

**«Μελέτη των διατροφικών συμπεριφορών παιδιών με
αυτισμό και διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων με την
εντερική μικροχλωρίδα»**



Κοϊνάκη Στέλλα

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα
Εφαρμοσμένης Διαιτολογίας
(Κλινική Διαιτολογία)

Τριμελής επιτροπή:
Γιαννακούλια Μ. (επιβλέπουσα)
Κυριακού Μ.
Παπανικολάου Κ.

-Σεπτέμβριος 2011-

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1. Διαταραχές Φάσματος Αυτισμού.....	9
1.1.1. Ορισμός και διάγνωση	10
1.1.2. Επιδημιολογικά δεδομένα	12
1.1.3. Αιτιολογία και παράγοντες κινδύνου	15
• Γενετικοί παράγοντες	15
• Προγεννητικοί και περιγεννητικοί παράγοντες	16
• Παράγοντες κινδύνου μετά τη γέννηση	17
1.2. Διατροφική Συμπεριφορά Παιδιών που Βρίσκονται	19
στο Φάσμα του Αυτισμού	19
1.2.1. Διατροφική συμπεριφορά ή διατροφικά προβλήματα;	20
1.2.2. Διατροφικά Προβλήματα σε παιδιά με ASD	22
1.2.3. Διατροφική Συμπεριφορά παιδιών ASD.....	26
• Τόπος/ παράλληλες δραστηριότητες/ κοινωνική συναναστροφή/ ανησυχία	26
• Είδη γευμάτων.....	28
1.2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τα διατροφικά προβλήματα ή/ και τη διατροφική	32
συμπεριφορά παιδιών με ASD	32
1.3 Εντερική Μικροχλωρίδα Παιδιών με Διαταραχές	38
του Φάσματος του Αυτισμού	38
1.3.1. Η ανθρώπινη εντερική μικροχλωρίδα	39
• Γενικές πληροφορίες	39
• Παράγοντες ικανοί να επηρεάσουν την εντερική μικροχλωρίδα	42
• Γενικές πληροφορίες για τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν	45
1.3.2. Η εντερική μικροχλωρίδα στα παιδιά με ASD	49
2. ΣΚΟΠΟΣ	53
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	54
3.1. Πληθυσμός Δείγματος.....	55
3.2 Σύντομη Περιγραφή Ερευνητικού Πρωτοκόλλου	56
3.3. Συλλογή Δεδομένων.....	57

3.3.1. Αξιολόγηση βαρύτητας της νόσου:.....	57
3.3.2. Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών:	57
3.3.3. Συλλογή και επεξεργασία διατροφικών δεδομένων:	57
• Τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής.....	57
• Συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων (ΣΚΓ)	58
• Διατροφική συμπεριφορά.....	58
3.3.4. Μικροβιολογική επεξεργασία δείγματος κοπράνων	60
• Προετοιμασία θρεπτικών υλικών:.....	60
• Συλλογή και μεταφορά δείγματος.....	62
• Ταυτόχρονη προετοιμασία των θρεπτικών υλικών.....	62
• Μικροβιολογική επεξεργασία δείγματος	63
• Επώαση τρυβλίων	63
• Καταμέτρηση αποικιών και προσδιορισμός μικροβιακού πληθυσμού.....	64
3.4. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.....	65
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	66
4.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά	67
4.2. Σύγκριση τεσσάρων υποομάδων.....	68
4.3. Σύγκριση Τυπικά Αναπτυσσόμενων παιδιών και παιδιών με ASD.....	71
4.4. Σύγκριση Κλασσική Μορφής Αυτισμού με Υπόλοιπες Διαταραχές ASD	74
4.5. Σύγκριση μεταξύ αδελφών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων	77
4.6. Μοντέλο Λογαριθμικής Παλινδρόμησης.....	80
4.7. Συσχετίσεις με εντερική μικροχλωρίδα	81
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	84
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	97
7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	105
7.1. Συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής	106
7.2. Τροποποιημένο 3ήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων.....	108

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD), ανήκουν στην κατηγορία των νευροαναπτυξιακών διαταραχών και ο επιπολασμός αυτών φαίνεται να αυξάνεται τα τελευταία χρόνια. Βασικά χαρακτηριστικά της συμπτωματολογίας τους είναι οι διαταραχές στη λεκτική και την επικοινωνιακή ικανότητα καθώς και οι στερεοτυπικές και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές. Τα χαρακτηριστικά αυτά ενδέχεται να εμπλέκονται και στη διατροφική συμπεριφορά, ενώ από ορισμένους ερευνητές έχει δοθεί βάρος και στα χαρακτηριστικά της εντερικής μικροχλωρίδας των παιδιών αυτών. Και στις δύο περιπτώσεις ερευνητικής δραστηριότητας τα δεδομένα είναι περιορισμένα.

Σκοπός: Κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της διατροφικής συμπεριφοράς παιδιών με ASD και η σύγκριση αυτών με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά της ίδιας ηλικιακής ομάδας. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν αφορούν στον τόπο, στις παράλληλες δραστηριότητες, στην κοινωνική συναναστροφή και στην ανησυχία των παιδιών κατά τη διάρκεια των γευμάτων τους, καθώς και στους τύπους των γευμάτων. Έπειτα, διερευνήθηκαν οι πιθανές συσχετίσεις με ορισμένους μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας.

Μεθοδολογία: Η συλλογή των διατροφικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω ειδικά τροποποιημένου τριήμερου ημερολογίου καταγραφής τροφίμων που συμπληρώθηκε από το γονέα, ενώ η εντερική μικροχλωρίδα με τη χρήση της καλλιεργητικής μεθόδου στην κατάλληλη κάθε φορά αραίωση δείγματος κοπράνων. Για όλα τα παραπάνω έλαβε χώρα περαιτέρω διερεύνηση για τη συνεισφορά των ενδοοικογενειακών παραγόντων και τη βαρύτητα της συμπτωματολογίας.

Αποτελέσματα: Από τη σύγκριση των επιμέρους παραμέτρων της διατροφικής συμπεριφοράς μεταξύ παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων, βρέθηκε ότι τα πρώτα καταναλώνουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό των γευμάτων μόνα τους και καθιστά αλλά ανήσυχα, και μικρότερο ποσοστό με κάποιο μέλος της οικογένειας. Ειδικότερα, από την εφαρμογή της λογαριθμικής παλινδρόμησης, βρέθηκε ότι τα παιδιά με ASD είναι 12,9% και 43,5% πιο πιθανό να καταναλώνουν κάποιο γεύμα μόνα τους και να είναι καθιστά και ανήσυχα κατά τη διάρκεια του γεύματος, αντίστοιχα. Αναφορικά με την εντερική μικροχλωρίδα, παρατηρήθηκαν τάση για υψηλότερα επίπεδα λακτοβακίλλων ($p=0,069$) στα παιδιά με ASD, όπου το αυξημένο αυτό επίπεδο βρέθηκε να οφείλεται στα παιδιά με την

κλασσική μορφή αυτισμού. Τέλος, από τη διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων των διατροφικών συμπεριφορών με την εντερική μικροχλωρίδα, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων που τα παιδιά αυτά κατανάλωσαν καθιστά και ανήσυχα με τα επίπεδα της *C. albicans* , ενώ για τα παιδιά με ASD βρέθηκε αρνητική συσχέτιση της συμπεριφοράς αυτής με τα επίπεδα των μπιφιδοβακτηρίων.

Συμπεράσματα: Συνοψίζοντας, η διατροφική συμπεριφορά των παιδιών με ASD, βρέθηκε να διαφέρει από αυτή των τυπικά αναπτυσσόμενων, ενώ οι διαφορές αυτές συσχετίζονται με την εντερική μικροχλωρίδα. Επιπλέον ερευνητική δραστηριότητα απαιτείται πριν τη διεξαγωγή συμπερασμάτων, προκειμένου να αποσαφηνιστεί η αιτιολογική σχέση των δεδομένων αυτών.

ABSTRACT

Introduction: Autism Spectrum Disorders (ASD) are neurodevelopmental disorders and their prevalence has increased in the last three decades. Children with ASD are characterized by failure to use language for communication, abnormal development of social reciprocity and desire for sameness, as seen in their repetitive rituals or by the intense of their limited interests. This triad of symptoms may also be reflected in their eating behavior. Recently, a new research area has emerged in relation to the gut microflora of children with ASD and its potential contribution to disease development and/ or symptoms. Studies investigating associations between eating behaviour and gut microflora parameters in children with ASD, are limited.

Aim: To study eating behavior aspects in children with ASD, compared with neurotypically developing children, and to explore potential associations with gut microflora. Specifically, the place, presence of others, activities that took place at the same time, the calmness of the children and the type of meals were assessed, as well as the correlation of these parameters.

Methodology: Thirty-eight children aged 3-10y, participated in this study, 18 diagnosed with ASD and 20 healthy controls. Information of eating behaviour was collected from all participants through a 3-day food record. Apart from the food/ meal intake, the conditions of eating (place, presence of others, other activities) and the state of child before, while and after eating were also recorded. Each child gave a stool sample that was analyzed using culture methods for Total Anaerobes Bacteria, *C.perfringens*, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. and *C. albicans* populations.

Results: Children with ASD consumed a greater percentage of their daily eating episodes intake alone and restless but while sitted, compared to control. Logistic regression analysis revealed that ASD children are 12.9% and 43.5%, respectively, more likely to have an eating episode alone and be restless but sitted, in comparison with the neurotypically developing children. Regarding gut flora, there was a tendency for greater populations of *Lactobacillus* spp. at ASD children ($p=0,069$). On the other hand, in neurotypically developing children, there was a positive correlation between the percentage of eating episodes consumed restless but sitted and the *C.albicans* populations, while in ASD children a negative coerrelation was observed between this eating behavior and *Bifidobacterium* populations.

Conclusions: Several eating behaviors parameters differ between children with and without ASD and some of these parameters correlate with gut flora. Further research activity in this area is needed in order to elucidate pathophysiological underlying mechanisms.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εργασία αυτή ευχαριστώ θερμά:

*«Όσους ήταν προσβάσιμοι από εμπειρία, λογική και... καλή θέληση»**

και τα παιδάκια αυτά.

