γένους *Lactobacillus.spp* είναι το εκλεκτικό υλικό Rogosa agar (1.05413.0500, MERCK) (Rogosa και συν., 1951). Η προετοιμασία του θρεπτικού υλικού Rogosa agar απαιτεί την ανάμιξη 74,5 g υλικού σε 1000ml απιονισμένου ύδατος, ρύθμιση του pH με τη βοήθεια οξικού οξέος στη τιμή $5,5 \pm 0,2$ στους 25°C και θέρμανση μέχρι βρασμού. Αμέσως μετά το βρασμό το υλικό αφήνεται να κρυώσει μέχρι τους 40 °C με 50 °C και ακολουθεί η κατανομή και επίστρωση του σε τρυβλία petri των 90mm με αναλογία περίπου 20ml θρεπτικού υλικού ανά τρυβλίο, μέσα σε θάλαμο νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.

Τα έτοιμα τρυβλία, αφού στεγνώσουν, αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C και καταναλώνονται, εντός επτά ημερών. Πριν την επίστρωση του δείγματος σε αυτά, τα τρυβλία ανοίγονται για 45 λεπτά μέσα στο θάλαμο νηματικής ροής προκειμένου να στεγνώσουν.

Μπιφιδοβακτήρια (*Bifidobacterium* spp)

Για την καλλιέργεια των στελεχών του γένους *Bifidobacterium* spp χρησιμοποιείται το εκλεκτικό υλικό Beerens'agar (Beerens,H.1990, Beerens,H.1991). Για την παρασκευή του υλικού προσθέτουμε 42,5g Columbia Agar Base, 5g άγαρ και 0,5g υδροχλωρικής κυστεΐνης (g HCl cysteine. H₂O= g HCl cysteine συνταγής X175,64/157,64) ως αναγωγικός παράγοντας σε 1000ml απιονισμένο νερό και το υλικό υποβάλλεται σε βρασμό μέχρι διάλυσης. Στη συνέχεια το υλικό αφήνεται να κρυώσει μέχρι τους 40 °C με 50 °C και προστίθεται 5g γλυκόζης και 5 ml προπιονικού οξέος. Τέλος προστίθεται διάλυμα NaOH 1N για την ρύθμιση του pH στο $5 \pm 0,1$. Ακολουθεί η κατανομή και επίστρωση του σε τρυβλία petri των 90mm με αναλογία περίπου 20ml θρεπτικού υλικού ανά τρυβλίο, μέσα σε θάλαμο νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.

Τα έτοιμα τρυβλία, αφού στεγνώσουν, αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C και πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 48 ωρών από την ώρα παρασκευής τους. Πριν την επίστρωση του δείγματος σε αυτά, τα τρυβλία στεγνώνονται μέσα στο θάλαμο νηματικής ροής.

Ολικά αναερόβια μεσόφιλα βακτήρια

Το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια και την καταμέτρηση της συνολικής αναερόβιας μικροχλωρίδας είναι το θρεπτικό υλικό γενικής χρήσης Columbia Blood Agar (CBA), εμπλουτισμένο με 5% αποστειρωμένο αίμα. Για την παρασκευή του θρεπτικού υλικού 42 g Columbia Agar και 5g άγαρ προστίθενται σε 950ml απιονισμένου ύδατος και το υλικό αποστειρώνεται στους 121 °C για 15 λεπτά. Μετά το τέλος της αποστείρωσης το υλικό ψύχεται μέχρι θερμοκρασίας 45 °C με 50 °C και στη συνέχεια γίνεται προσθήκη σε αυτό 50 ml αίματος (Defibrinated Horse blood) υπό ασηπτικές συνθήκες στο θάλαμο νηματικής ροής. Αμέσως μετά την προσθήκη του αίματος ακολουθεί η κατανομή και επίστρωση του σε τρυβλία petri των 90mm με αναλογία περίπου 20ml θρεπτικού υλικού ανά τρυβλίο, μέσα σε θάλαμο νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.

Στη συνέχεια τα τρυβλία αφού στεγνώσουν φυλάσσονται στο ψυγείο σε θερμοκρασία 2-8 °C και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέχρι και ένα μήνα μετά την παρασκευή τους. Πριν την επίστρωση τους με το δείγμα τα τρυβλία ανοίγονται στο θάλαμο νηματικής ροής για 45 λεπτά προκειμένου να στεγνώσουν.

8.2 Μέσο αραίωσης

Πριν την επίστρωση του δείγματος στα θρεπτικά υλικά, το δείγμα υπόκειται σε διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις έτσι ώστε να είναι δυνατή η καταμέτρηση των μικροβιακών πληθυσμών. Ως κατάλληλο μέσο για την πραγματοποίηση των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων επιλέγεται το διάλυμα PPS (Peptone Physiological Saline). Για την παρασκευή του διαλύματος PPS χρησιμοποιείται 0,1% Bacteriological peptone (0,1 g ανά 1000ml διαλύματος) και 0,85% NaCl (0,85g ανά 100ml διαλύματος) σε απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αφήνεται σε συνεχή ανάδευση και με τη βοήθεια διανομέα μοιράζεται ανά 9ml σε γυάλινα φιαλίδια Universal. Τα φιαλίδια υποβάλλονται σε αποστείρωση στους 121 °C για 15 λεπτά και αφού κρυσώσουν αποθηκεύονται τους 2-8 °C.

Πριν την επεξεργασία του δείγματος κοπράνων, τα φιαλίδια Universal με το διάλυμα PPS βράζονται στους 100 °C για 20 λεπτά προκειμένου να απομακρυνθεί το διαλυμένο οξυγόνο από το μέσο αραίωσης.

8.3 Επεξεργασία του δείγματος υπό αναερόβιες συνθήκες

Μετά τη συλλογή του δείγματος και τη μεταφορά του στο Εργαστήριο Βιολογίας Βιοχημείας Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου ξεκινά η επεξεργασία. Από τον μικρό αποστειρωμένο συλλέκτη, ο οποίος βρίσκεται υπό αναερόβιες συνθήκες μέσω της φορητής συσκευής δημιουργίας αναερόβιας ατμόσφαιρας, μεταφέρεται 1 g κοπράνων σε ένα γυάλινο φιαλίδιο με 9 ml προβρασμένου διαλύματος PPS. Το φιαλίδιο που περιέχει το γραμμάριο κοπράνων μαζί με 6 ακόμα φιαλίδια στα οποία θα πραγματοποιηθούν οι διαδοχικές αραιώσεις και τα τρυβλία με τα θρεπτικά υλικά που έχουν στεγνώσει στο θάλαμο νηματικής ροής μεταφέρονται εντός αναερόβιου επωαστικού θαλάμου (BACTRON™ 1.5 Anaerobic Environmental Chamber, SHELLAB) στον οποίο επικρατούν αναερόβιες συνθήκες (H₂ 5%, CO₂ 5%, N₂ 90% και O₂ 30 ppm) και θερμοκρασία 37° C. Ακολουθεί ομογενοποίηση των κοπράνων με το διάλυμα PPS με τη βοήθεια πιπέττας των 1000μl, χωρίς ανάδευση με τον υπερκείμενο αέρα και διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις. Πραγματοποιούνται συνολικά 6 διαδοχικές αραιώσεις με βάση την βιβλιογραφία για τον συγκεκριμένο ηλικιακό πληθυσμό και πραγματοποιούνται 3 επαναλήψεις ανά αραίωση.

Για το θρεπτικό υλικό Rogosa επιστρώθηκαν σε τρυβλία και στις δυο ομάδες οι αραιώσεις 10⁻¹, 10⁻², 10⁻⁴. Στο θρεπτικό υλικό Beerens agar επιστρώθηκαν στην ομάδα ελέγχου οι αραιώσεις 10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶, ενώ στην ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές

επιστρώθηκε μια επιπλέον αραιώση η 10^{-5} καθώς βιβλιογραφικά έχει φανεί ότι τα παιδιά αυτά έχουν στατιστικά σημαντικότερο αριθμό μπιφιδοβακτηρίων ανά γραμμάριο κοπράνων (Sydney M.Finegold,2010, James B Adams,2011). Τέλος, στο θρεπτικό υλικό CBA anaer στα παιδιά με τυπική ανάπτυξη επιστρώθηκαν σε τρυβλία οι αραιώσεις 10^{-6} και 10^{-7} και μια επιπλέον αραιώση, η 10^{-5} , στα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές.

Αφού ολοκληρωθούν οι διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις και επιλεγούν οι κατάλληλες αραιώσεις ανά θρεπτικό υλικό, μεταφέρονται σε κάθε τρυβλίο με τη βοήθεια πιπέττας 100μl διαλύματος. Για κάθε θρεπτικό υλικό ανά αραιώση έχουμε 3 τρυβλία. Με τη χρήση αποστειρωμένης γυάλινης ράβδου και με φορά επίστρωσης από την αραιότερη προς την πυκνότερη αραιώση πραγματοποιείται η επίστρωση του διαλύματος στα θρεπτικά υλικά. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται αυστηρά εντός του αναερόβιου επωαστικού θαλάμου υπό ασηπτικές συνθήκες και τα τρυβλία αφήνονται να επωαστούν σε θερμοκρασία 37° C. Ο χρόνος επώασης τους καθορίζεται από το είδος του θρεπτικού υλικού, έτσι για τα θρεπτικά υλικά Rogosa και CBA anaer ο χρόνος είναι 48 ώρες ενώ για το θρεπτικό υλικό Beerens agar 78 ώρες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο : ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΑΠΟΙΚΙΩΝ

Μετά την επεξεργασία του δείγματος κοπράνων και την επώαση των τρυβλίων υπό τις κατάλληλες συνθήκες, αυτά απομακρύνονται από τον αναερόβιο επωαστικό θάλαμο και ξεκινά η παρατήρηση τους. Πρώτο βήμα για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων σε κάθε θρεπτικό υλικό είναι η επιλογή της κατάλληλης αραίωσης στην οποία θα γίνει η παρατήρηση των αποικιών. Η επιλογή αυτή γίνεται με βάση των αριθμό ανά τρυβλίο και επιλέγεται η αραίωση όπου η καταμέτρηση των αποικιών θα είναι εφικτή ενώ παράλληλα ο αριθμός τους δεν θα είναι μικρότερος από 10 αποικίες ανά τρυβλίο.

Αφού επιλεγεί η κατάλληλη αραίωση ξεκινά η στερεοσκοπική παρατήρηση των αποικιών και η περιγραφή τους. Τα στοιχεία που περιγράφονται είναι το μέγεθος της αποικίας σε χιλιοστόμετρα, το χρώμα, το σχήμα, η καμπυλότητα και η ύπαρξη γυαλιστερής ή αδρής επιφάνειας. Αφού περιγραφούν οι αποικίες ακολουθεί η χρώση Gram, η διαδικασία της καταλάσης και η παρατήρηση των μικροοργανισμών (δείγματα από τους διαφορετικούς τύπους αποικιών που εμφανίζονται στο τρυβλίο) στο μικροσκόπιο προκειμένου να γίνει η ταυτοποίηση τους.

Η διαδικασία της χρώσης Gram περιγράφεται ως εξής: σε καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα μεταφέρεται μια σταγόνα απιονισμένου ύδατος με το σταγονόμετρο. Στη συνέχεια μια μικρή ποσότητα της καλλιέργειας μεταφέρεται με αποστειρωμένο στη φλόγα βακτηριολογικό κρίκο και αναμιγνύεται με το νερό της αντικειμενοφόρου μέχρι να απλωθεί. Η αντικειμενοφόρος αφήνεται να στεγνώσει και στη συνέχεια με τη βοήθεια της φλόγας του λύχνου θανατώνονται τα κύτταρα και γίνεται προσήλωση στην επιφάνεια της αντικειμενοφόρου. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η παραλαβή του βακτηριακού επιχρίσματος στο οποίο θα πραγματοποιηθεί η διαδικασία της χρώσης. Συγκεκριμένα, το επίχρισμα καλύπτεται με κρυσταλλικό ιώδες(crystal violet) και αφήνεται για 20 δευτερόλεπτα, μετά το πέρας των οποίων ξεπλένεται με λίγο απιονισμένο νερό. Ακολουθεί το διάλυμα ιωδίου Gram (Lugol) που αφήνεται για 1 λεπτό, απομακρύνεται με απιονισμένο νερό και στη συνέχεια το επίχρισμα καλύπτεται με 95% αλκοόλη για 10 με 20 δευτερόλεπτα μέχρι ο διαλύτης να εκρέει από την αντικειμενοφόρο άχρωμος. Η δράση της αλκοόλης διακόπτεται πλένοντας την αντικειμενοφόρο με απιονισμένο νερό. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με κάλυψη του επιχρίσματος με σαφρανίνη για 20 δευτερόλεπτα και αφού ξεπλυθεί με απιονισμένο νερό, τοποθετείται σε δυο φύλλα διηθητικού

χαρτιού για να απομακρυνθεί η περίσσεια του νερού και είναι έτοιμη για μικροσκοπική παρατήρηση.

Η διαδικασία της δοκιμασίας της καταλάσης περιγράφεται ως εξής : σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετείται μια μικρή σταγόνα 3% H_2O_2 και μια μικρή ποσότητα από την καλλιέργεια μεταφέρεται και αναμιγνύεται με τη βοήθεια αποστειρωμένου στη φλόγα βακτηριολογικού κρίκου με το διάλυμα 3% H_2O_2 . Εάν με την ανάμειξη παρατηρηθεί αφρισμός, τότε ο μικροοργανισμός χαρακτηρίζεται ως θετικός στην δοκιμασία καταλάσης. Όλοι οι μικροοργανισμοί που μελετάμε έχουν ως χαρακτηριστικό να είναι αρνητικοί στην δοκιμασία της καταλάσης.

Αφού ολοκληρωθούν οι παραπάνω δυο διαδικασίες η αντικειμενοφόρος με το επίχρισμα στην οποία έχει γίνει η χρώση Gram μελετάται στο μικροσκόπιο και περιγράφεται αν ο μικροοργανισμός είναι gram θετικός ή αρνητικός, το σχήμα και το μέγεθος του και αν σχηματίζει αλυσίδες και ενδοσπόρια.

Από τους μικροοργανισμούς που μελετάμε οι Λακτοβάκιλλοι και τα Μπιφιδοβακτήρια θα υποστούν αυτοί την διαδικασία, ενώ η ολική αναερόβια μικροχλωρίδα όχι, καθώς σε αυτή δεν μας ενδιαφέρει να αναγνωρίσουμε τους διαφορετικούς μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται. Έτσι, οι Λακτοβάκιλλοι στο μικροσκόπιο εμφανίζονται ως gram θετικοί βάκιλοι ποικίλου μεγέθους, που σχηματίζουν διατεταγμένη διάταξη στο χώρο και αλυσίδες. Τα Μπιφιδοβακτήρια, εμφανίζονται ως gram θετικοί βάκιλοι ποικίλου μεγέθους και σχήματος Y ή με ροπαλοειδείς υφές που δύσκολα σχηματίζουν αλυσίδες.

Μετά την περιγραφή των διαφορετικών τύπων αποικιών, τη χρώση Gram, τη δοκιμασία καταλάσης και την παρατήρηση των χρώσεων στο μικροσκόπιο πραγματοποιείται η καταμέτρηση του αριθμού των αποικιών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά στις επιλεγμένες αραιώσεις και στα τρία τρυβλία.

Στο υλικό CBA, όπου αναπτύσσεται το σύνολο των αναερόβιων μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας, δεν πραγματοποιήθηκε η παραπάνω διαδικασία, παρά μόνο η καταμέτρηση του αριθμού των αποικιών σε κάθε τρυβλίο στις επιλεγμένες αραιώσεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο : ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΩΠΟΥ ΚΑΙ ΞΗΡΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ- ΜΕΤΡΗΣΗ pH

Από το άθροισμα του περιεχομένου του πλαστικού δοχείου, που περιείχε το σύνολο της κένωσης, και του μικρού αποστειρωμένου συλλέκτη στον οποίο μεταφέρθηκε μια μικρή ποσότητα κοπράνων υπολογίζεται το συνολικό βάρος της κένωσης. Από αυτή την ποσότητα 4g μεταφέρονται σε δυο μικρούς πλαστικούς συλλέκτες, από 2g στον καθένα, οι οποίοι τοποθετούνται στους -80° C για 24 ώρες και στη συνέχεια λυοφιλιώνονται στους -34° C για 24 ακόμα ώρες. Μετά το τέλος της διαδικασίας υπολογίζεται το ξηρό βάρος των κοπράνων και από το μέσο όρο των δυο συλλεκτών προκύπτει η επί της εκατό υγρασία των κοπράνων. Τέλος 1 g από το δείγμα κοπράνων μεταφέρεται σε φιαλίδιο Universal που περιέχει 10ml αποστειρωμένου απιονισμένου νερού. Το διάλυμα ομογενοποιείτε με ισχυρή ανάδευση και σε αυτό μετράτε το pH των κοπράνων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11^ο : ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η επεξεργασία των δεδομένων από τα τριήμερα ημερολόγια καταγραφής γίνεται με τη χρήση του λογισμικού Nutritionist Pro, version 2.2 (Axxya Systems-Nutritionist Pro, Stafford, TX, USA), η βάση δεδομένων σύστασης τροφίμων του οποίου στηρίζεται κυρίως στους Πίνακες Ανάλυσης Τροφίμων του USDA (US Department of Agriculture). Με τη βοήθεια του προγράμματος γίνεται ανάλυση της διαιτητικής πρόσληψης ως προς την περιεκτικότητα σε ενέργεια, πρωτεΐνη, υδατάνθρακες, λιπίδια, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, κορεσμένα λιπαρά οξέα, φυτικές ίνες, βιταμίνη C και ασβέστιο.

Τα δεδομένα από το Nutritionist Pro μεταφέρονται στο πρόγραμμα Microsoft Office Excel 2007, στο οποίο υπολογίζεται ο μέσος όρος και των τριών ημερών για τα παραπάνω μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά, καθώς και το ποσοστό των υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λιποειδών στην συνολική ενεργειακή πρόσληψη. Επιπλέον στο πρόγραμμα Microsoft Office Excel 2007 μεταφέρονται και τα δεδομένα για τους μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας κάθε παιδιού. Συγκεκριμένα, για κάθε ένα τρυβλίο στο οποίο έχουν

μετρηθεί αποικίες, υπολογίζεται ο δεκαδικός λογάριθμος του αριθμού των αποικιών και στη συνέχεια ο μέσος όρος των τριών δεκαδικών λογαρίθμων που προέκυψαν από τα τρία τρυβλία για κάθε μικροοργανισμό.

Επόμενο βήμα αποτελεί η στατιστική ανάλυση η οποία πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS Statistics 18.0 (Statistics – Statistical Package for Social Sciences). Στο πρόγραμμα εισήχθησαν τα ονόματα όλων των εθελοντών και ως μεταβλητές καταχωρήθηκαν οι εξής : η ύπαρξη ή όχι αυτιστικής διαταραχής, το φύλο, η ηλικία, το βάρος, το ύψος, η μέση ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη, τα ποσοστά των πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπιδίων, κορεσμένων λιπαρών οξέων, μονοακόρεστων λιπαρών οξέων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στην συνολική ενεργειακή πρόσληψη, το ποσό των διαιτητικών ινών, της βιταμίνης C και του ασβεστίου. Ακόμα καταχωρήθηκαν ο μέσος όρος των τριών δεκαδικών λογαρίθμων των αποικιών των λακτοβακίλλων, των μπιφιδοβακτηρίων και της ολικής αναερόβιας μικροχλωρίδας καθώς και το βάρος των κενώσεων κάθε εθελοντή και το pH των κοπράνων.

Ακολούθως χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο t-test, για δυο ανεξάρτητα δείγματα, προκειμένου να μελετηθούν οι διαφορές των μέσων για τις υπό εξέταση μεταβλητές με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας το $p < 0,05$. Συγκεκριμένα, έγιναν συγκρίσεις μεταξύ των παιδιών που έπασχαν από αυτιστικές διαταραχές και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, το βάρος, το ύψος, το θηλασμό, το βάρος των κοπράνων και το pH. Καθώς και για την διαπίστωση διαφορών όσων αφορά τη διαιτητική πρόσληψη, με σύγκριση των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών που αναφέρθηκαν, και την εντερική μικροχλωρίδα, με σύγκριση των δεκαδικών λογαρίθμων κάθε μικροοργανισμού.

Τέλος χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας το $p < 0,05$, προκειμένου να διερευνηθεί η συσχέτιση του αριθμού των μικροοργανισμών με τη διαιτητική πρόσληψη των παιδιών, τόσο στο σύνολο του δείγματος όσο και στις δυο ομάδες των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και των παιδιών με τυπική ανάπτυξη.