* Από τους «Φιλοσοφικούς Τόπους» του Άρη Κουτούγκου

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.Διαταραχές Φάσματος Αυτισμού

1.1.1. Ορισμός και διάγνωση

Οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD) ανήκουν στην κατηγορία των νευροαναπτυξιακών διαταραχών που είναι γνωστές και ως διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές. Το σύνολο αυτών χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργίες στην κοινωνική επικοινωνίας και επιθυμία για ομοιότητα, όπως φαίνεται από τις επαναλαμβανόμενες κινήσεις, στερεοτυπικές συμπεριφορές ή τα αυστηρώς οριοθετημένα ενδιαφέροντα. Επιπλέον, σε ορισμένες περιπτώσεις συνυπάρχει δυσλειτουργία και στη γλωσσική επικοινωνία (Johnson et al. 2007).

Κάνοντας μια σύντομη ιστορική αναδρομή, το 1943 ένας Αμερικανός ψυχίατρος ο Leo Kanner, χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τον όρο αυτισμό (AD) προκειμένου να περιγράψει κάποια παιδιά με μειωμένο ενδιαφέρον για επικοινωνία με τους άλλους ανθρώπους (Kanner 1943). Ένα χρόνο αργότερα, το 1944, ο Αυστριακός παιδίατρος, Hans Asperger, περιγράφει μια άλλη ομάδα παιδιών με παρόμοια συμπεριφορά, αλλά ηπιότερα συμπτώματα και υψηλότερη διανοητική ικανότητα. Από τότε το όνομα αυτού ταυτίστηκε με τον υψηλής λειτουργικότητας αυτισμό, το σύνδρομο Asperger (AS) (Klin 2003). Ο όρος διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές (PDD) εμφανίστηκε μόλις τη δεκαετία του 1980, ενώ οι διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές που δεν ορίζονται διαφορετικά (PDD-NOS), αποτελούν τις περιπτώσεις που εμφανίζουν τη γενικότερη συμπτωματολογία των διαταραχών αυτών, εντούτοις όμως, δεν πληρούν το σύνολο των κριτηρίων ούτως ώστε να χαρακτηριστούν ως AD ή AS (Johnson et al. 2007). Οι άλλες δύο κατηγορίες των διάχυτων αναπτυξιακών διαταραχών, το σύνδρομο Rett και η παιδική αποδιοργανωτική διαταραχή είναι σπάνιες και σχετίζονται με σημαντικά αναπτυξιακά προβλήματα, γεγονός που τις καθιστά περισσότερο διακριτές από τις άλλες κατηγορίες (Faras et al. 2010).

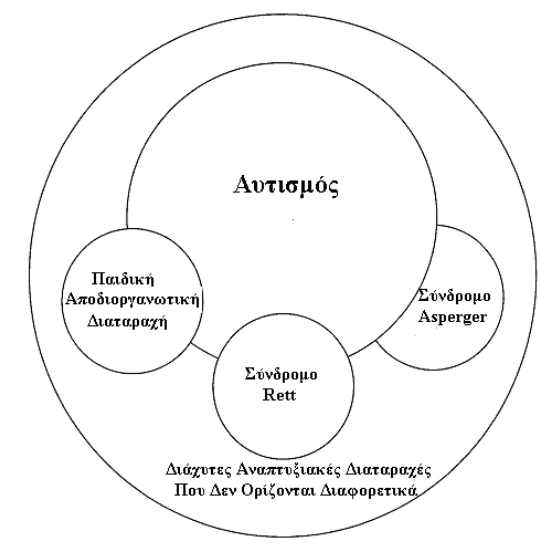
Αναγνωρίζοντας πλέον ότι δύο διαφορετικές περιπτώσεις, ακόμα και στην ίδια οικογένεια, δεν είναι πανομοιότυπες, θεωρείται πλέον πιο χρήσιμο να αντιμετωπίζεται ο αυτισμός ως ένα φάσμα διαταραχών, με την «κλασσική» περίπτωση του αυτισμού που περιέγραψε ο Kanner στον πυρήνα, όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 1**. Επιπλέον, ο πυρήνας αυτός, επικαλύπτεται εν μέρει με το σύνδρομο Asperger, την παιδική εκφυλιστική διαταραχή και το σύνδρομο Rett's. Όλες οι παραπάνω περιβάλλονται από την άτυπη μορφή του αυτισμού (PPD-NOS) και το σύνολο αυτών αποτελεί τις διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές. Έτσι, παρόλο που τα παιδιά που εμφανίζουν τις διαταραχές αυτού του φάσματος, παρουσιάζουν γενικά μειωμένη ικανότητα στην επικοινωνιακές και κοινωνικές ικανότητες, η διάχυση, η σοβαρότητα, η

έναρξη αλλά και η εξέλιξη των συμπτωμάτων με την πάροδο του χρόνου ποικίλει από παιδί σε παιδί (Kidd 2002).

Ο ορισμός και η διάγνωση, λοιπόν, των διαταραχών αυτών έχει διευρυνθεί τα τελευταία χρόνια, ούτως ώστε να συμπεριλαμβάνει και τις ηπιότερες μορφές. Ο όρος «διαταραχές του φάσματος του αυτισμού» χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις τρεις από τις πέντε κατηγορίες διάχυτων αναπτυξιακών διαταραχών, που συμπεριλαμβάνονται στην τέταρτη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών (DSM-IV) (American Psychiatric Association 1994) και της δέκατης έκδοσης της Παγκόσμιας Κατηγοριοποίησης Ασθενειών (ICD-10): τον αυτισμό, το σύνδρομο Asperger και τις διάχυτες αναπτυξιακές διαταραχές που δεν ορίζονται διαφορετικά, ή όπως συχνά αυτές αποκαλούνται, άτυπη μορφή του αυτισμού (PPD-NOS).

Ο λόγος για τον οποίο υπάρχει ο διαχωρισμός μεταξύ των επιμέρους κατηγοριών των διάχυτων αναπτυξιακών διαταραχών στο DSM-IV είναι για να αναγνωρίζεται η ποικιλία των συμπτωμάτων. Εξαιτίας αυτής της ποικιλομορφίας, υπήρχε μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των ατόμων που διαγιγνώσκονταν με αυτισμό στο παρελθόν, γεγονός που καθιστούσε εξαιρετικά δύσκολο τον καθορισμό της αιτιολογίας, της πρόγνωσης και της κατάλληλης θεραπείας. Όμως με την εγκαθίδρυση του συστήματος DSM-IV αναγνωρίζεται πλέον η ποικιλομορφία των συμπεριφορών μεταξύ των ατόμων και η ερευνητική δραστηριότητα μπορεί πλέον να επικεντρωθεί συγκεκριμένα στην αιτιολογία και στη θεραπευτική προσέγγιση καθεμίας από τις διαταραχές (Faras et al. 2010).

Σχήμα 1.1. Διαταραχές φάσματος αυτισμού (προσαρμοσμένο σχήμα των Lord C & Risi .1998)



1.1.2. Επιδημιολογικά δεδομένα

Τα επιδημιολογικά δεδομένα τα οποία συνήθως παρουσιάζονται σχετικά με τις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού (ASD), κατατάσσουν το σύνολο αυτών των διαταραχών ως τη δεύτερη πιο συχνά εμφανιζόμενη αναπτυξιακή διαταραχή σε παιδιά (Centers for Disease Control and Prevention 2009). Από μια από τις ελάχιστες μελέτες όπου αναλύθηκαν περαιτέρω τα επιδημιολογικά δεδομένα με βάση το είδος της διαταραχής του φάσματος (Fombonne et al. 2006), προέκυψε ότι, στον Καναδά τουλάχιστον, όπου ο επιπολασμός των ASD ανήλθε στις 6,5 περιπτώσεις ανά 1000 άτομα, ο επιμέρους επιπολασμός του AD ήταν 2,2 ανά 1000 άτομα, 1.0 ανά 1000 για το AS, και 3.3 ανά 1000 για τις PDD-NOS. Επιπλέον, οι ASD εμφανίζονται τέσσερις φορές πιο συχνά στα αγόρια συγκριτικά με τα κορίτσια (Fombonne et al. 2006), ενώ η αναλογία αυτή είναι ακόμα μεγαλύτερη για τον υψηλής λειτουργικότητας αυτισμό, με τα δεδομένα να ποικίλουν από 6:1 έως και 15:1 (Volkmar et al. 2005).

Από ιστορικής απόψεως, τα επιδημιολογικά δεδομένα αυτών των διαταραχών είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με τις τροποποιήσεις στα αντίστοιχα διαγνωστικά κριτήρια. Αρχικά, στη δεκαετία του 1980, η κλασική μορφή του αυτισμού αποτελούσε ξεχωριστή οντότητα με ειδικά διαγνωστικά κριτήρια στην τρίτη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών (DSM-III). Έπειτα το 1987, με την αναθεώρηση του DSM-III (DSM-III-R), τα κριτήρια του AD διευρύνθηκαν, ενώ παράλληλα εισήχθη η νέα κατηγορία των PDD-NOS. Μετά από αυτό το γεγονός και πιο ήπιες περιπτώσεις συμπεριλαμβάνονταν στη διάγνωση. Κατόπιν επιπλέον αναλύσεων των επόμενων ετών, το 1994 δημοσιεύεται η τέταρτη τελικά έκδοση (DSM-IV) του κριτηρίου όπου συμπεριλαμβάνεται πλέον και το AS.

Έτσι, η αύξηση κατά δέκα φορές του επιπολασμού, από 4/10.000 σε 6/1.000 που παρατηρήθηκε σε δύο δεκαετίες (Chakrabarti & Fombonne 2005), οφείλεται εν μέρει τουλάχιστον στη διεύρυνση των κριτηρίων. Επιπρόσθετοι λόγοι για αυτή την παρατηρούμενη αύξηση περιλαμβάνουν την καλύτερη ενημέρωση του κοινού και τον καλύτερο εντοπισμό αυτών των περιστατικών. Εντούτοις, το ενδεχόμενο η αύξηση αυτή να οφείλεται σε κάποιο αδιευκρίνιστο μέχρι τώρα παράγοντα κινδύνου δεν μπορεί να αποκλειστεί και επομένως απαιτείται περισσότερη ερευνητική δραστηριότητα επί του θέματος (Faras et al. 2010)

Παρατηρώντας, όμως, την επικρατούσα συζήτηση στην επιστημονική κοινότητα αναφορικά με τον επιπολασμό των διαταραχών, σαφείς απαντήσεις δεν είναι δυνατό να δοθούν μέχρι και σήμερα. Τα προαναφερθέντα γίνονται αντιληπτά και από τα δεδομένα που παρατίθενται στη συνέχεια όπως αυτά αναφέρονται σε έκθεση της επιτροπής της Ευρωπαϊκής Ένωσης (European Commission Health & Consumer Protection Directorate).

Από τις συνήθεις πηγές πληροφοριών για δεδομένα που αφορούν στην υγεία του πληθυσμού (κλινικές μελέτες, νοσοκομειακά και εθνικά αρχεία), είναι δύσκολο να προκύψουν επιδημιολογικά δεδομένα, καθώς η θεραπεία των διαταραχών αυτών δεν είναι νοσοκομειακή και επομένως τα δεδομένα από τα νοσοκομειακά αρχεία δεν ανταποκρίνονται στις πληθυσμιακές αναλογίες. Επιπλέον των προαναφερθέντων δεδομένων, είναι πολύ δύσκολο να μετρηθεί ο επιπολασμός και η επίπτωση για καταστάσεις υγείας, πέραν των βασικών παραμέτρων που αξιολογούνται με τη χρήση επιδημιολογικών μελετών (Health Interview Surveys). Έτσι, για καταστάσεις όπως οι διαταραχές του φάσματος του αυτισμού, το μέγεθος του δείγματος που απαιτείται προκειμένου να έχουμε αξιόπιστα δεδομένα, προσεγγίζει το μέγεθος του γενικού πληθυσμού.

Συγκεκριμένα, οι μελέτες σε αυτό τον ερευνητικό τομέα είναι σπάνιες, δαπανηρές, με ιδιαίτερες δυσκολίες στη διεξαγωγή τους αλλά και τη συγκρισιμότητά τους σε βάθος χρόνου. Ειδικότερα, τα προβλήματα προκύπτουν από τρεις κυρίως αιτίες. Πρώτον, η διάγνωση των ASD ενέχει πολλές δυσκολίες, καθώς το διαγνωστικό κριτήριο το οποίο χρησιμοποιείται βασίζεται σε συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά, αφού δεν υπάρχει κάποιο ιατρικό εργαλείο το οποίο να μπορεί να ορίσει επ' ακριβώς αν ένα άτομο ανήκει ή όχι στο φάσμα. Έτσι, όχι μόνο έχουν μεταβληθεί τα κριτήρια με την πάροδο των ετών, αλλά και η εφαρμογή των κριτηρίων διαφέρει μεταξύ επιστημόνων. Δεύτερον, η ίδια ορολογία πολλές φορές χρησιμοποιείται σε διαφορετικές περιπτώσεις. Παραδείγματος χάριν, ο όρος «αυτισμός» χρησιμοποιείται για να περιγράψει τόσο, την κλασσική περίπτωση του Kanner όσο και το σύνολο των διαταραχών του φάσματος. Σε οποιαδήποτε περίπτωση, υπάρχει μεγάλη αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των υποομάδων όπως αυτές ορίζονται στο ICD-10 και το DSM-IV και γι' αυτό σε πολλά άτομα αποδίδονται περισσότερες από μία διαφορετικές διαγνώσεις μέσα στο φάσμα. Τρίτον, στις μελέτες επιπολασμού, η μέθοδος εντοπισμού των ασθενών ποικίλει. Σε αυτές που περιλαμβάνουν κατά πρόσωπο αξιολόγηση και διάγνωση κάθε συμμετέχοντα υπάρχει η τάση να προκύπτουν υψηλότερα ποσοστά σε σχέση με μελέτες όπου η διάγνωση έχει ήδη οριστεί από τις κλινικές. Σύμφωνα, λοιπόν, με όλα τα παραπάνω είναι προφανείς οι λόγοι για τους οποίους καθίσταται δύσκολο να πραγματοποιηθούν συγκρίσεις μεταξύ μελετών που διεξάγονται από διαφορετικό επιστημονικό προσωπικό, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, σε διαφορετικά μέρη, με τη χρήση διαφορετικών ορισμών και διαφορετικών μεθόδων ανίχνευσης και αξιολόγησης του δείγματος.

Συνοψίζοντας, εν συνεχεία παρατίθενται τα δεδομένα από μια πληθώρα επιδημιολογικών μελετών, που έχουν πραγματοποιηθεί ανά τον κόσμο (**Πίνακας 1.1**), όπως αυτές παρατίθενται στην έκθεση της επιτροπής της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Οι δυσκολίες και οι κίνδυνοι που ενέχει η διεξαγωγή κάποιου συμπεράσματος, ενισχύονται από τα δεδομένα συστηματικών ανασκοπήσεων της βιβλιογραφίας στις οποίες υποστηρίζεται ότι οι υπάρχουσες ενδείξεις δεν είναι αρκετές προκειμένου η παρατηρηθείσα αύξηση να αποδοθεί αποκλειστικά σε μεθοδολογικά σφάλματα. Βασιζόμενη, λοιπόν, σε αυτή την όψη του νομίσματος εκφράζεται και η άποψη ότι η αύξηση αυτή θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ως μια επείγουσα κατάσταση δημόσιας υγείας (Lenoir et al. 2009).

Οποιαδήποτε και αν είναι τα αίτια της αύξησης του επιπολασμού, πάντως, η ακριβής γνώση αυτού μπορεί να αποδειχθεί ζωτικής σημασίας, εάν ο σχεδιασμός και η παροχή υπηρεσιών στις ζωές των ατόμων με αυτά τα χαρακτηριστικά, έχει το σωστό προσανατολισμό.

Πίνακας 1.1. Μελέτες για τον επιπολασμό της διαταραχής του αυτισμού
(http://ec.europa.eu/health/archive/ph_information/dissemination/diseases/autism_1)

Περιοχή	Έτος	Δείγμα	Διαγνωστικό κριτήριο	Ηλικία	Συχνότητα ανά 10.000
Middlesex (UK)	1967	77 800	Kanner	8-10	4.5
Aarhus (DK)	1972	46 500	Kanner	2-14	4.3
Camberwell (UK)	1979	34 700	Kanner	3-17	4.9
Fukushima (JP)	1982	217 600	Kanner	4-10	5.0
Västerbotten (S)	1983	69 600	Rutter	0-20	5.6
Rhône (F)	1989	103 700	Rutter	5-9	10.8
Iceland	1996	38 746	Rutter	4-12	8.8
Kurume (JP)	1987	32 800	DSM III	4-12	15.5
Ibaraki (JP)	1988	95 400	DSM III	7	13.8
Nagoya (JP)	1989	12 300	DSM III	3-5	13.0
Utah (US)	1989	184 800	DSM III	8-12	4.0
North Dakota (US)	1987	181 000	DSM III	2-18	3.3
Göteborg1 (S)	1984	128 600	DSM III	4-18	4.0
Göteborg2 (S)	1986	42 900	DSM III	0-10	7.5
Nova Scotia (CA)	1988	20 800	DSM III - R	6-14	10.1
Nord-Trondelag (NO)	1998	n.a.	DSM-IV	3-14	3.8
Göteborg3 (S)	1991	40 700	DSM III - R	4-13	11.5
Toyota (JP)	1983	35 000	Ishii	6-12	16.0
Northern Finland (FI)	1997	152 732	DSM III – R / DSM-IV	5-7	20.7
Ireland East (IRL)	1997	549 255	DSM III / DSM III - R	0-25	4.94
Atlanta (US)	1996	289 456	DSM-IV	3-10	34.0
Brick Township, New Jersey (US)	1998	7 117	DSM-IV	3-10	67.0
Cambridgeshire (UK)	1999	34 262 0	DSM-IV	5-11.	57

1.1.3. Αιτιολογία και παράγοντες κινδύνου

Μέχρι σήμερα δεν έχει αναγνωριστεί κάποιο σαφές αίτιο των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού και πλέον είναι σχεδόν βέβαιο πως η αιτιολογία είναι πολυπαραγοντική (Currenti 2010).

Παρόλα αυτά, τα τελευταία χρόνια μελετώνται διάφορα επιστημονικά πεδία προκειμένου να δοθούν απαντήσεις αναφορικά με τις διαταραχές αυτές. Η επιδημική τάση που αναπτύχθηκε μέσα σε μία 20ετία περίπου (Herbert et al. 2006), δεν είναι δυνατόν να εξηγηθεί μόνο από γενετικούς παράγοντες οι οποίοι συνολικά μέχρι σήμερα γνωρίζουμε ότι ερμηνεύουν το 10-15% των διαταραχών αυτών, και φαίνεται ότι ο φαινότυπος των ASD είναι αποτέλεσμα, όχι μόνο γενετικών, αλλά και τοξικών περιβαλλοντικών ή/ και επιγενετικών παραγόντων ικανών να επηρεάσουν τις γονιδιακές και, εν συνεχεία, τις νευρολογικές λειτουργίες (Levy et al. 2009).

Κατόπιν, θα ακολουθήσει μια σύντομη αναφορά των παραγόντων που έχουν συσχετιστεί με την αιτιολογία των διαταραχών και είναι, είτε λιγότερο είτε περισσότερο, σαφής η εμπλοκή τους.

- Γενετικοί παράγοντες

Οι γενετικοί παράγοντες αποτελούν την κατηγορία των αιτιολογικών παραγόντων που έχει τεκμηριωθεί καλύτερα η συνεισφορά τους στις προς μελέτη διαταραχές (Landrigan 2010). Στις ιδιοπαθείς περιπτώσεις, όπου δεν υπάρχουν άλλα γνωστά παθολογικά αίτια, μελέτες σε ζεύγη διδύμων υποδεικνύουν 60% ποσοστά εμφάνισης σε μονοζυγωτικούς και 5% σε διζυγωτικούς (Bohm & Stewart 2009). Λαμβάνοντας, λοιπόν, υπόψη και τον επιπολασμό στο γενικό πληθυσμό, υπολογίζεται ότι η κληρονομικότητα και η γενετική συνεισφορά αγγίζει το 90%, το υψηλότερο ποσοστό όλων των πολυπαραγοντικών ψυχιατρικών διαταραχών σε παιδιά (Bayley et al. 1996). Παρόμοια συμπεράσματα προκύπτουν και από δεδομένα μελετών με άτομα της ίδιας οικογένειας, όπου ο κίνδυνος για εμφάνιση ASD σε αδέρφια των ατόμων που ανήκουν στο φάσμα είναι περίπου 6% όταν υπάρχει κάποιο μεγαλύτερο παιδί με ASD, και ακόμα υψηλότερη όταν υπάρχουν ήδη δύο αδέρφια με ASD (Muhle et al. 2004).