5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κεφάλαιο 12^ο : Σύγκριση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών

Τα 37 παιδιά της μελέτης ταξινομήθηκαν σε δυο ομάδες, την ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών που περιέχει 20 παιδιά και την ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές που περιέχει 18. Αρχικά στις δυο αυτές ομάδες πραγματοποιήθηκε σύγκριση βασικών ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, της ηλικίας, του βάρους και του ύψους. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

***Πίνακας 1:** Μέση τιμή του βάρους, ύψους και ηλικίας των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών.*

	<i>Παιδιά με αυτιστικές διαταραχές</i>	<i>Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	<i>Σφάλμα p</i>
Βάρος (kg)	26,53 ± 10,38	25,78± 8,59	0,726
Ύψος (m)	1,22± 0,17	1,23± 0,14	0,953
Ηλικία (έτη)	6,83± 2,32	6,73± 2,13	0,902

Παρατηρούμε ότι το μέσο βάρος και ύψος των παιδιών με αυτισμό(26,53kg & 1,22m) δεν διαφέρει από το αντίστοιχο βάρος και ύψος της ομάδας των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών (25,78kg & 1,23m) της μελέτης και παράλληλα δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στην ηλικία των παιδιών (6,83 vs. 6,73) .Είναι φανερό ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δυο ομάδες αναφορικά με το βάρος, την ηλικία και το ύψος των παιδιών που συμμετείχαν σε αυτές.

Κεφάλαιο 13^ο : Σύγκριση διατροφικής πρόσληψης

Προκειμένου να μελετήσουμε την διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό και κυρίως τις διαφορές της από αυτή των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, μελετήσαμε τις διαφορές που υπάρχουν στο μέσο όρο της ενεργειακής πρόσληψης τριών ημερών που καταγράφηκαν στα ειδικά ημερολόγια καταγραφής. Ακόμα, μελετήθηκε το ποσοστό των πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπαρών οξέων, ακόρεστων λιπαρών οξέων, μονοακόρεστων λιπαρών οξέων και των κορεσμένων στην μέση ενεργειακή πρόσληψη καθώς και οι ποσότητες των διαιτητικών ινών, του ασβεστίου και της βιταμίνης C. Οι διαφορές στην διατροφική πρόσληψη της ενέργειας καθώς και των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών ανάμεσα στις δυο ομάδες περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

***Πίνακας 2:** Μέση τιμή της ενέργειας, των ποσοστών των υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιποειδών, κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, διαιτητικών ινών, βιταμίνης C και ασβεστίου.*

	<i>Παιδιά με αυτιστικές διαταραχές</i>	<i>Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	<i>Σφάλμα p</i>
Ενέργεια (kcal)	<i>1735,27± 346,2</i>	<i>1676,85± 333,4</i>	<i>0,610</i>
Ποσοστό Υδατανθράκων (% της ενέργειας)	<i>47,23± 8,77</i>	<i>45,00± 6,00</i>	<i>0,921</i>
Ποσοστό Πρωτεϊνών (% της ενέργειας)	<i>14,91± 2,98</i>	<i>15,00± 2,29</i>	<i>0,386</i>
Ποσοστό λιποειδών (% της ενέργειας)	<i>38,93± 6,01</i>	<i>41,08± 5,02</i>	<i>0,257</i>
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	<i>14,52± 2,94</i>	<i>16,27± 3,34</i>	<i>0,104</i>
Ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	<i>15,74± 3,77</i>	<i>16,46± 3,00</i>	<i>0,537</i>

	<i>Παιδιά με αντιστικές διαταραχές</i>	<i>Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	<i>Σφάλμα p</i>
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	$5,12 \pm 1,08$	$4,70 \pm 1,10$	0,257
Διαιτητικές Ένες (g)	$12,58 \pm 6,46$	$10,82 \pm 4,52$	0,353
Βιταμίνη C (mg)	$93,05 \pm 66,32$	$71,49 \pm 41,37$	0,354
Ασβέστιο (mg)	$850,97 \pm 288,97$	$936,64 \pm 253,31$	0,259

Σύμφωνα με τον πίνακα δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων αναφορικά με την προσλαμβανόμενη ενέργεια, τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά. Ωστόσο μια τάση διαφοροποίησης μπορεί να διατυπωθεί αναφορικά με την κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων. Συγκεκριμένα τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά φαίνεται πως καταναλώνουν κατά μέσο όρο μεγαλύτερο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων, $16,28 \pm 3,35$, σε σχέση με τα παιδιά με αντιστικές διαταραχές, $14,53 \pm 2,94$, ($p=0,104$).

Κεφάλαιο 14^ο : Σύγκριση μικροβιακών πληθυσμών της εντερικής μικροχλωρίδας

Οι μικροοργανισμοί της εντερικής μικροχλωρίδας που μελετήθηκαν είναι οι λακτοβάκιλλοι, τα μπιφιδοβακτήρια και τα ολικά μεσόφιλα αναερόβια βακτήρια. Ο αριθμός των βακτηρίων αυτών στην εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών της μελέτης προσδιορίστηκε με τη βοήθεια δείγματος κοπράνων από τις οποίες προέκυψε ο αριθμός των αποικιών ανά γραμμάριο κοπράνων, τόσο στην ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές όσο και στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Οι διαφορές του αριθμού των αποικιών στις δυο ομάδες περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα.

***Πίνακας 3:** Μέση τιμή των δεκαδικών λογαρίθμων ανά γραμμάριο κοπράνων της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας, των μπιφιδοβακτηρίων και των λακτοβακίλλων.*

	<i>Παιδιά αυτιστικές διαταραχές</i>	<i>με Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	<i>Σφάλμα p</i>
Ολικά αναερόβια (Log₁₀CFU / g κοπράνων)	9,30 ± 0,51	9,28± 0,59	0,927
Μπιφιδοβακτή ρια (Log₁₀CFU / g κοπράνων)	8,19± 1,31	8,51± 0,72	0,434
Λακτοβάκιλλοι (Log₁₀CFU / g κοπράνων)	5,00± 0,98	4,20± 1,30	0,069

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα ο συνολικός αριθμός των αναερόβιων μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας και των μπιφιδοβακτηρίων δεν φαίνεται να διαφέρει ανάμεσα στις δυο ομάδες καθώς η διαφορά των μέσων όρων των δεκαδικών λογαρίθμων δεν φαίνεται να διαφέρει. Ωστόσο, οι λακτοβάκιλλοι των παιδιών με αυτιστικές

διαταραχές ($5,00 \pm 0,98 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / \text{g}$ κοπράνων) είναι περισσότεροι σε σχέση με των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών ($4,20 \pm 1,30 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / \text{g}$ κοπράνων), και η διαφορά αυτή τείνει να γίνει σημαντική στατιστικά ($p=0,069$).

Κεφάλαιο 15^ο : Σύγκριση βάρους και συχνότητας κένωσης και pH κοπράνων

Τα δείγματα κοπράνων αξιοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό όχι μόνο των μικροβιακών πληθυσμών της εντερικής μικροχλωρίδας παιδιών με αυτισμό αλλά και άλλων παραγόντων όπως το pH και το βάρος κένωσης. Ακόμα με τη βοήθεια των γονέων των παιδιών συλλέχθηκαν πληροφορίες για τη συχνότητα των κενώσεων ανά ημέρα. Στον παρακάτω πίνακα περιγράφονται οι μέσες τιμές του βάρους των κοπράνων.

Πίνακας 4: Μέση τιμή του συνολικού βάρους της κένωσης σε γραμμάρια, του pH των κοπράνων και της συχνότητας των κενώσεων ανά ημέρα.

	<i>Παιδιά αυτιστικές διαταραχές</i>	<i>με Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	<i>Σφάλμα p</i>
Βάρος κένωσης(g)	$84,80 \pm 80,65$	$50,92 \pm 24,42$	$0,312$
pH κοπράνων	$7,04 \pm 0,83$	$7,33 \pm 0,66$	$0,167$
Συχνότητα κενώσεων (αριθμός κενώσεων/ημέρα)	$1,15 \pm 0,65$	$1,01 \pm 0,46$	$0,459$

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα βλέπουμε ότι το βάρος των κενώσεων των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές ($84,80 \pm 80,65\text{g}$) είναι μεγαλύτερο από το αντίστοιχο βάρος των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών ($50,92 \pm 24,42\text{g}$). Ωστόσο η διαφορά αυτή δεν είναι σημαντική. Αναφορικά με το pH των κοπράνων και τη συχνότητα των κενώσεων παρατηρείται μικρή διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες η οποία δεν είναι σημαντική, και ειδικά για τη συχνότητα των κενώσεων μπορούμε να πούμε ότι είναι ίδια σε όλα τα παιδιά, μια κένωση κατά μέσο όρο ανά ημέρα.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διερεύνηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των παραγόντων που μελετήθηκαν στο σύνολο του πληθυσμού καθώς και στις δυο επιμέρους ομάδες παιδιών. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκαν οι πιθανές συσχετίσεις των τριών μικροβιακών πληθυσμών που μελετήθηκαν με την ενέργεια, τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά της διατροφής των παιδιών καθώς και με το pH και το βάρος των κοπράνων και τη συχνότητα κενώσεις, στο σύνολο του δείγματος. Στη συνέχεια οι συσχετίσεις οι οποίες προέκυψαν διερευνήθηκαν στις επιμέρους ομάδες των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και αυτών με αυτιστικές διαταραχές.

Κεφάλαιο 16^ο : Συσχέτιση των Λακτοβακίλλων με επιμέρους μεταβλητές στο σύνολο του δείγματος

Αρχικά πραγματοποιείται διερεύνηση της συσχέτισης του αριθμού των λακτοβακίλλων με τις πληροφορίες της διατροφικής πρόσληψης και αυτές που αφορούν το pH, το βάρος των κοπράνων και τη συχνότητα κενώσεις. Η συσχέτιση που μελετάται αφορά το σύνολο του δείγματος που περιέχει τόσο τα αυτιστικά όσο και τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5 : Συσχετίσεις των λακτοβακίλλων με τις υπόλοιπες παραμέτρους στο σύνολο του πληθυσμού.