Αναλύοντας τα δεδομένα και από τα δύο είδη μελετών που αναφέρθηκαν παραπάνω, υπολογίζεται ότι υπάρχουν 3 έως 12 αλληλόμορφα γονίδια υπεύθυνα για το φαινότυπο αυτό και τα οποία δρουν συνεργιστικά (Rutter 2005), ενώ σε ένα μόνο πολύ μικρό ποσοστό των περιπτώσεων (<10%), οι ASD συνυπάρχουν κάποια άλλη παθολογική κατάσταση ή γνωστό σύνδρομο (Chakrabarti & Fombonne 2005).

Αναφορικά με την περίπτωση ενός και μόνο γονιδίου, η οζώδης σκλήρυνση είναι η μόνη γνωστή νόσος που συνυπάρχει με τη διάγνωση του αυτισμού στο 1-3% των περιπτώσεων των ASD και παρόλο που η συσχέτιση είναι αρκετά σαφής, ο αιτιολογικός μηχανισμός παραμένει αδιευκρίνιστος (Rutter 2005). Μια, επιπλέον, πολυσυζητημένη παρατηρηθείσα συσχέτιση είναι αυτή μεταξύ του εύθραυστου Χ χρωμοσώματος και του αυτισμού, όπου μόνο το 2-3% των περιπτώσεων συνυπάρχει με αυτισμό (Chakrabarti & Fombonne 2001). Εντούτοις, ακόμα και αυτό το ποσοστό είναι αμφιλεγόμενο, δεδομένου ότι τα άτομα με αυτή τη χρωμοσωμική ανωμαλία συχνά παρουσιάζουν επικοινωνιακές δυσλειτουργίες, οι οποίες, όμως, δεν τα κατατάσσουν στο φάσμα του αυτισμού (Reiss & Dant 2003).

- Προγεννητικοί και περιγεννητικοί παράγοντες

Παρόλο που το μεγαλύτερο μέρος της ερευνητικής δραστηριότητας έχει επικεντρωθεί στους γενετικούς παράγοντες και στις συνυπάρχουσες με τον αυτισμό διαταραχές, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μέρος της αιτιολογίας οφείλεται και σε μη γενετικούς παράγοντες, μολονότι τα δεδομένα είναι αρκετά περιορισμένα.

Από μεμονωμένες μελέτες περιπτώσεων προκύπτει η υπόθεση, ότι η έκθεση κατά την ενδομήτριο ζωή σε ορισμένες λοιμώξεις ή/και τοξικές ουσίες καθώς και ορισμένες καταστάσεις υγείας της μητέρας, ενδεχομένως να συνεισφέρουν στην αιτιολογία των αναπτυξιακών διαταραχών του φάσματος (Rutter 2005, Medical Research Council 2001). Ενδεικτικά να αναφέρουμε κάποιους από τους περιγεννητικούς παράγοντες, όπως ο υποθυρεοειδισμός της εγκυμονούσας, η χρήση του κατασταλτικού «thalidomide» (που χρησιμοποιούνταν για την ναυτία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης) αλλά και του βαλπροϊκού οξέος που χρησιμοποιείται ως αντιεπιληπτικό/ αντικαταθλιπτικό, η χρήση κοκαΐνης και η κατανάλωση αλκοόλ, καθώς και η μόλυνση από το μεγαλοκυτταροϊό κατά την κύηση. Να τονιστεί, όμως, ότι οι παρακάτω συσχετίσεις δεν έχουν επιβεβαιωθεί από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες. Περισσότερα δεδομένα υπάρχουν για τον ιό της ερυθράς, παρόλο που και αυτή η συσχέτιση παραμένει ως υπόθεση. Συγκεκριμένα από μια διαχρονική μελέτη που διεξήχθη τη δεκαετία του 1970 (Chess et al. 1977) σε 243 παιδιά με μόλυνση από τον ιό της ερυθράς εκ γενετής, βρέθηκε αυξημένη επίπτωση του αυτισμού και αυξημένη ανάκαμψη της βαρύτητας διαχρονικά. Εντούτοις, τα παραπάνω αποτελούν υποθέσεις και όχι συμπεράσματα μέχρι και σήμερα, δοθείσας και της μειωμένης πλέον επίπτωσης λόγω της εκτεταμένης χρήσης κατάλληλων εμβολιασμών.

Από τους περιγεννητικούς παράγοντες, μόνο η εγκεφαλοπάθεια στα νεογνά έχει συσχετιστεί με τις ASD. Συγκεκριμένα οι Badawi et al. (2006), παρατήρησαν ότι 5% των επιζώντων από εγκεφαλοπάθεια νεογνών, διαγνώσθηκε αργότερα με ASD, ποσοστό έξι φορές μεγαλύτερο από αυτό της ομάδας ελέγχου. Τα αποτελέσματα για άλλους περιγεννητικούς παράγοντες που συχνά μελετώνται, όπως το βάρος γέννησης και η διάρκεια κύησης δεν έχουν αναδείξει κάποια επιμέμοντα ευρήματα (Glasson et al. 2004).

- Παράγοντες κινδύνου μετά τη γέννηση

Την τελευταία δεκαετία, κυριαρχεί η υπόθεση της εμπλοκής παραγόντων κινδύνου κατά την βρεφική και την παιδική ζωή στο φαινότυπο των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού.

Αρχικά, διατυπώθηκε η υπόθεση ότι ο εμβολιασμός κατά της ιλαράς, παρωτίτιδας και ερυθράς αποτέλεσε την αιτία της ραγδαίας αύξησης του επιπολασμού, ισχυρισμός ο οποίος δεν επιβεβαιώθηκε (Rutter 2004). Ειδικότερα, προτάθηκε από ορισμένους ερευνητές ότι η χρήση του συστατικού Thimerosal (συντηρητικό πολλών εμβολίων που περιέχει μεταξύ άλλων και ποσότητα υδραργύρου, με ευρεία εφαρμογή τα τελευταία χρόνια), εμπλέκεται στην αιτιολογία, καθώς ο υδράργυρος θεωρείται τοξικός για το νευρικό σύστημα (Geier et al. 2006). Ούτε αυτή η υπόθεση, όμως, έχει επιβεβαιωθεί. (Parker et al. 2004). Συνοψίζοντας, όπως αναφέρεται και σε ανασκόπηση του Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών, δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις για κίνδυνο από τη χρήση του συστατικού αυτού στα εμβόλια, εκτός από κάποιες περιπτώσεις αντίδρασης τοπικής υπερευαισθησίας (Ball 2001). Συμπληρωματικά, όπως αναφέρει ο Phelan (2002), παρόλο που δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι οι παράγοντες αυτοί ευθύνονται εξολοκλήρου για την αύξηση στον επιπολασμό που σημειώθηκε τα τελευταία χρόνια, δεν μπορεί να αποκλειστεί και η υπόθεση για αυξημένη ευαισθησία κάποιων ατόμων σε αυτή την έκθεση.

- Άλλοι παράγοντες: ποιος ο ρόλος του γαστρεντερικού συστήματος

Πληθώρα επιπρόσθετων παραγόντων διερευνώνται σχετικά με την επίδραση ή/ και συνεισφορά τους στην αιτιολογία των ASD. Παρόλο που αυτά τα δεδομένα, μέχρι σήμερα, αποτυπώνουν μια συγχρονική εικόνα και δεν γνωρίζουμε αν αποτελούν μέρος της αιτιολογικής βάσης, η πιθανή βελτίωση της συμπτωματολογίας αποτελεί λόγο, άξιο, αναφοράς σε αυτούς.

Πληθώρα διαιτητικών ανεπαρκειών έχει καταγραφεί στα παιδιά αυτά, συμπεριλαμβανομένων των χαμηλών επιπέδων μαγνησίου (Strambi et al. 2006), ψευδαργύρου, σεληνίου και λιποδιαλυτών βιταμινών και βιταμινών του συμπλέγματος B (Adams et al. 2003), ω-3 λιπαρών οξέων (Chen et al. 2004), και καρνιτίνης (Filapek et al. 2004). Τα αποτελέσματα από μελέτες

που στοχεύουν στη διόρθωση αυτών των ελλείψεων μέσω συμπληρωματικής χορήγησης, είναι μάλλον ελπιδοφόρα. Ενδεικτικά, οι Adams & Holloway 2004, παρατήρησαν σε 20 παιδιά με αυτισμό ότι η συμπληρωματική χορήγηση πολυβιταμινούχου σκευάσματος μπορεί να βελτιώσει τα γαστρεντερολογικά συμπτώματα, αλλά όχι την συμπεριφορά και τις γλωσσικές ικανότητες των παιδιών, ενώ από την μελέτη των Mousain-Bosc et al. 2006 βρέθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των κοινωνικών, επικοινωνιακών και διανοητικών ικανοτήτων των παιδιών αυτών με συμπληρωματική χορήγηση μαγνησίου και βιταμίνης B₆. Τέλος, βελτίωση των συμπτωμάτων έχει αναφερθεί και σε περιπτώσεις χορήγησης ορισμένων ιχθυελαίων, καρνιτίνης και του συνενζύμου Q₁₀ (Kidd et al. 2002).

Ένας επιπλέον παράγοντας που ενδεχομένως να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στις ASD, είναι οι αλλεργίες και οι δυσανεξίες σε ορισμένα τρόφιμα ή πρόσθετα τροφίμων. Ένα αρκετά μεγάλο μέρος της ερευνητικής δραστηριότητας στα θέματα των ASD, έχουν αποτελέσει οι δίαιτες ελεύθερες γλουτένης και καζεΐνης (δυσνητικά αλλεργιογόνα συστατικά), με αντικρουόμενα αποτελέσματα (Elder 2008).

Στο πλαίσιο αυτό των «άλλων παραγόντων» που σχολιάζονται στην παρούσα υποενότητα, από την σύντομη ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε διαφαίνεται ότι το σύνολο, σχεδόν, αυτών αφορά σε παράγοντες που, είτε άμεσα, είτε έμμεσα σχετίζονται με το γαστρεντερικό σύστημα. Επιπροσθέτως, λοιπόν, των παραπάνω σε άτομα με ASD, κατά καιρούς έχουν μελετηθεί: η ύπαρξη γαστρεντερικών συμπτωμάτων (Buie et al. 2010), η διαπερατότητα του εντερικού αυλού (DeMagistris et al. 2010), η χρήση αντιβιοτικών (Sandler et al. 2000), τα επίπεδα διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού στο αίμα ή/και τα ούρα (Yap et al. 2010), η εντερική μικροχλωρίδα (βλ. κεφάλαιο 1.1.3), κλπ. Έτσι, εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η προσέγγιση των Reighelt & Knivsberg (2009) με τίτλο «The possibility and probability of a gut-to-brain connection in autism», η οποία αναδεικνύει την πιθανή σχέση μεταξύ εγκεφάλου και γαστρεντερικού συστήματος, σχέση η οποία σχολιάζεται όλο και περισσότερο στη διεθνή βιβλιογραφία (Kau et al. 2011).

Εν κατακλείδι, δεδομένου ότι οι αιτιολογικοί παράγοντες προσδιορίζονται σταδιακά, το πλήθος των ατόμων με διάγνωση ιδιοπαθούς διαταραχής του φάσματος του αυτισμού θα συνεχίσει να μειώνεται. Έτσι, ο ρόλος των επιστημόνων θα προσανατολιστεί στην κατανόηση της νευρολογικής βάσης των διαταραχών και στην αναγνώριση μιας περισσότερο ομοιογενούς υποομάδας, με συγκεκριμένους βιολογικούς δείκτες. Επιπλέον, η καλύτερη κατανόηση των εκάστοτε βιολογικών διεργασιών θα έχει ως αποτέλεσμα την εφαρμογή στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων που θα απευθύνονται στην υποομάδα αυτή (Benvenuto et al. 2009).

**1.2. Διατροφική Συμπεριφορά Παιδιών που Βρίσκονται
στο Φάσμα του Αυτισμού**

1.2.1. Διατροφική συμπεριφορά ή διατροφικά προβλήματα;

Για τους νέους γονείς, μια από τις σημαντικότερες ανησυχίες είναι οι μεταβολές στο βάρος και το ύψος των παιδιών, δεδομένου ότι αντικατοπτρίζει την ανάπτυξή τους. Αντίστοιχα η πορεία αυτή καταγράφεται από τους επιστήμονες υγείας στην καμπύλη ανάπτυξης του ατομικού ιατρικού φακέλου κάθε παιδιού. Δεν υπάρχει, λοιπόν, αμφιβολία ότι οι γονείς θεωρούν τη διαδικασία της θρέψης των παιδιών τους ως μια από τις σημαντικότερες ευθύνες τους, και μελέτες όπως αυτή των Schreck et al. (2004), υποδεικνύουν ότι τα διατροφικά προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι γονείς παιδιών με ASD, εξακολουθούν να υπάρχουν και για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά το πέρας της περιόδου άγχους και προσήλωσης στις καμπύλες ανάπτυξης.

Ο επιπολασμός των διατροφικών συμπεριφορών, που συχνά τους προσδίδεται μια χροιά προβληματικής κατάστασης, υπολογίζεται να αφορά το 25–35% των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών και περισσότερο από το 80% των παιδιών με μειωμένη ανάπτυξη (Burklow et al. 1998). Παρακάτω ακολουθεί πίνακας με διάφορους ορισμούς που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς από ορισμένους ερευνητές, προκειμένου να περιγράψουν ορισμένα χαρακτηριστικά της διατροφικής συμπεριφοράς των παιδιών (**Πίνακας 1.2.**) και τα δεδομένα, όπου αυτά υπάρχουν, για την πορεία ανάπτυξης.

Για λόγους ευκολίας, από δω και στο εξής στην παρούσα εργασία, τα διατροφικά χαρακτηριστικά, όπως αυτά που φαίνονται στον Πίνακα 1.2., θα χαρακτηρίζονται ως «διατροφικά προβλήματα». Ως διατροφικές συμπεριφορές θα περιγράφεται το σύνολο των χαρακτηριστικών που αφορούν στην κατανάλωση των γευμάτων και εξετάστηκαν σε αυτή τη μελέτη. Αυτές περιλαμβάνουν τα είδη και τον τόπο, τις παράλληλες δραστηριότητες και την κοινωνική συναναστροφή κατά τη διάρκεια των γευμάτων.

Πίνακας 1.2 . Είδη διατροφικών προβλημάτων στα παιδιά (Τροποποιημένος από Keen 2008)

Ορισμοί	Συμπεριφορά	Χαρακτηριστικά ανάπτυξης
«Restrictive eating»	Μειωμένη όρεξη, κανονική διατροφή, μικρές ποσότητες	Αρχικά φυσιολογική, χαμηλό βάρος και ύψος σε περίπτωση που το πρόβλημα εμμένει
«Selective eating»	Περιορισμένη ποικιλία τροφίμων, ιδιότροπη συμπεριφορά	Συνήθως φυσιολογικό βάρος
«Food refusal»	Επεισοδιακή, διαλείπουσα, περιστασιακή κατανάλωση τροφής	-
«Food phobia»	Αποφυγή τροφής, λειτουργική δυσφαγία, έμετος	-
«Inappropriate texture for eating»	Κατανάλωση αλεσμένων ή ημι-στερεών τροφίμων, όλα τα είδη τροφίμων	Συνήθως φυσιολογικό βάρος και σε μερικές περιπτώσεις χαμηλό
«Picky eating»	Περιορισμένος αριθμός τροφίμων και ειδών τροφίμων, έντονη προτίμηση σε ορισμένους τρόπους προετοιμασίας και παρουσίασης του τροφίμου	Ανεπηρέαστη
«Perseverant eating behaviour»	Περιορισμένη ποικιλία τροφίμων, άρνηση κατανάλωσης τροφής, έντονος φόβος	Φυσιολογική

1.2.2. Διατροφικά Προβλήματα σε παιδιά με ASD

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ASD ανήκουν στην κατηγορία των νευροαναπτυξιακών διαταραχών με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά σε τρεις τομείς λειτουργικότητας: τη διαταραγμένη κοινωνική συμπεριφορά και επικοινωνιακές ικανότητες, καθώς και την υιοθέτηση επαναλαμβανόμενων και στερεοτυπικών συμπεριφορών. Έτσι, οι γονείς των παιδιών αυτών, συχνά αναφέρουν ότι έρχονται αντιμέτωποι με διάφορες προκλήσεις που σχετίζονται με τις καθημερινές δραστηριότητες, τη συμπεριφορά και την επικοινωνία των παιδιών τους, ενώ, δεν είναι σπάνια και η έκφραση ανησυχίας τους για τη διατροφή αυτών (Cermak et al. 2010). Ειδικότερα, η διαχείριση των διατροφικών προβλημάτων και η ανησυχία τους για την επαρκή πρόσληψη θρεπτικών συστατικών φαίνεται να είναι οι βασικότεροι λόγοι για τους οποίους οι γονείς παιδιών με ASD αναζητούν την παροχή διατροφικών υπηρεσιών (Bowers 2002). Πολλές φορές εκλυτικός παράγοντας της ανησυχίας αυτής είναι, μεταξύ άλλων, το χαμηλό βάρος των παιδιών. Ενδεικτικά, από τη μελέτη των Bolte et al. 2002 σε 103 αγόρια με αυτισμό ή σύνδρομο Asperger, το 28% αυτών είχε Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) για την ηλικία του, χαμηλότερο από την 5^η εκατοστιαία θέση, με μοναδικό, στατιστικά σημαντικό προγνωστικό παράγοντα, την υπερκινητική συμπεριφορά. Παρόμοια δεδομένα προκύπτουν για τα αγόρια και από τη μελέτη των Mouridsen et al. 2002, οι οποίοι συμπεριέλαβαν στο δείγμα τους και κορίτσια με αυτισμό. Γι' αυτά, όμως, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα.

Ήδη, λοιπόν, από το 1969, οι συστάσεις τροποποίησης συμπεριφοράς που διατυπώθηκαν από τους Clancy et al. και είχαν στόχο τη διόρθωση των διατροφικών προβλημάτων παιδιών με αυτισμό, ήταν βασισμένες στην υπόθεση ότι, τα συμπεριφοριστικά προβλήματα που παρατηρούνται στις ASD, έχουν ως αποτέλεσμα ανεπαρκείς, σε θρεπτικά συστατικά, δίαιτες και χρήζουν ειδικών παρεμβάσεων.

Δυστυχώς, όμως, μολονότι υπάρχουν αυτές οι αναφορές των γονέων και παράλληλα η επιστημονική κοινότητα που ασχολείται με την αξιολόγηση και τη διάγνωση των ASD (American Psychiatric Association 2000), θεωρεί ότι τα διατροφικά προβλήματα είναι εντονότερα στα παιδιά αυτά συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα, αξιοσημείωτη διαφορά παρατηρείται μεταξύ της πλούσια κλινικής εμπειρίας στα διατροφικά προβλήματα και της σπανιότητας των συστηματικών μελετών. Επιπροσθέτως, όπως φαίνεται και από τα παρακάτω, ελάχιστες είναι αυτές οι μελέτες οι οποίες έχουν συμπεριλάβει και ομάδα ελέγχου για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων τους.

Πρόσφατα δεδομένα, πάντως, αναδεικνύουν ποσοστά επιπολασμού της τάξεως του 90%, ενώ ορισμένοι ερευνητές προτείνουν ότι η παρουσία προβλημάτων κατά τη βρεφική ηλικία ενδεχομένως να αποτελεί πρόωμη ένδειξη των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού (Laud et al. 2009).

Προτού γίνει προσπάθεια να διερευνηθεί η φύση των διατροφικών προβλημάτων στα παιδιά με ASD, κρίνεται απαραίτητο να σχολιαστεί ένα βασικό στοιχείο/ περιορισμός που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη πριν τη διεξαγωγή συμπερασμάτων. Αυτό αφορά τον εκ φύσεως περιορισμό των παιδιών με ASD να μπορέσουν να περιγράψουν τη συμπεριφορά τους, ενώ ταυτόχρονα οι γονείς διαμορφώνουν τις δικές τους πεποιθήσεις. Συγκεκριμένα, ενδέχεται οι υπεύθυνοι διατροφής των παιδιών με αυτού του είδους τις διαταραχές να πιστεύουν ότι υπάρχει εντονότερη συσχέτιση μεταξύ δίαιτας και συμπεριφοράς και πιο θετική στάση απέναντι σε θέματα διατροφής, συγκριτικά με τους γονείς της ομάδας ελέγχου (Raiten & Massaro 1986).