<i>Συσχέτιση Λακτοβακίλλων με</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Ενέργεια (kcal)	<i>0,111</i>	<i>0,565</i>
Ποσοστό Υδατανθράκων (% της ενέργειας)	<i>-0,026</i>	<i>0,893</i>
Ποσοστό Πρωτεϊνών (% της ενέργειας)	<i>0,110</i>	<i>0,569</i>
Ποσοστό λιποειδών (% της ενέργειας)	<i>0,099</i>	<i>0,609</i>
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	<i>-0,003</i>	<i>0,986</i>

<i>Συσχέτιση Λακτοβακίλλων με</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,117	0,545
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,426	0,021
Διαιτητικές Ίνες (g)	0,335	0,075
Βιταμίνη C (mg)	0,124	0,523
Ασβέστιο (mg)	0,026	0,893
Βάρος κένωσης(g)	0,324	0,099
pH κοπράνων	0,072	0,709
Συχνότητα κενώσεων (αριθμός κενώσεων/ημέρα)	-0,095	0,630

Από τον παραπάνω πίνακα βλέπουμε ότι ο αριθμός των λακτοβακίλλων ανά γραμμάριο κοπράνων εμφανίζει μια ελαφριά θετική συσχέτιση με το ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της διατροφής ($r = 0,426$, $p = 0,021$), δηλαδή αύξηση του ποσοστού των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που προσλαμβάνουν από την διατροφή, αυξάνει το ποσοστό των λακτοβακίλλων. Φαίνεται ότι ο πληθυσμός των λακτοβακίλλων τείνει να αυξάνεται όταν αυξάνεται η ποσότητα των διαιτητικών ινών ($r = 0,335$, $p = 0,075$). Αντίστοιχη τάση παρουσιάζει ο πληθυσμός των λακτοβακίλλων όταν αυξάνεται το βάρος της κένωσης ($r = 0,324$, $p = 0,099$). Καμία άλλη συσχέτιση δεν παρατηρείται ανάμεσα στους λακτοβακίλλους και στις παραμέτρους που μελετώνται.

Κεφάλαιο 17^ο : Συσχέτιση των Μπιφιδοβακτηρίων με επιμέρους μεταβλητές στο σύνολο του δείγματος

Διερεύνηση πραγματοποιείται και για ανίχνευση της συσχέτισης του αριθμού των μπιφιδοβακτηρίων με τις πληροφορίες της διατροφικής πρόσληψης και αυτές που αφορούν το pH, το βάρος των κοπράνων και τη συχνότητα κενώσεις. Η συσχέτιση που μελετάται αφορά το σύνολο του δείγματος που περιέχει τόσο τα αυτιστικά όσο και τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6 : Συσχετίσεις των μπιφιδοβακτηρίων με τις υπόλοιπες παραμέτρους στο σύνολο του πληθυσμού

<i>Συσχέτιση μπιφιδοβακτηρίων με</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Ενέργεια (kcal)	- 0,109	0,574
Ποσοστό Υδατανθράκων (% της ενέργειας)	- 0,063	0,744
Ποσοστό Πρωτεϊνών (% της ενέργειας)	- 0,111	0,565
Ποσοστό λιποειδών (% της ενέργειας)	0,128	0,507
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,172	0,373
Ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	- 0,014	0,944
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,146	0,449

<i>Συσχέτιση μπιφιδобаκτηρίων με</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Διαιτητικές Ίνες (g)	- 0,151	0,434
Βιταμίνη C (mg)	0,001	0,996
Ασβέστιο (mg)	- 0,320	0,091
Βάρος κένωσης(g)	- 0,087	0,659
pH κοπράνων	- 0,104	0,590
Συχνότητα κενώσεων (αριθμός κενώσεων/ημέρα)	0,167	0,395

Με βάση τα δεδομένα του πίνακα ο αριθμός των μπιφιδобаκτηρίων ανά γραμμάριο κοπράνων δεν συσχετίζεται με την ενεργειακή κατανάλωση των παιδιών του δείγματος ούτε με κανένα από τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά της διατροφής τους. Μια τάση για ελαφριά συσχέτιση τους με το ασβέστιο μόνο φαίνεται να υπάρχει, δηλαδή αυξάνονται όταν αυξάνεται και η ποσότητα του ασβεστίου ($r = 0,320$, $p = 0,091$), ενώ καμία συσχέτιση δεν ανιχνεύεται με το βάρος και το pH των κοπράνων και τη συχνότητα των κενώσεων.

Κεφάλαιο 18^ο : Συσχέτιση της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας με επιμέρους μεταβλητές στο σύνολο του δείγματος

Στη συνέχεια γίνεται διερεύνηση της συσχέτισης του αριθμού της συνολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας με τις υπόλοιπες παραμέτρους που μελετάμε, την ενέργεια, τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά, το pH, το βάρος των κοπράνων και τη συχνότητα κενώσεις. Η συσχέτιση που μελετάται αφορά το σύνολο του δείγματος που περιέχει τόσο τα αυτιστικά όσο και τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα.

***Πίνακας 7 :** Συσχετίσεις της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης χλωρίδας με τις υπόλοιπες παραμέτρους στο σύνολο του πληθυσμού.*

<i>Συσχέτιση ολικών αναερόβιων με</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
Ενέργεια (kcal)	- 0,254	0,176
Ποσοστό Υδατανθράκων (% της ενέργειας)	- 0,091	0,634
Ποσοστό Πρωτεϊνών (% της ενέργειας)	0,001	0,997
Ποσοστό λιποειδών (% της ενέργειας)	0,048	0,800
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,334	0,071
Ποσοστό μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	- 0,145	0,444
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	- 0,285	0,126
Διαιτητικές Ίνες (g)	- 0,327	0,078
Βιταμίνη C (mg)	- 0,020	0,917
Ασβέστιο (mg)	- 0,023	0,902
Βάρος κένωσης(g)	- 0,297	0,150
pH κοπράνων	- 0,145	0,445

Η ολική αναερόβια μεσόφιλη χλωρίδα του εντέρου, η οποία αφορά το σύνολο των αναερόβιων μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας δεν εμφανίζει σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα καμία σημαντική συσχέτιση τόσο με τις μεταβλητές που αφορούν την διατροφική πρόσληψη όσο και με παράγοντες που αφορούν το βάρος και το pH των κοπράνων και την συχνότητα των κενώσεων. Θα μπορούσαμε ωστόσο να σχολιάσουμε την τάση για αύξηση της ολικής αναερόβιας μικροχλωρίδας, όταν αυξάνεται το ποσοστό των κορεσμένων λιπαρών οξέων ($r = 0,334$, $p = 0,071$), ενώ μειώνεται όταν αυξάνεται η ποσότητα των διαιτητικών ινών ($r = -0,327$, $p = 0,078$).

Κεφάλαιο 19^ο : Συσχέτιση του συνόλου των μικροοργανισμών τις μελέτης με τις επιμέρους μεταβλητές στις δυο ομάδες του δείγματος

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα οι συσχετίσεις και οι τάσεις για κάποια συσχέτιση που εμφανίζονται στο σύνολο του πληθυσμού και αφορούν τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν με τις επιμέρους παραμέτρους της μελέτης είναι οι εξής:

- Συσχέτιση λακτοβακίλλων με πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ($r = 0,426$, $p = 0,021$) και τάση συσχέτισης με διαιτητικές ίνες ($r = 0,335$, $p = 0,075$) και βάρος κοπράνων ($r = 0,324$, $p = 0,099$),
- τάση συσχέτισης μπιφιδοβακτηρίων με το ασβέστιο ($r = 0,320$, $p = 0,091$) και
- τάση συσχέτισης της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας με τις διαιτητικές ίνες ($r = -0,327$, $p = 0,078$) και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ($r = 0,334$, $p = 0,071$).

Οι παραπάνω συσχετίσεις θα μελετηθούν ξεχωριστά στην ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές. Τα αποτελέσματα αυτών των συσχετίσεων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 8 : Συσχετίσεις λακτοβακίλλων στις δυο επιμέρους ομάδες με τις σημαντικότερες συσχετίσεις στο σύνολο του δείγματος.

<i>Συσχέτιση Λακτοβακίλλων με</i>	<i>Παιδιά με αυτιστικές διαταραχές</i>		<i>Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	
	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	-0,022	0,943	0,168	0,535
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,022	0,943	0,406	0,119
Διαιτητικές Ίνες (g)	-0,033	0,915	0,258	0,284
Ασβέστιο (mg)	0,038	0,901	-0,029	0,914
Βάρος κένωσης(g)	0,140	0,665	0,311	0,260

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι καμία από τις συσχετίσεις των λακτοβακίλλων που ανιχνεύθηκαν στο σύνολο του δείγματος δεν εμφανίζονται όταν μελετάμε την ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων και των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές ξεχωριστά.

Πίνακας 9 : Συσχετίσεις μπιφιδοβακτηρίων στις δυο επιμέρους ομάδες με τις σημαντικότερες συσχετίσεις στο σύνολο του δείγματος

	Παιδιά με αυτιστικές διαταραχές		Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά	
Συσχέτιση μπιφιδοβακτηρίων με	R	P	R	P
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	-0,115	0,707	0,547	0,028
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,522	0,067	0,026	0,922
Διαιτητικές Ίνες (g)	-0,176	0,566	0,076	0,778
Ασβέστιο (mg)	-0,434	0,138	-0,103	0,704
Βάρος κένωσης(g)	-0,154	0,616	-0,032	0,909

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στο συνολικό δείγμα τα μπιφιδοβακτήρια εμφανίζουν μια τάση σύνδεσης με το προσλαμβανόμενο από τη διατροφή ασβέστιο. Η τάση αυτή ωστόσο δεν εμφανίζεται σε καμία από τις δυο επιμέρους ομάδες του δείγματος. Αντίθετα διατυπώνεται μια νέα τάση για αύξηση του αριθμού των μπιφιδοβακτηρίων, όταν αυξάνεται το ποσοστό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της διατροφής ($r=0,522$, $p=0,067$).

Πίνακας 9 : Συσχετίσεις ολικών αναερόβιων στις δυο επιμέρους ομάδες με τις σημαντικότερες συσχετίσεις στο σύνολο του δείγματος.

	<i>Παιδιά με αυτιστικές διαταραχές</i>		<i>Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά</i>	
<i>Συσχέτιση ολικών αναερόβιων με</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
Ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	0,020	0,946	0,588	0,017
Ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (% της ενέργειας)	-0,248	0,392	-0,341	0,196
Διαιτητικές Ίνες (g)	-0,552	0,041	-0,062	0,821
Ασβέστιο (mg)	-0,226	0,436	0,115	0,672
Βάρος κένωσης(g)	-0,429	0,144	-0,061	0,830

Παρατηρούμε ότι ενώ στο σύνολο των εθελοντών υπήρχε απλώς μία τάση ($r = -0,327$, $p = 0,078$) για μείωση της ολικής αναερόβιας μικροχλωρίδας, όταν αυξάνονταν η ποσότητα των διαιτητικών ινών, στην επιμέρους ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές γίνεται σημαντική αυτή τάση ($r = -0,552$, $p = 0,041$) ενώ δεν εμφανίζεται καμία τέτοια συσχέτιση στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($r = -0,062$, $p = 0,821$). Ακόμα η τάση σύνδεσης των κορεσμένων λιπαρών οξέων ($r = 0,334$, $p = 0,071$) με την ολική αναερόβια μεσόφιλη μικροχλωρίδα στο σύνολο του δείγματος, εμφανίζεται στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($r = 0,588$, $p = 0,017$) ως

σημαντικά ελαφρά θετική συσχέτιση ενώ δεν υπάρχει συσχέτιση των δυο αυτών παραγόντων στα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές ($r = 0,020$, $p = 0,946$).