Καταρχάς, και όπως ήδη αναφέρθηκε, η επιλεκτικότητα των τροφίμων είναι η πιο συχνά εκφραζόμενη ανησυχία των γονέων, που, όπως αποτυπώνεται σε πολύ πρόσφατα δεδομένα, το 70% παιδιών με ASD παρουσιάζει αυτό το χαρακτηριστικό (Volkert & Vaz 2010). Παρόλα αυτά, όμως, μέχρι και σήμερα δεν υπάρχει κάποιος σαφής και κοινά αποδεκτός ορισμός. Έτσι, ο όρος «επιλεκτικότητα των τροφίμων» χρησιμοποιείται για συχνή άρνηση κατανάλωσης τροφίμων, περιορισμένη ποικιλία τροφίμων, υπερβολική πρόσληψη ή επιλεκτική κατανάλωση ορισμένων ομάδων τροφίμων (Cermak et al. 2010). Έτσι, οι Kerwin et al. (2005) στα 89 παιδιά, 3-17 ετών, με ASD που συμπεριέλαβαν στη μελέτη τους βρήκαν ότι το 60% περίπου αυτών είχε έντονες προτιμήσεις και απέχθειες σε ορισμένα τρόφιμα, ενώ το 54% αυτών παρουσίαζε ασυνήθιστες διατροφικές συνήθειες. Εντυπωσιακό είναι το αποτέλεσμα, από την ίδια μελέτη, ότι μόνο το 6,7% των γονέων δήλωσε ότι το παιδί τους έχει κάποιο διατροφικό πρόβλημα. Ως προς το ποσοστό της επιλεκτικότητας, βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Field et al. 2003.

Παρότι όμως σε αυτές τις μελέτες αναφέρονται υψηλά ποσοστά ορισμένων διατροφικών προβλημάτων, η διεξαγωγή συμπερασμάτων δεν είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί χωρίς τη σύγκριση με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Η ύπαρξη εντονότερων διατροφικών προβλημάτων που υπονοείται από τις προαναφερθείσες έρευνες, φαίνεται να επιβεβαιώνεται από τις ελάχιστες μελέτες που έχουν συμπεριλάβει ομάδα ελέγχου (Bandini et al. 2010).

Μελέτη ορόσημο αποτελεί αυτή των Schreck et al. 2004 λόγω του μεγάλου μεγέθους και αντιπροσωπευτικού, των παιδιών με αυτισμό, δείγματος, αλλά και της σύγκρισης παιδιών με αυτισμό και τυπικά αναπτυσσόμενων (n=138 και n=298, αντίστοιχα). Μεταξύ των παιδιών 5-

12 ετών που έλαβαν μέρος, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά περισσότερα διατροφικά προβλήματα στα παιδιά με αυτισμό. Τα είδη αυτών των προβλημάτων αφορούν στην άρνηση κατανάλωσης πολλών τροφίμων, χρήση ειδικών σκευών, προτίμηση σε πολτοποιημένα τρόφιμα και στην περιορισμένη ποικιλία τροφίμων. Δύο χρόνια αργότερα (Schreck & Williams 2006) δημοσιεύεται μια επιπρόσθετη ανάλυση των δεδομένων αυτών, αναφορικά με την περιορισμένη ποικιλία τροφίμων που βρέθηκε ότι καταναλώνουν τα αυτιστικά παιδιά, με σκοπό να διερευνηθεί αν η βαρύτητα της νόσου και οι προτιμήσεις της οικογένειας αποτελούν προγνωστικό παράγοντα αυτού του διατροφικού προβλήματος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι οικογένειες με πιο περιορισμένες διατροφικές προτιμήσεις είχαν και παιδιά με αντίστοιχη συμπεριφορά.

Σε μια ακόμα μελέτη με ομάδα ελέγχου (Johnson et al. 2008), όπου έλαβαν μέρος 19 παιδιά με αυτισμό και 15 τυπικά αναπτυσσόμενα, 2-4 ετών, σημειώθηκε στατιστικά σημαντικά εντονότερη άρνηση κατανάλωσης ορισμένων ειδών, καθώς και τροφίμων συγκεκριμένης υφής ή χρώματος στα παιδιά με αυτισμό. Σε αντίστοιχα αποτελέσματα κατέληξαν και οι Bandini et al. 2010, που μελέτησαν παιδιά με μεγαλύτερο ηλικιακό εύρος (3-11 ετών). Μια επιπλέον πληροφορία αναφορικά με την άρνηση κατανάλωσης ορισμένων τροφίμων προκύπτει από τη μελέτη των Field et al. (2003), σύμφωνα με την οποία στο 12% των παιδιών που εμφάνιζαν αυτό το χαρακτηριστικό, συνυπήρχε και γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση, αποτέλεσμα το οποίο προκύπτει και από ομάδες παιδιών με άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές που μελετήθηκαν στην ίδια έρευνα.

Σε παρεμφερή συμπεράσματα οδηγούνται και οι Martin et al. 2008 σχετικά με την άρνηση κατανάλωσης τροφίμων και τις νεοφοβικές συμπεριφορές, οι οποίοι στην ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών συμπεριέλαβαν παιδιά αντίστοιχης λειτουργικής ικανότητας, και όχι μόνο ηλικίας. Επιπλέον, στη μελέτη αυτή έλαβε χώρα σύγκριση μεταξύ 41 παιδιών με ASD και ισάριθμων τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, ενώ για τα 14 από τα 41 που υπήρχαν δεδομένα για τα αδέρφια των παιδιών με ASD ακολούθησαν περαιτέρω συγκρίσεις. Παρόλο, λοιπόν, που το 67% ASD παιδιών αντιμετώπιζε διατροφικά προβλήματα, συγκριτικά με το 33% των τυπικά αναπτυσσόμενων ($p < 0,01$) κατά τη χρονική περίοδο διεξαγωγής της έρευνας, η διαφορά μεταξύ των δύο υποομάδων μειώθηκε (56% και 42%, $p < 0,05$) όταν η ερώτηση αφορούσε την εμφάνιση διατροφικών προβλημάτων καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής. Η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική μεταξύ των παιδιών της ίδιας οικογένειας. Ένα ακόμα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό αυτού του ερευνητικού πρωτοκόλλου, είναι η διερεύνηση των συσχετίσεων μεταξύ διατροφικών προβλημάτων και βαρύτητας της συμπτωματολογίας των ASD, όπου και αναδείχθηκε ότι, οι δυσλειτουργίες στην ικανότητα

προσαρμογής σε αλλαγές στα παιδιά αυτά συσχετίζεται με την αποφυγή κατανάλωσης ορισμένων τροφίμων, την τελετουργική φύση που επιζητούν σε θέματα σίτισης και την επιλεκτική κατανάλωση τροφίμων. Επιπροσθέτως, οι ιδιαιτερότητες στην αισθητηριακή επεξεργασία συσχετίστηκαν, όχι μόνο με την τελετουργική φύση, αλλά και με την συναισθηματική απόκριση και τις συμπεριφοριστικές πρακτικές ελέγχου στα θέματα διατροφής που ακολουθούν οι γονείς προς τα παιδιά τους.

Οι Ahearn et al. 2001 προσπάθησαν να αποφύγουν το σφάλμα της υποκειμενικής έκφρασης των γονέων και γι' αυτό βασίστηκαν σε μία μέθοδο άμεσης και αντικειμενικής αξιολόγησης των διατροφικών συμπεριφορών και επιλογών των παιδιών (Munk & Repp 1994), όπου ουσιαστικά καταγράφηκε η αποδοχή ή η απόρριψη τροφίμων διαφόρων ειδών και υφής. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων υποδεικνύει ότι περισσότερο από το 50% των παιδιών παρουσίασε χαμηλή αποδοχή των τροφίμων που εκτέθηκαν, ενώ υποδηλώνεται και η επιλεκτικότητα ως προς το είδος και την υφή των τροφίμων. Δυστυχώς, ούτε αυτή η μελέτη συμπεριέλαβε κάποια ομάδα ελέγχου.

Συνοψίζοντας, μολονότι η επιλεκτικότητα των τροφίμων δεν αποτελεί σπάνιο διατροφικό πρόβλημα ανάμεσα στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, σε αυτά με ASD ενδέχεται να είναι ακόμα πιο περιοριστικό ή και να διαρκεί πέρα της πρώτης παιδικής ηλικίας (Tomcheck & Dunn 2007).

Πέρα από το φάσμα της επιλεκτικότητας τώρα, από ορισμένους ερευνητές έχει αναφερθεί επίσης, για τα παιδιά αυτά, η βρώση συστατικών που δεν ανήκουν στην κατηγορία των τροφίμων («Pica»). Ειδικότερα στη μελέτη των Raiten & Massaro (1986) το ποσοστό των παιδιών με αυτή τη συμπεριφορά έφτανε το 33% συγκριτικά με το 3% της ομάδας ελέγχου, ενώ στη μελέτη των Emond et al. (2010), 12,5% και 0,7%, αντίστοιχα.

Άλλα διατροφικά προβλήματα, όπως η άρνηση των παιδιών να σιτιστούν μόνα τους και η υπερβολική κατανάλωση υγρών, καταστάσεις οι οποίες ενδεχομένως να σχετίζονται με μειωμένη ικανότητα αυτορύθμισης, μολονότι δεν έχουν διερευνηθεί συστηματικά, εντούτοις, αναγνωρίζονται από ορισμένα πρωτόκολλα διαγνωστικών συνεντεύξεων όπως αυτό των Κοινωνικών και Επικοινωνιακών Διαταραχών (Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders) (Wing et al. 2002).

Τέλος, η επιτυχής θεραπεία των διατροφικών προβλημάτων απαιτεί την αναγνώριση και τη διαχείριση οποιουδήποτε παθολογικού προβλήματος λαμβάνει χώρα και ενδεχομένως να δυσχεραίνει τη διαδικασία της θρέψης.

1.2.3. Διατροφική Συμπεριφορά παιδιών ASD

Μέχρι σήμερα, από όσα γνωρίζουμε, δεν έχει πραγματοποιηθεί κάποια συστηματική αξιολόγηση των χαρακτηριστικών που συνοδεύουν την κατανάλωση των γευμάτων (π.χ. τύπος, κοινωνική συναναστροφή, παράλληλες δραστηριότητες) και ενδεχομένως να επηρεάζουν ή να αποτελούν απόρροια της διατροφικής συμπεριφοράς ή/ και των συμπτωμάτων της νόσου στα παιδιά με ASD. Έτσι, έγινε προσπάθεια να συγκεντρωθούν κάποια σποραδικά δεδομένα αναφορικά με αυτούς τους παράγοντες, που αξιολογήθηκαν μεταξύ άλλων από άλλους ερευνητές.

- Τόπος/ παράλληλες δραστηριότητες/ κοινωνική συναναστροφή/ ανησυχία

Συγκεκριμένα, οι Provost et al. (2010) προσπάθησαν, βάσει κατάλληλου ερωτηματολογίου, να διερευνήσουν τις διαφορές στη δυσκολία που εκφράζουν τα παιδιά με ASD και τα τυπικά αναπτυσσόμενα, ανάλογα με τον τόπο κατανάλωσης των γευμάτων. Βρέθηκε, λοιπόν, ότι στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ποσοστό παιδιών με ASD αντιμετώπιζε δυσκολίες στο να καταναλώνει κάποιο γεύμα στο σχολείο ή σε κάποιο εστιατόριο. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δίνονται στον Πίνακα 1.3. που ακολουθεί.

Πίνακας 1.3. Τροποποίηση από Provost et al. 2010

	Μόνο ASD	Μόνο Τ.Α.	p-value
Τρώει μόνο σε συγκεκριμένα μέρη	5 (21%)	1 (4%)	0.22
Τρώει με δυσκολία στο σπίτι	3 (12%)	3 (12%)	-
Τρώει με δυσκολία στο σχολείο	6 (25%)	0 (0%)	0.008 **
Τρώει με δυσκολία σε Fast-food	4 (17%)	3 (12%)	1.00
Τρώει με δυσκολία σε τυπικά εστιατόρια	11 (46%)	0 (0%)	0.001**
Τρώει με δυσκολία στα picnic	7 (29%)	2 (8%)	0.18
Τρώει με δυσκολία σε σπίτια συγγενών	6 (25%)	2 (8%)	0.29
Τρώει με δυσκολία σε σπίτια φίλων	8 (33%)	3 (12%)	0.23

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα αποτελέσματα της μελέτης των Nadon et al. (2010), οι οποίοι συνέκριναν παιδιά με ASD με τα τυπικά αναπτυσσόμενα αδέρφια τους. Έτσι, παρατήρησαν ότι οι διατροφικές προτιμήσεις των παιδιών με ASD επηρεάζονταν από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. σχολείο, σπίτι, κά), αλλά όχι από το άτομο που ήταν παρόν κατά τη διάρκεια του γεύματος, σε μεγαλύτερο βαθμό από τα αδέρφια τους. Συγκεκριμένα το

37,5% των παιδιών με ASD σε αντίθεση με το 8,3% των αδερφών τους, δεν έτρωγαν στο σχολείο ή το εστιατόριο, με πολλά μέλη της οικογένειας ή με φίλους. Επιπλέον, ο Cornish (1998) παρατήρησε ότι τα 15 από τα 17 παιδιά με ASD που συμπεριέλαβε στη μελέτη του, κατανάλωναν το σύνολο των γευμάτων τους στο ίδιο μέρος όταν βρίσκονταν στο σπίτι.

Αναφορικά με την εκδηλούμενη ανησυχία κατά τη διάρκεια του γεύματος, επιπρόσθετα δεδομένα από τη μελέτη των Provost et al. 2010, υποστηρίζουν ότι περισσότερα παιδιά ($p < 0.05$) με ASD συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα αρνούνται να καθίσουν στο τραπέζι, ενώ διαφαίνεται και η τάση για μεγαλύτερο ποσοστό αυτών των παιδιών να σηκώνεται συχνά από το τραπέζι (Πίνακας 1.4.).

Πίνακας 1.4 . Τροποποίηση από Provost et al. 2010

	Μόνο ASD	Μόνο Τ.Α.	p-value
Σηκώνεται συχνά από το τραπέζι	9 (38%)	2 (8%)	0.07
Καθιστός και ανήσυχος	7 (29%)	6 (25%)	1.00
Αρνείται να καθίσει στο τραπέζι	9 (38%)	1 (4%)	0.02*
Φοβάται να καθίσει στο τραπέζι	1 (4%)	0 (0%)	-

Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν και από την παλαιότερη μελέτη (Cornish 1998), όπου και παρατηρήθηκε πως πολλές φορές τα παιδιά με ASD διέκοπταν το γεύμα τους, σηκώνόντουσαν και έπειτα επέστρεφαν και στο τραπέζι για να συνεχίσουν το γεύμα τους, ενώ από την μελέτη των Johnson et al. 2008 στην ερώτηση, εάν τα παιδιά σηκώνονταν από το τραπέζι, παρόλο που η διαφορά μεταξύ παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων δεν ήταν στατιστικά σημαντική, η τάση είναι σαφής και σύμφωνη με την προαναφερθείσα έρευνα. Από περαιτέρω συγκρίσεις μεταξύ παιδιών με ASD και των τυπικά αναπτυσσόμενων αδερφών τους, η εικόνα είναι παρόμοια. Στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό της πρώτης υποομάδας δεν κάθεται κατά τη διάρκεια του γεύματος. Τέλος, οι Kerwin et al. 2005, αναφέρουν πως από το σύνολο των 89 παιδιών με ASD που έλαβαν μέρος στην έρευνα, για το 88,8% οι γονείς δήλωσαν πως το παιδί είναι καθιστό με την οικογένειά του και το 19,1% αυτών, γίνεται επιθετικό κατά τη διάρκεια των γευμάτων.

- Είδη γευμάτων

Προκειμένου να διερευνηθούν οι διατροφικές επιλογές και προτιμήσεις των παιδιών με ASD και να συγκριθούν με τις αντίστοιχες της ομάδας ελέγχου, έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς, διάφοροι τρόποι διαχωρισμού των γευμάτων ή/ και των τροφίμων. Ειδικότερα, στη μελέτη του Cornish 1998, διερευνήθηκε το ποσοστό συμμετοχής ορισμένων ομάδων τροφίμων στην ενεργειακή πρόσληψη, όπως φαίνεται και από τον **Πίνακα 1.5**. και δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των δύο υποομάδων. Να τονίσουμε, όμως, ότι τα δεδομένα για τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά στην περίπτωση αυτή προέρχονται από τη βάση δεδομένων National Diet & Nutritional Survey και αφορά παιδιά μικρότερης ηλικίας.

Πίνακας 1.5 . Ποσοστό συμμετοχής των ομάδων τροφίμων στην ενεργειακή πρόσληψη (Τροποποίηση από Cornish 1998)

	Τυπικά αναπτυσσόμενα (1-4 ετών)	Παιδιά με αυτισμό (3-9 ετών)
Δημητριακά και προϊόντα αυτών	30	22
Γαλακτοκομικά προϊόντα	20	28
Αυγά και προϊόντα αυτών	1	0,6
Προϊόντα επάλειψης λίπους	3	3,4
Κρέας και προϊόντα αυτού	10	9,0
Ψάρια και προϊόντα αυτών	2	1,5
Πατάτες και προϊόντα αυτών	12	14,5
Φρούτα και ξηροί καρποί	3	1,4
Ζάχαρη και συντηρητικά	8	11,4
Ροφήματα	8	2,4

Επιπροσθέτως, από την ανάλυση του 7-ήμερου ημερολογίου που συμπλήρωσαν οι γονείς 46 αυτιστικών και 40 τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών στη μελέτη των Raiten & Massaro (1986), για τις επιλεγμένες ομάδες τροφίμων των δημητριακών, γαλακτοκομικών, γλυκών, φρούτων και λαχανικών δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ειδικότερα τώρα για την πρόσληψη φρούτων και λαχανικών τα αποτελέσματα δεν είναι όλα σύμφωνα. Από ορισμένους ερευνητές φαίνεται χαμηλότερη πρόσληψη λαχανικών στα παιδιά με αυτισμό (Johnson et al. 2008), ενώ από άλλους (Martins et al. 2008) αναφέρεται ότι παρόλο που τα λαχανικά ακολουθούμενα από τα φρούτα, αποτελούν τα πιο συχνά τρόφιμα προς αποφυγή των παιδιών με ASD, εξίσου έντονη είναι αυτή η επιλογή και από τα τυπικά

αναπτυσσόμενα. Η εικόνα αυτή, πάντως, ενδέχεται να μην είναι αντιφατική, αλλά να αντανακλά διαφορές στην ηλικία των παιδιών, τη βαρύτητα της νόσου, καθώς και σε πληθώρα άλλων παραγόντων.

Σε αυτό το σημείο να αναφερθεί και η περαιτέρω διερεύνηση της ποικιλίας στην κατανάλωση ορισμένων τροφίμων, καθώς η συμπεριφορά αυτή πιθανώς να επηρεάζει και τον τύπο των γευμάτων που καταναλώνονται από τα παιδιά με ASD. Από τη μελέτη (Schreck et al. 2004), παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για όλες τις ομάδες τροφίμων που μελετήθηκαν (Πίνακας 1.6.), με τα παιδιά με ASD να καταναλώνουν λιγότερα τρόφιμα ανά ομάδα τροφίμων.

Πίνακας 1.6. Αριθμός τροφίμων ανά ομάδα τροφίμων (Τροποποίηση από Schreck et al. 2004)

Ομάδα τροφίμων	Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση		p-value
	Παιδιά με ASD	Τυπικά αναπτυσσόμενα	
Φρούτα	8,09 ± 6,52	15,75 ± 7,62	0,001
Γαλακτοκομικά	4,32 ± 3,30	8,07 ± 3,48	0,001
Λαχανικά	4,00 ± 5,00	8,23 ± 6,06	0,001
Πρωτεϊνούχα	7,82 ± 5,98	14,24 ± 7,40	0,001
Αμυλούχα	15,82 ± 8,80	24,08 ± 11,38	0,001

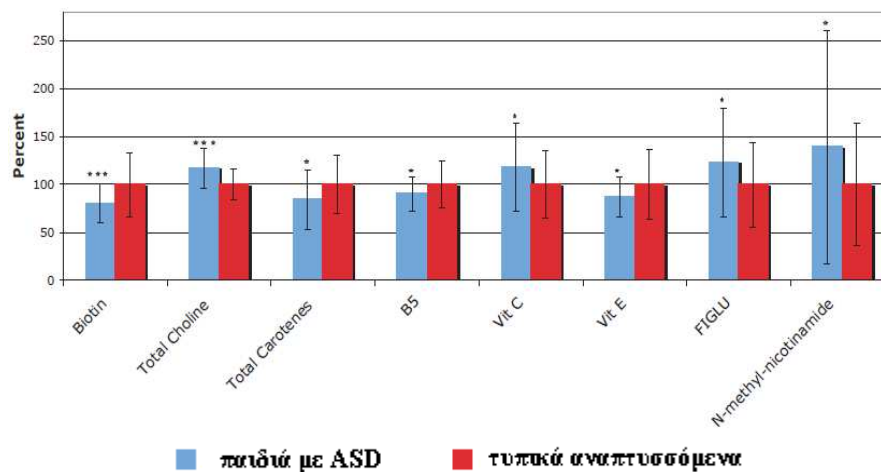
Επιπλέον, στην προοπτική μελέτη των Emond (2010), βρέθηκε ότι συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, τα παιδιά με ASD καταναλώναν λιγότερα λαχανικά, φρούτα, καθώς και λιγότερα γλυκά ανθρακούχα ποτά. Ειδικότερα για την ποικιλία στην δίαιτα αυτών των παιδιών και τις επιμέρους διαταραχές του φάσματος δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ παιδιών με ASD, AD και AS.