Είναι φανερό ότι ο αυτισμός αποτελεί ένα σύνολο αναπτυξιακών διαταραχών που επηρεάζουν τη ζωή των ασθενών με ποικίλους τρόπους. Πέρα από τα κλασικά συμπτώματα των αυτιστικών διαταραχών, τα οποία σχετίζονται με τις ικανότητες επικοινωνίας του παιδιού, την ανάπτυξη κοινωνικών δεξιοτήτων και την εμφάνιση στερεοτυπικών συμπεριφορών έγινε κατανοητό ότι πιθανά ο αυτισμός να σχετίζεται με αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα και με την εμφάνιση διατροφικών προβλημάτων στα παιδιά αυτά. Οι μηχανισμοί που επηρεάζουν τις αλλαγές αυτές έχουν μελετηθεί ωστόσο τα αποτελέσματα των μελετών δεν δίνουν σαφή εικόνα για την συχνότητα εκδήλωσης και την αιτιολογία των συμπτωμάτων αυτών.

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σε δείγμα παιδιών με αυτιστικές διαταραχές ηλικίας 4 έως 10 ετών, των οποίων η συμπεριφορά συγκρίθηκε με τις αντίστοιχες συμπεριφορές τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Τα παιδιά στις δυο ομάδες δεν διαφέρουν ως προς την μέση ηλικία, το βάρος και το ύψος γεγονός που επιτρέπει τις συγκρίσεις ανάμεσα στις δυο ομάδες καθώς τα παιδιά διαφοροποιούνται ως προς την εμφάνιση ή όχι των αυτιστικών διαταραχών και οι διαφορές που βρίσκουμε δεν μπορούν να αποδοθούν στα διαφορετικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά. Επιπλέον το ηλικιακό εύρος που επιλέχθηκε είναι σύμφωνο με τις περισσότερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί τόσο για τα γαστρεντερολογικά συμπτώματα και την εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με αυτισμό όσο και για τις διατροφικές τους διαταραχές. (Ibrahim, 2008, Sandler, 2010, Lukens, 2008, Lokner, 2008)

Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτής της μελέτης δεν παρατηρούνται διαφορές ανάμεσα στην διατροφική πρόσληψη των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Συγκεκριμένα, τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές φαίνεται ότι καταναλώνουν κατά μέσο όρο περισσότερες θερμίδες ($1735,27 \pm 346,2 \text{ kcal}$ vs $1676,85 \pm 333,4 \text{ kcal}$) και η διατροφή τους αποτελείται από μεγαλύτερο ποσοστό υδατανθράκων ($47,23 \pm 8,77\%$ vs $45,00 \pm 6,00$) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων ($5,12 \pm 1,08\%$ vs $4,70 \pm 1,10\%$), καθώς και μεγαλύτερη ποσότητα διαιτητικών ινών ($12,58 \pm 6,46\text{g}$ vs $10,82 \pm 4,52\text{g}$) και βιταμίνης C ($93,05 \pm 66,32 \text{ mg}$ vs $71,49 \pm 41,37$). Ενώ σε σχέση με τα υπόλοιπα θρεπτικά συστατικά, ποσοστό πρωτεϊνών, λιπαρών οξέων, μονοακόρεστων και κορεσμένων λιπαρών οξέων και το ασβέστιο, η διαιτητική τους πρόσληψη είναι μικρότερη σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Καμία ωστόσο από τις διαφορές αυτές δεν είναι στατιστικά σημαντική. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με ένα σύνολο ερευνών σύμφωνα με τις οποίες η διατροφική πρόσληψη παιδιών με αυτισμό δεν διαφοροποιείται από την αντίστοιχη πρόσληψη τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Συγκεκριμένα,

έρευνες των Herndon και των συνεργατών του το 2009 και του Lockner και των συνεργατών του το 2008, οι οποίοι χρησιμοποίησαν το ίδιο εργαλείο αξιολόγησης της διατροφικής πρόσληψης, δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική διαφορά στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών ανάμεσα στην ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές.

Τα ευρήματα αυτά ωστόσο δεν σχετίζονται με την πληθώρα των διατροφικών προβλημάτων που συχνά αναφέρουν οι γονείς παιδιών με αυτιστικές διαταραχές και τα οποία αναφέρονται από άλλους ερευνητές (Luiselli 1989, Munk, 1994, Schreck, 2006). Η αντίθεση αυτή, μπορεί να οφείλεται στο ότι οι γονείς των παιδιών με αυτισμό είναι ίσως πιο ευαισθητοποιημένοι για τα διατροφικά προβλήματα που ίσως εμφανίσουν τα παιδιά τους με αποτέλεσμα να ανιχνεύουν συχνότερα από τους γονείς με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά τέτοιες διαταραχές. Έτσι παρόλο που πολλά παιδιά μπορεί να θεωρείται από τους γονείς ότι εμφανίζουν μεγάλη άρνηση και επιλεκτικότητα στην πραγματικότητα η διατροφική τους πρόσληψη δεν διαφέρει από συνομήλικα παιδιά με τυπική ανάπτυξη (Carruth, 2004). Παράλληλα η ευαισθητοποίηση τους έχει ως αποτέλεσμα και την δημιουργία καλύτερων συνθηκών κατά τη διάρκεια των γευμάτων και την έντονη προσπάθεια των γονέων να καλύψουν τις διατροφικές ανάγκες των παιδιών με αποτέλεσμα αυτές τελικά να μην διαφοροποιούνται από τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. (Finney, 1986)

Παρατηρώντας τα δεδομένα για την διατροφική πρόσληψη τόσο των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές όσο και των τυπικά αναπτυσσόμενων παρατηρούμε ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη της ενέργειας καθώς και τον μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών είναι σύμφωνη με τις τιμές αναφοράς (DRI) για τα παιδιά ηλικίας 4 έως 10 ετών. Εξαίρεση αποτελούν το ποσοστό των λιπαρών οξέων της διατροφής τα οποία ξεπερνούν το 25-35% των συστάσεων για παιδιά και των κορεσμένων λιπαρών οξέων της διατροφής που ξεπερνούν την σύσταση για το 10% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης. Η διαφορά αυτή ωστόσο παρατηρείται και στις δυο ομάδες των παιδιών και όχι μόνο στα τυπικά αναπτυσσόμενα, γεγονός που υποδεικνύει ότι δεν σχετίζεται η νόσος με την αυξημένη πρόσληψη λιπαρών οξέων αλλά η διατροφή όλων των παιδιών. Παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με τα αυξημένα λιπαρά οξέα συνολικά και με τα αυξημένα κορεσμένα είναι η συχνή κατανάλωση από τα παιδιά έτοιμου φαγητού η οποία παρατηρήθηκε κατά την επεξεργασία των τριήμερων ημερολογίων καθώς και η κατανάλωση πλήρους γάλακτος

Ακόμα αναφορικά με τις διαιτητικές ίνες, οι συστάσεις αναφέρουν 25g για παιδιά ηλικίας 4 έως 8 ετών, ωστόσο τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές καταναλώνουν $12,58 \pm 6,46$ g

και τα τυπικά αναπτυσσόμενα $10,82 \pm 4,52g$. Και σε αυτή την περίπτωση η αιτιολογία της νόσου δεν σχετίζεται με την μειωμένη πρόσληψη διαιτητικών ινών καθώς αυτή παρατηρείται σε όλα τα παιδιά ανεξάρτητα από την ύπαρξη διαταραχών. Υπάρχουν όμως και άλλες μελέτες που έχουν παρατηρήσει μειωμένη πρόσληψη διαιτητικών ινών σε σχέση με τις συστάσεις σε παιδιά με αυτιστικές διαταραχές (Kranz, 2006). Για παράδειγμα στην μελέτη της Herndon και των συνεργατών της που μελέτησαν 46 παιδιά με αυτιστικές διαταραχές σε σχέση με 31 τυπικά αναπτυσσόμενα, βρέθηκε ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές κατανάλωναν $11,66 \pm 5,32g$ και τα τυπικά αναπτυσσόμενα $10,75 \pm 3,34g$, τιμές οι οποίες είναι παρόμοιες με τα αποτελέσματα και αυτής της μελέτης. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να αιτιολογηθεί στη μελέτη αυτή από το γεγονός ότι τόσο τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές όσο και τα τυπικά αναπτυσσόμενα κατανάλωναν λιγότερες από τις συνιστώμενες μερίδες φρούτων και λαχανικών. Ωστόσο στην δική μας μελέτη τέτοια δεδομένα δεν αναλύθηκαν, αλλά παρατηρώντας μόνο τα τριήμερα ημερολόγια μπορούμε να πούμε ότι πολύ λίγα παιδιά κατανάλωναν φρούτα και λαχανικά και αυτά σε μικρές ποσότητες.

Τέλος πολλές μελέτες αναφέρουν ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές δεν καλύπτουν της ανάγκες τους σε ασβέστιο (Briefel, 2004, Suitor, 2002), κάτι τέτοιο ωστόσο στη δική μας έρευνα όπως και σε άλλες δεν παρατηρείται (Herndon, 2009). Είναι πιθανό επομένως, όπως και στην παραπάνω έρευνα τα παιδιά να ακολουθούν τις συστάσεις για την κατανάλωση 2 με 4 μερίδες γαλακτοκομικών την ημέρα.

Αναφορικά με τους μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας δεν παρατηρούνται σημαντικές αλλαγές των μικροοργανισμών που μελετώνται ανάμεσα στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και αυτά με αυτιστικές διαταραχές. Αναλυτικά μπορούμε να διακρίνουμε μια τάση ($p=0,069$) των παιδιών με αυτισμό ($5,00 \pm 0,98 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / g \text{ κοπράνων}$) να έχουν μεγαλύτερο αριθμό λακτοβακίλλων σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα ($4,20 \pm 1,30 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / g \text{ κοπράνων}$). Για τα μπιφιδοβακτήρια τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές ($8,19 \pm 1,31 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / g \text{ κοπράνων}$) φάνηκε ότι έχουν κατά μέσο όρο λιγότερα μπιφιδοβακτήρια ανά γραμμάριο κοπράνων σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($8,51 \pm 0,72 \text{ Log}_{10}\text{CFU} / g \text{ κοπράνων}$) αλλά η διαφορά δεν είναι σημαντική ($p=0,434$). Ενώ ο μέσος όρος της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας είναι σχεδόν ίδιος και στις δυο ομάδες.

Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με έρευνα του Parracho και των συνεργατών του, που σύγκριναν την εντερική μικροχλωρίδα 11 παιδιών με αυτιστικές διαταραχές με 12 υγιή αδέρφια και 10 τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά από το γενικό πληθυσμό. Και σε αυτή την έρευνα που πραγματοποιήθηκε με μοριακές τεχνικές δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα

στις δυο ομάδες για τους Λακτοβακίλλους, τα Μπιφιδοβακτήρια και τα ολικά αναερόβια μεσόφιλα βακτήρια. Άλλες μελέτες ωστόσο, όπως του Finegold το 2010 αναφέρουν ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό μπιφιδοβακτηρίων σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα μπιφιδοβακτήρια είναι ευαίσθητα στα αντιβιοτικά και παράλληλα τα παιδιά με αυτισμό λόγω των συχνών λοιμώξεων που εμφανίζουν παίρνουν ως φαρμακευτική αγωγή συχνά αντιβιώσεις. Ακόμα παράγοντες που σχετίζονται με την διατροφή όπως η κατανάλωση διαιτητικών ινών μπορεί να επηρεάσει την αύξηση των μπιφιδοβακτηρίων και των λακτοβακίλλων. Ωστόσο στην μελέτη μας δεν παρατηρήθηκαν τέτοιες διαφορές ανάμεσα στα παιδιά με τυπική ανάπτυξη και στα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές γεγονός που ίσως δικαιολογεί ότι δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους πληθυσμούς των μπιφιδοβακτηρίων.

Ακόμα έρευνα του Adams και των συνεργατών του σε 58 παιδιά με αυτιστικές διαταραχές και 39 παιδιά με τυπική ανάπτυξη, έδειξε ότι τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα μπιφιδοβακτηρίων (-43%, $p=0,002$) και υψηλότερα επίπεδα λακτοβακίλλων (+100%, $p = 0,04$). Τα χαμηλά επίπεδα των μπιφιδοβακτηρίων στην ομάδα των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές δικαιολογούνται από τον ερευνητή από την εμφάνιση αυξημένης συχνότητας διαρροϊκών κενώσεων και προτείνει την κατανάλωση προβιοτικών σκευασμάτων, τα οποία θα βοηθήσουν στην αύξηση των μπιφιδοβακτηρίων. Τέλος η αυξημένη ποσότητα λακτοβακίλλων φαίνεται ότι οφείλεται στην αυξημένη κατανάλωση ψαριού από τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές της μελέτης. Για την παρούσα ωστόσο μελέτη τέτοια δεδομένα δεν μπορούν να επιβεβαιωθούν.

Ενδιαφέρον ακόμα παρουσιάζουν οι συσχετίσεις των μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας με τα θρεπτικά συστατικά που μελετήθηκαν στο σύνολο του δείγματος και στις επιμέρους ομάδες. Έτσι φαίνεται ότι όσο αυξάνονται τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα της διατροφής αυξάνεται ο αριθμός των Λακτοβακίλλων ανά γραμμάριο κοπράνων ($r = 0,426$, $p=0,021$). Έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε βρέφη στα οποία παράλληλα με το γάλα έδιναν; και ω-3 λιπαρά οξέα έδειξε ότι είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των Λακτοβακίλλων στην εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών αυτών. Επομένως, αύξηση της κατανάλωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, με αύξηση για παράδειγμα της κατανάλωσης ψαριού, δικαιολογεί την θετική συσχέτιση που παρατηρήθηκε για αύξηση του αριθμού των Λακτοβακίλλων. Ακόμα τάση θετικής συσχέτισης ανιχνεύθηκε και με τις διαιτητικές ίνες ($r = 0,335$, $p= 0,075$) οι οποίες είναι γνωστό ότι αποτελούν θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη ωφέλιμων βακτηρίων μέσω της παραγωγής λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και μείωσης του ενδοαυλιακού pH ([Damsgaard CT](#), 2007). Σύμφωνα με τα παραπάνω θα περιμέναμε να εμφανίζεται ισχυρή συσχέτιση των

λακτοβακίλλων με τις διαιτητικές ίνες, ωστόσο η μειωμένη πρόσληψη σε σχέση με τις συστάσεις που αναφέρθηκαν προηγουμένως και ο συνολικά μικρός αριθμός του δείγματος μπορεί να σχετίζονται με την εμφάνιση ελαφριάς θετικής τάσης και όχι συσχέτισης.

Παρατηρείται τάση συσχέτισης των μπιφιδοβακτηρίων με το ασβέστιο ($r = 0,320$, $p = 0,091$) και τάση συσχέτισης της ολικής αναερόβιας μεσόφιλης μικροχλωρίδας με τις διαιτητικές ίνες ($r = - 0,327$, $p = 0,078$) και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ($r = 0,334$, $p = 0,071$). Αναφορικά με τα μπιφιδοβακτήρια, η συγκέντρωση τους ανά γραμμάριο κοπράνων αυξάνεται όσο αυξάνεται και η πρόσληψη ασβεστίου. Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί αφενός από την ικανότητα του ασβεστίου να δεσμεύει κυτταροτοξικές ουσίες, όπως τα χολικά οξέα, συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη της ενδογενούς μικροχλωρίδας, τμήμα της οποίας αποτελούν μπιφιδοβακτήρια. Επιπλέον, φάνηκε ότι η συνολική αναερόβια μεσόφιλη μικροχλωρίδα μειώνεται όσο αυξάνεται η πρόσληψη διαιτητικών ινών από την διατροφή. Αυτό το εύρημα δείχνει να έρχεται σε αντίθεση με τη θετική συσχέτιση που ανιχνεύθηκε ανάμεσα στους Λακτοβακίλλους και τις διαιτητικές ίνες καθώς αυτοί αποτελούν τμήμα της αναερόβιας μικροχλωρίδας και θα περιμέναμε αφού αυξάνονται αυτοί να αυξάνεται και το σύνολο των αναερόβιων βακτηρίων. Ωστόσο, είναι γνωστό και επιβεβαιώθηκε από πρόσφατες έρευνες σε ποντίκια, ότι οι διάφορες διαιτητικές ίνες επιδρούν διαφορετικά στην εντερική μικροχλωρίδα και μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη αλλά και να την αναστείλουν. Για παράδειγμα δίαιτα που περιείχε ως διαιτητικές ίνες την πηκτίνη συνέβαλε στη μείωση του γένους *Bacteroides* της εντερικής μικροχλωρίδας των ποντικών. ([Licht TR](#), 2010)

Οι συσχετίσεις που προαναφέρθηκαν και οι οποίες μελετήθηκαν στο συνολικό δείγμα διερευνήθηκαν και σε κάθε ομάδα παιδιών ξεχωριστά προκειμένου να γίνει κατανοητό αν η νόσος του αυτισμού επιδρά στην εκδήλωση αυτών των συσχετίσεων. Στις επιμέρους ομάδες ωστόσο των παιδιών με αυτισμό και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών δεν παρατηρήθηκε τάση αύξησης ή μείωσης των λακτοβακίλλων και των μπιφιδοβακτηρίων από τους παράγοντες διατροφής που είχαν εμφανίσει συσχέτιση στο σύνολο του δείγματος. Αυτό το εύρημα μπορεί να σημαίνει ότι οι συσχετίσεις αυτές εμφανίζονται όταν το δείγμα μεγαλώνει σε αριθμό και δεν σχετίζονται με την φυσιολογία και τα συμπτώματα των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού.

Αντίθετα για την ολική αναερόβια μεσόφιλη μικροχλωρίδα φάνηκε ότι μειώνεται όταν αυξάνεται η διαιτητική πρόσληψη διαιτητικών ινών μόνο στα παιδιά της ομάδας του αυτισμού και όχι στα τυπικά αναπτυσσόμενα. Η παρουσία της διαταραχής στην προκειμένη περίπτωση είναι δυνατό να επηρεάζει την επίδραση των διαιτητικών ινών στην ανάπτυξη της εντερικής

μικροχλωρίδας αλλά και η διατροφή των παιδιών με αυτιστικές διαταραχές η οποία ίσως να διαφοροποιείται. Ακόμα όπως είδαμε παραπάνω τα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές καταναλώνουν, όχι σημαντικά υψηλότερη ποσότητα διαιτητικών ινών με αποτέλεσμα ίσως μόνο σε αυτά τα παιδιά να εκδηλώνεται η συσχέτιση.

Τέλος η αύξηση της κατανάλωσης των κορεσμένων λιπαρών οξέων σχετίζεται με την αύξηση των ολικών αναερόβιων μεσόφιλων βακτηρίων μόνο στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και όχι στα παιδιά με αυτιστικές διαταραχές. Η συσχέτιση αυτή που εκδηλώθηκε και σαν τάση στον γενικό πληθυσμό δεν σχετίζεται επομένως με τις διαταραχές του αυτισμού. Η αύξηση αυτή μπορεί να ερμηνευθεί με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για την επίδραση Δυτικού τύπου διαίτας στην διατροφή, η οποία περιέχει αυξημένα ποσοστά και κορεσμένων λιπαρών οξέων, και η οποία δείχνει να σχετίζεται θετικά με την ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας.

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της μελέτης

Από τα βασικά πλεονεκτήματα της μελέτης είναι ότι δεν έχουν πραγματοποιηθεί ανάλογες μελέτες σε ελληνικό πληθυσμό που να εξετάζουν τις διαφορές στις διατροφικές συνήθειες και την εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με αυτιστικές διαταραχές σε σχέση με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και παράλληλα να συσχετίζει τους δυο αυτούς παράγοντες μεταξύ τους. Η μελέτη επομένως δίνει τη δυνατότητα αναγνώρισης βασικών διαφορών και συσχετίσεων οι οποίες μπορούν να μελετηθούν περεταίρω. Ένα ακόμα πλεονέκτημα της μελέτης είναι ότι αποτελείται από ένα σχετικά ομοιογενές δείγμα παιδιών και στις δυο ομάδες παρατήρησης το οποίο επιτρέπει την σύγκριση μεταξύ των δυο ομάδων. Επίσης πλεονέκτημα της μελέτης αποτελεί η επιλογή του τριήμερου ημερολογίου καταγραφής ως εργαλείο αξιολόγησης της διαιτητικής πρόσληψης, καθώς είναι το πλέον αξιόπιστο εργαλείο για την αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης χωρίς να απαιτεί ικανότητες μνήμης. Τέλος στα θετικά της μελέτης είναι και το γεγονός ότι τα περισσότερα ευρήματα επιβεβαιώνονται και από άλλες παρόμοιες μελέτες.

Στα μειονεκτήματα της μελέτης το βασικότερο είναι η αναδρομική φύση της η οποία δεν μπορεί να μας εξασφαλίσει την ύπαρξη αιτιολογικής σχέσης μεταξύ των παραγόντων που μελετώνται. Η αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος στηρίζεται στην μελέτη άλλων προοπτικών μελετών που επιβεβαιώνουν ή απορρίπτουν τις αιτιολογικές σχέσεις που ανιχνεύτηκαν. Ένα άλλο αρνητικό της μελέτης είναι ο μικρός αριθμός του δείγματος που συλλέχθηκε τόσο στην ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων όσο και στα παιδιά με αυτιστικές

διαταραχές. Ακόμα, παρόλο που το ημερολόγιο καταγραφής αποτελεί καλό εργαλείο διατροφικής αξιολόγησης στην μελέτη μας η συμπλήρωση του πραγματοποιείται από τους γονείς οι οποίοι μπορεί αν μην ξέρουν πάντα τι έφαγε το παιδί τους σε χώρους εκτός σπιτιού όπως το σχολείο.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή αποτελεί μια πηγή πληροφοριών για δυο παράγοντες που φαίνεται από τη βιβλιογραφία ότι σχετίζονται άμεσα με τις αυτιστικές διαταραχές, την διατροφή και την εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα αποτελούσε η μελλοντική διεξαγωγή μιας προοπτικής μελέτης προκειμένου να επιβεβαιωθούν και να ανιχνευτούν νέες συσχετίσεις σε ένα μεγαλύτερο δείγμα παιδιών. Καθώς και η συσχέτιση της νόσου και της διατροφής με συγκεκριμένα είδη μικροοργανισμών, όπως τα διάφορα είδη του γένους των κλωστριδίων που έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό σε παγκόσμιες μελέτες.

8.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Adams J.B., Johansen L.J, Powell1 L.D., Quig D, Rubin R.A. (2011): «Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism comparisons to typical children and correlation with autism severity», BMC Gastroenterology 2011, 11:22.

Ahearn, W. H., Castine, T., Nault, K., & Green, G. (2001): «An assessment of food acceptance in children with autism or pervasive developmental disorder-not otherwise specified», Journal of Autism & Developmental Disorders, 31(5), 505–511.

Arunachalam K.D., (1999): « Role of Bifidobacteria in nutrition, medicine and technology», Nutr. Res 19:1559-1597.

Bandini LG, Anderson ES , Curtin C, Cermak S, Evans EW, Scampini R, Maslin M, Must A (2010): « Food Selectivity in Children with Autism Spectrum Disorders and Developing Children» , J Pediatr 2010;157:259-64.

Bengmark S.(1998): «Ecological control of the gastrointestinal tract: the role of probiotic flora», Gut 1998; 42: 2–7.

Bodfish JW.(2004): «Treating the core features of autism: are we there yet» Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2004;10:318–26.

Bondy A, Tincani M, Frost L.(2007): «Multiply controlled verbal operants: an analysis and extension to the picture exchange communication system», Behavior Analyst. 2004;27:247–61.

Borriello SP.(1986): «Microbial flora of the gastrointestinal tract», In: Hill MJ ed. Microbial metabolism in the digestive tract. Boca Raton: CRC Press, 1986: 2–16.

Bolte ER. (1998): «Autism and Clostridium tetani», Med. Hypothesis, 1998; 51:133-44.

Bromley RL, Mawer G, Clayton-Smith J, Baker GA (2008): «Autism spectrum disorders following in utero exposure to antiepileptic drugs», Neurology. 2008;71:1923–4.

Brugha TS, McManus S, Bankart J, Scott F, Purdon S, Smith J, Bebbington P, Jenkins R, Meltzer H. (2011): «Epidemiology of autism spectrum disorders in adults in the community in England», Arch Gen Psychiatry. 2011 May;68(5):459-65.

Carruth BR, Ziegler PJ, Gordon A, Barr SI., (2004): « Prevalence of picky eaters among infants and toddlers and their caregivers decisions about offering a new food», J Am. Diet Assoc.2004;102:S57-S64 .

Chess S, Fernandez P, Korn S. (1978): «Behavioral consequences of congenital rubella», J Pediatr 93(4):699–703.

Connors SL, Crowell DE, Eberhart CG, Copeland J, Newschaffer CJ, Spence SJ, Zimmerman AW(2005): «beta2-adrenergic receptor activation and genetic polymorphisms in autism: data from dizygotic twins», J Child Neurol. 2005;20:876–84.

Cornish E, (1998) : «A balanced approach towards healthy eating in autism», Journal of Human Nutrition and Dietetics (1998), 11, 501–509.

Damsgaard CT, Lauritzen L, Kjaer TM, Holm PM, Fruekilde MB, Michaelsen KF, Frøkiaer H. (2007): «Fish oil supplementation modulates immune function in healthy infants», J Nutr. 2007 Apr;137(4):1031-6.

DeStefano F, Thompson WW. (2004): «MMR vaccine and autism: an update of the scientific evidence», Expert Rev Vaccines. 2004;3:19–22.

Deykin EY, MacMahon B. (1979): «Viral exposure and autism», Am J Epidemiol 109(6):628–638.

Dumont-Mathieu T, Fein D (2005): «Screening for autism in young children: The Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT) and other measures», Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2005;11(3):253-62.

Erickson C., Stigler A, Corkins M, Posey D, Fitzgerald F., McDougle F. (2006): «Gastrointestinal Factors in Autistic Disorder: A Critical Review», Journal of Autism and Developmental Disorders, Vol. 35, No. 6, December 2005 (_ 2005) DOI 10.1007/s10803-005-0019-4

Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JL (1998): «Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology», *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 1157–70.

Felis G.E., Dellaglio F.(2005): « Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria», *Curr. Issues Intestinal Microbiol.* 8: 44–61.

Ferreri SJ, Tamm L, Wier KG.(2006): « Using food aversion to decrease severe pica by a child with autism», *Behav Modif.* 2006 Jul;30(4):456-71.

Field, D., Garland, M., & Williams, K. (2003): «Correlates of specific childhood feeding problems», *Journal of Paediatric Child Health* 39, 299–304.

Finegold S.M., Molitoris D, Song T et al(2002): «Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism», *Clin Infect Dis*, 2002; 35(Suppl.1): S6–S16.

Finegold S.M.(2008): «Therapy and epidemiology of autism-clostridial spores as key elements», *Med Hypothesis*, 2008; 70: 508–11.

Finegold S.M. (2011): «State of the art; microbiology in health and disease. Intestinal bacterial flora in autism», 1075-9964, 2011 Published by Elsevi.2011.03.007.

Finney JW. (1986): «Preventing common feeding problems in infants and young children», *Pediatr Clin North Am.* 1986;33:775-788.

Folstein SE, Rutter ML. (1988): «Autism: familial aggregation and genetic implications», *J Autism Dev Disord* 18(1):3–30.

Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P.(1999): «Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery», *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28: 19–25.

Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al(2000): «Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods», *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61–67.

Harris SW, Hessler D, Goodlin-Jones B, Ferranti J, Bacalman S, Barbato I, Tassone F, Hagerman PJ, Herman H, Hagerman RJ(2008): «Autism profiles of males with fragile X syndrome», *Am J Ment Retard*. 2008;113:427–38.

Hentges DJ.(1993): «The anaerobic microflora of the human body», *Clin Infect Dis* 1993; 16: S175–80.

Herndon AC, DiGuseppi C, Johnson SL, Leiferman J, Reynolds A. (2009): «Does nutritional intake differ between children with autism spectrum disorders and children with typical development?», *J Autism Dev Disord*. 2009 Feb;39(2):212-22. Epub 2008 Jul 4.

Hertz-Picciotto I, Delwiche L (2009): « The rise in autism and the role of age at diagnosis»,*Epidemiology*. 2009 Jan;20(1):84-90.

Horvath K., Papadimitriou JC, Rabsztyn A. (1999): « Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder», *J.Pediatrics* 1999;135:559-563.

Horvath, K., Perman, J. A. (2002): «Autistic disorder and gastrointestinal disease», *Current Opinion in Pediatrics*, 14, 583-587.

Ibrahim H.M, Voigt R.G., Katusic S.K., Weaver A.L., Barbaresi W.J (2009): «Incidence of Gastrointestinal Symptoms in Children With Autism: A Population-Based Study», *Pediatrics* 2009;124:680-686.

John N. Constantino, MD, Yi Zhang, MS, Thomas Frazier, PhD, Anna M. Abbacchi, MS,(2010) : «Sibling recurrence and the genetic epidemiology of autism», *Am J Psychiatry*. 2010 November; 167(11): 1349–1356. doi:10.1176/appi.ajp.2010.09101470.

Jorde LB, Mason-Brothers A, Waldmann R, Ritvo ER, Freeman BJ, Pingree C, et al. (1990): «The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: genealogical analysis of familial aggregation», *Am J Med Genet* 36(1):85–88.

Judith H Miles, MD, PhDRebecca B McCathren, PhDJanine Stichter, PhDMarwan Shinawi, MD, (2006): «Autism Spectrum Disorders», Initial Posting: August 27, 2003; Last Update: April 13, 2010.

Kleessen B., Eugenia Bezirtzoglou, Jaana MaËttoÈ (2000) : « Culture-Based Knowledge on Biodiversity, Development and Stability of Human Gastrointestinal Microflora», *Microbial Ecology in Health and Disease* 2000; Suppl 2: 53–63.

Kleinman JM, Robins DL, Ventola PE, Pandey J, Boorstein HC, Esser EL, Wilson LB, Rosenthal MA, Sutera S, Verbalis AD, Barton M, Hodgson S, Green J, Dumont-Mathieu T, Volkmar F, Chawarska K, Klin A, Fein D, (2008) : «The modified checklist for autism in toddlers: a follow-up study investigating the early detection of autism spectrum disorders», *J Autism Dev Disord.* 2008 May;38(5):827-39.

Knoester M, Helmerhorst FM, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S (2007): «Matched follow-up study of 5 8-year-old ICSI singletons: child behaviour, parenting stress and child (health-related) quality of life» *Hum Reprod.* 2007;22:3098–107.

Kranz S, Smiciklas-Wright H, Francis L.A (2006): « Diet quality, added sugar, and dietary fiber intakes in American preschoolers», *Pediatric Dentistry*, 28,164-171.

Lampi KM, Sourander A, Gissler M, Niemelä S, Rehnström K, Pulkkinen E, Peltonen L, Von Wendt L(2010) : «Brief report: validity of Finnish registry-based diagnoses of autism with the ADI-R», *Acta Paediatr.* 2010 Sep;99(9):1425-8. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.01835.x.

Levy SE, Souders MC., Ittenbach Rf, Giarelli E, Mulberg AE, Pinto – Martn JA., (2007): « Relationship of dietary intake og gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders», *Biol Psychiatry.* 2007 Feb 15;61(4):492-7.

Licht TR, Hansen M, Bergström A, Poulsen M, Krath BN, Markowski J, Dragsted LO, Wilcks A. (2010): «Effects of apples and specific apple components on the cecal environment of conventional rats: role of apple pectin», *BMC Microbiol.* 2010 Jan 20;10:13.

Lockner WD, Crowe TK, Skipper JB, (2008) : « Dietary Intake and Parents' Perception of Mealtime Behaviors in Preschool-Age Children with Autism Spectrum Disorder and in Typically Developing Children», *J Am Diet Assoc.* 2008;108:1360-1363.

Long SS, Swenson RM.(1977): «Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants», *J Pediatr* 1977; 91: 298–301.

Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, Pickles A, Rutter M,(2000): «The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism»,J Autism Dev Disord. 2000 Jun;30(3):205-23.

Lord C, Shulman C, DiLavore P. (2004): «Regression and word loss in autistic spectrum disorders», J Child Psychol Psychiatry. 2004 Jul;45(5):936-55.

Luiselli, J. K. (1989): «Behavioral assessment and treatment of pediatric feeding disorders in developmental disabilities», In: M. Hersen, R. M. Eisler & P. M. Miller (Eds.), Progress in behavior modification (Vol. 24, pp. 91–131). Newbury Park, CA: Sage Publications.

Lukens CT., Linscheid RT. (2008) : «Development and Validation of an Inventory to Assess Mealtime Behavior Problems in Children with Autism», J Autism Dev Disord (2008) 38:342–352

Markowitz PI. (1983): «Autism in a child with congenital cytomegalovirus infection», J Autism Dev Disord 13(3):249–253.

McDougle CJ, Scahill L, Aman MG, McCracken JT, Tierney E, Davies M, Arnold LE, Posey DJ, Martin A, Ghuman JK, Shah B, Chuang SZ, Swiezy NB, Gonzalez NM, Hollway J, Koenig K, McGough JJ, Ritz L, Vitiello B.(2005): «Risperidone for the core symptom domains of autism: results from the study by the autism network of the research units on pediatric psychopharmacology», Am J Psychiatry. 2005;162:1142–8.

Munk, D. D., & Repp, A. C. (1994): «Behavioral assessment of feeding problems of individuals with severe disabilities», Journal of Applied Behavior Analysis, 27(2), 241–250.

Lynne V. McFarland, (2000) : «Normal flora: diversity and functions», Taylor & Francis 2000. ISSN 0891-060X.

Melmed R, Dchneider Ck, Fabew RA. (2000): «Metabolic markers and gastrointestinal symptoms in children with autism and relates disorders», J.Pediatr, Gastroenterol Nutr. 2000; 31(suppl 2):A116.

Mercadante MT, Van der Gaag RJ, Schwartzman JS,(2006): «Non-autistic pervasive developmental disorders: Rett syndrome, disintegrative disorder and pervasive developmental disorder not otherwise specified», Rev Bras Psiquiatr. 2006 May;28 Suppl 1:S12-20. Epub 2006 Jun 12.

Mesibov G, Howley M.(2003): «Accessing the Curriculum for Pupils with Autistic Spectrum Disorders», London: David Fulton Publishers; 2003.

Moore WE, Moore LH.(1995): «Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer», Appl Environ Microbiol 1995; 61: 3202–07.

Papanikolaou K, Paliokosta E, Houliaras G, Vgenopoulou S, Giouroukou E, Pehlivanidis A, Tomaras V, Tsiantis I(2009) : «Using the Autism Diagnostic Interview-Revised and the Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic for the diagnosis of autism spectrum disorders in a Greek sample with a wide range of intellectual abilities», J Autism Dev Disord. 2009 Mar;39(3):414-20. Epub 2008 Aug 28.

Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL (2005): «Differences between gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children», J Med Microbiol, 2005; 54: 987–91.

Parris M. Kidd (2002) : «Autism, An Extreme Challenge to Integrative Medicine. Part 1: The Knowledge Base» Alternative Medicine Review , Volume 7, Number 4.

Percy AK. , (2011): «Rett syndrome: exploring the autism link», Arch Neurol. 2011 Aug;68(8):985-9.

Piven J, Palmer P. (1999): «Psychiatric disorder and the broad autism phenotype: evidence from a family study of multiple incidence autism families», Am J Psychiatry 156(4):557–563.

Provost B, Crowe KT., Osbourn PL, McClain C., Skipper JB, (2010) : «Mealtime Behaviors of Preschool Children: Comparison of Children with Autism Spectrum Disorder and Children with Typical Development», Physical & Occupational Therapy in Pediatrics, Vol. 30(3), 2010

Raiten, D., & Massaro, T. (1986): «Perspectives on the nutritional ecology of autistic children», *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 16(2), 133-143.

Ritvo ER, Jorde LB, Mason-Brothers A, Freeman BJ, Pingree C, Jones MB, et al. (1989): «The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: recurrence risk estimates and genetic counseling», *Am J Psychiatry* 146(8):1032–1036.

Ritvo ER, Mason-Brothers A, Freeman BJ, Pingree C, Jenson WR, McMahon WM, et al. (1990): «The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: the etiologic role of rare diseases», *Am J Psychiatry* 147(12):1614–1621.

Rodier P, Hyman S. (1998): «Early environmental factors in autism», *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 4(2):121–128.

Rosenberg RE, Law JK, Yenokyan G, McGready J, Kaufmann WE, Law PA, (2009): «Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs», *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009 Oct; 163(10):907-14.

Rutter M, Bartak L. (1971): «Causes of infantile autism: some considerations from recent research», *J Autism Child Schizophr* 1(1):20–32.

Schechter R, Grether JK. (2008): «Continuing increases in autism reported to California's developmental services system: mercury in retrograde», *Arch Gen Psychiatry.* 2008; 65:19–24.

Schreck KA, Williams K (2006): «Food preferences and factors influencing food selectivity for children with autism spectrum disorders», *Research in Developmental Disabilities* 27 (2006) 353–363.

Schreck KA, Williams K, Smith FA (2004): «A Comparison of Eating Behaviors between Children with and without Autism», *Journal of Autism and Developmental Disorders*, Vol. 34, No. 4, August 2004.

Sharma S, Woolfson LM, Hunter SC, (2011) : «Confusion and inconsistency in diagnosis of Asperger syndrome: a review of studies from 1981 to 2010», *Autism*. 2011 Aug 2.

Shearer TR., Larson K, Neuschwander J, Gedney B. (1982) : « Minerals in the hair and nutrient intake of autistic children», *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 12,25-34.

Siavoshian S, Segain JP, Kornprobst M, et al. (2000): «Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/ differentiation of human intestinal epithelial cells: induction of cyclin D3 and p21 expression», *Gut* 2000; 46: 507–14.

Silvester KR, Englyst HN, Cummings JH. (1995): «Ileal recovery of starch from whole diets containing resistant starch measured in vitro and fermentation of ileal effluent», *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 403–11.

Simon GL, Gorbach SL. (1984): «Intestinal flora in health and disease», *Gastroenterology* 1984; 86: 174–93.

Simpson R, de Boer-Ott S, Griewold D, Myles B, Byrd S, Ganz J, Cook K, Otten K, Ben-Arieh J, Kline S, Adams L.(2005): «Autism Spectrum Disorders: Interventions and Treatments for Children and Youth», Thousand Oaks, CA: Corwin Press; 2005.

Smalley SL, Asarnow RF, Spence MA. (1988): «Autism and genetics. A decade of research», *Arch Gen Psychiatry* 45(10):953–961.

Stefanatos GA(2008): «Regression in autistic spectrum disorders», *Neuropsychol Rev*. 2008 Dec;18(4):305-19. Epub 2008 Oct 28.

Song Y, Liu C, Finegold SM(2004): «Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children», *Appl Environ Microbiol*, 2004; 7: 6459–65.

Stiles E.M, Holzapfel W.H. (1997) : «Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy», *International Journal of Food Microbiology* 36 (1997) 1~ 29.

Sydney M. Finegold(2007): «Therapy and epidemiology of autism—clostridial spores as key elements», *Medical Hypotheses* (2008) 70, 508–511.

Taylor B.(2006): «Vaccines and the changing epidemiology of autism», Child Care Health Dev. 2006;32:511–9.

Teal MB, Wiebe MJ (1986): «A validity analysis of selected instruments used to assess autism», J Autism Dev Disord. 1986 Dec;16(4):485-94.

Valicenti- McDermott M, McVicar K, Rapin I, Wershil BK, Cohen H, Shinnar S. (2006): «Frequency of gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders and association with family history of autoimmune disease», J. Dev. Behav Pediatr. 2006;27(2 suppl):S128-S136.

Volkmar F, Chawarska K, Klin A. (2005): «Autism in infancy and early childhood», Annu Rev Psychol. 2005;56:315-36.

Wakefield AJ.(1999): «MMR vaccination and autism», Lancet. 1999;354:949–50.

Wakefield, A. J. (2002): «The gut-brain axis in childhood developmental disorders. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 34, S14-S17.

Weidle B, Gåsnes T, Skjetne GK, Høyland AL. (2011): «Asperger syndrome in a Norwegian county 2005-08», Tidsskr Nor Laegeforen.2011 Mar 18;131(6):573-6.

Whitely, P., Rodgers, J., & Shattock, P. (2000): «Commentary: Feeding patterns in autism», Autism, 4(2), 207–211.

Williams, P. G., Dalrymple, N., & Neal, J. (2000): «Eating habits of children with autism», Pediatric Nursing, 26(3), 259–264.

Wing L. (1988): «The continuum of autistic characteristics. In DIAGNOSIS AND ASSESSMENT IN AUTISM», E. Schopler & G.B. Mesibov (eds), Plenum Press, New York, pp. 91-110.

Wing L, Potter D(2002) : «The epidemiology of autistic spectrum disorders: is the prevalence rising?», Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2002;8(3):151-61.

Yoshioka H, Iseki K, Fujita K.(1983): «Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants», Pediatrics 1983; 72: 317–2

Zimmer M. , Hart L, Manning-Courtney P., Murray D, Bing N., Summer S, (2011): « Food Variety as a Predictor of Nutritional Status Among Children with Autism», J. Autism Dev .Disord DOI 10.1007/s10803-011-1268-z.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker (2003) « Brock Βιολογία των Μικροοργανισμών», Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο 2007. Επιστημονική επιμέλεια Τάσος Οικονόμου.