Συνολικά τώρα για την επάρκεια της διαιτητικής πρόσληψης σε ενέργεια και μακροθρεπτικά συστατικά δεν έχουν αναφερθεί, από όσα γνωρίζουμε, στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά (Lockner et al. 2008, Emond et al. 2010).

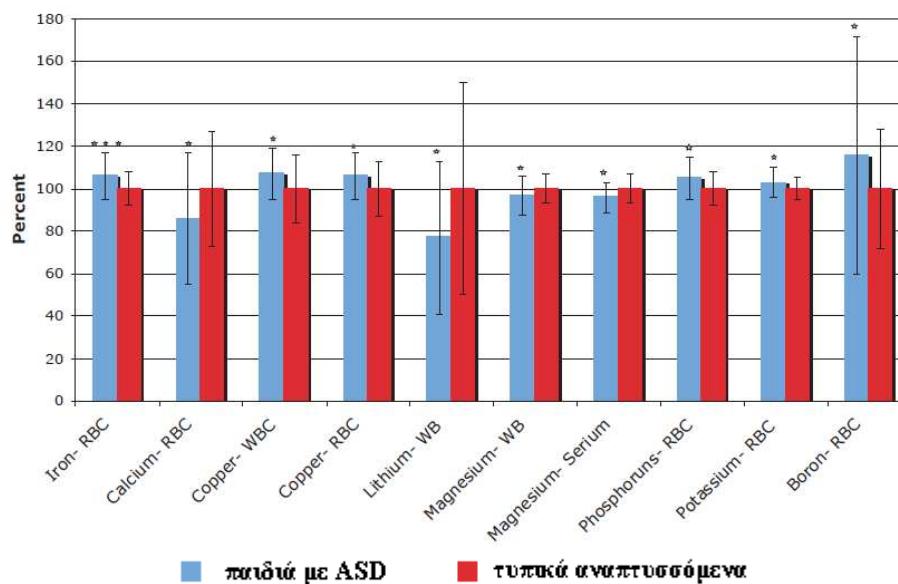
Τέλος, για τα μικροθρεπτικά συστατικά οι έρευνες είναι επίσης αποσπασματικές. Έτσι προκειμένου να δοθεί στο σημείο αυτό μια γενική εικόνα των διαφορών που ενδεχομένως να υπάρχουν στα παιδιά με ASD, επιλέχθηκε να παρουσιαστούν δύο σχήματα μιας πολύ πρόσφατα διεξαχθείσας μελέτης (Adams et al. 2011b), που αφορούν στα επίπεδα βιταμινών (Σχήμα 1.2.) και ιχνοστοιχείων στο αίμα (Σχήμα 1.3.). Πέρα από τις διαφορές αυτές, στην ανάλυση των αποτελεσμάτων με την εφαρμογή κατάλληλου παλινδρομιστικού μοντέλου

βρέθηκε ότι, ορισμένες βιταμίνες, ιχνοστοιχεία, αμινοξέα και σε μικρότερο βαθμό κάποιοι επιπλέον βιοχημικοί δείκτες, συσχετίζονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με τη βαρύτητα των διαταραχών.

Σχήμα 1.2. Επίπεδα βιταμινών στο αίμα (Adams et al. 2011)



Σχήμα 1.3. Επίπεδα βιταμινών στο αίμα (Adams et al. 2011)



Εν κατακλείδι, η προσοχή των ερευνητών ενίοτε ήταν επικεντρωμένη στην ανεπαρκή πρόσληψη μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών λόγω διαφόρων διατροφικών προβλημάτων και επικρατούσα υπόθεση είναι ότι, αυτού του είδους η ανεπάρκεια συνεισφέρει κατά κύριο λόγο στα προβλήματα υγείας (πχ. αναιμία λόγω μειωμένης πρόσληψης σιδήρου). Εντούτοις, η κατάσταση θρέψης ενός οργανισμού καθορίζεται όχι μόνο από την προσλαμβανόμενη τροφή, αλλά και από την πέψη, την απορρόφηση, τις μεταβολικές διεργασίες και τις μεταβολικές απαιτήσεις. Έτσι, όπως προτείνεται και από τους Adams et al. (2011b) η διατροφική ανεπάρκεια και ανωμαλίες στις μεταβολικές διεργασίες, ενδεχομένως να κατέχουν κάποιο ρόλο στις διαταραχές του φάσματος του αυτισμού.

1.2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τα διατροφικά προβλήματα ή/ και τη διατροφική συμπεριφορά παιδιών με ASD

Τα τελευταία χρόνια , τα διατροφικά προβλήματα κατά την παιδική ηλικία, έχουν αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες. Η έλλειψη δεξιοτήτων και κινήτρων, προβλήματα με την αισθητηριακή επεξεργασία των ερεθισμάτων, καθώς και η χρήση ακατάλληλων τεχνικών από τους γονείς είναι ορισμένοι από τους παράγοντες, οι οποίοι έχουν προταθεί ως αίτια των διατροφικών προβλημάτων στα παιδιά. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων πάντως, τόσο για την ανάπτυξη όσο και για την εγκαθίδρυση των προβλημάτων αυτών, τα αίτια φαίνεται να είναι πολυπαραγοντικά (Budd et al. 1992).

Ειδικότερα, μολονότι για την πλειονότητα των παιδιών με ευρέως φάσματος παθολογικές και αναπτυξιακές διαταραχές, τα διατροφικά προβλήματα είναι συχνά αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης βιολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Burklow et al. 1998), η ερευνητική δραστηριότητα, αναφορικά με τον προσδιορισμό και τη γνώση του πολύπλοκου, νευροβιολογικού προτύπου των ASD και τις επιδράσεις αυτού στη συμπεριφορά, είναι σε εμβρυικό στάδιο ακόμα (Just et al. 2004, Minshew et al. 2002). Έτσι, όπως χαρακτηριστικά αναφέρεται από τους Minshew et al. 2002, “η ανικανότητα των ατόμων με ASD να σκεφτούν και να φερθούν διαφορετικά σε ορισμένες καταστάσεις δεν είναι κάτι το οποίο θέλουν, αλλά το αποτέλεσμα διαφορών στη λειτουργία του εγκεφάλου τους”.

Κατόπιν, περιγράφονται κάποια επιμέρους συστατικά μέρη της συμπτωματολογίας των ASD, τα οποία είναι ικανοί παράγοντες στο να επηρεάσουν τη διατροφική συμπεριφορά. Παρόλο που οι συμπεριφοριστικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις διατροφικές συνήθειες των παιδιών αυτών, δεν αποτελούν τα μοναδικά αίτια διατροφικών προβλημάτων. Επιπροσθέτως των συμπεριφοριστικών, δύο ακόμα μεγάλες κατηγορίες συμπτωμάτων είναι ικανές να επηρεάσουν άμεσα ή έμμεσα τις διατροφικές ικανότητες και συμπεριφορά: αυτοί που σχετίζονται με την αισθητηριακή επεξεργασία ερεθισμάτων, και οι γαστρεντερικοί. Σε αυτή την υποενότητα θα γίνει περιγραφή των συμπεριφοριστικών και αισθητηριακών παραγόντων. Η παράθεση των παρακάτω δεδομένων έχει βασιστεί ως επί το πλείστον στην ανασκόπηση των Twachtman-Reilly et al. 2008.

- Παράγοντες αισθητηριακής επεξεργασίας:

Η αισθητηριακή ρύθμιση επιτρέπει στον οργανισμό να επεξεργάζεται με τον κατάλληλο τρόπο, πλήθος αισθητηριακών πληροφοριών που ακατάπαυτα βομβαρδίζουν το νευρικό σύστημα. Αυτό συμβαίνει «προσπερνώντας» ή αντιδρώντας σε κάποιο ερέθισμα ανάλογα με το τι επιτάσσουν οι φυσιολογικές και περιβαλλοντικές συνθήκες τη δεδομένη στιγμή. Η δυσλειτουργία αυτών των ικανοτήτων μπορεί να εκφραστεί ως υπερ-απόκριση, υπο-απόκριση ή/ και μεταβαλλόμενη απόκριση (Lane et al. 2000), καταστάσεις οι οποίες αποτελούν μέρος της κλινικής εικόνας των ASD εδώ και δεκαετίες (Iarocci & McDonald 2006, Ornitz & Ritvo 1968/1985).

Από τη διερεύνηση συμπεριφοριστικών παραγόντων με τη χρήση κατάλληλων ερωτηματολογίων (Dunn 1999) έχουν αναγνωριστεί δυσλειτουργίες στην αισθητηριακή επεξεργασία που, είτε άμεσα, είτε έμμεσα επιδρούν στη διαδικασία της θρέψης, όπως για παράδειγμα, ανωμαλίες στην αίσθηση της γεύσης και όσφρησης, αυξημένη ευαισθησία στην αίσθηση της αφής και προβλήματα ακοής (Rogers et al. 2003). Σε μια άλλη μελέτη, αυτή των Kushner et al. (2005), μελετήθηκε η σχέση μεταξύ της αίσθησης της γεύσης και των διατροφικών επιλογών σε παιδιά με ASD, και τα παιδιά με ASD βρέθηκαν να έχουν πιο περιορισμένες διατροφικές προτιμήσεις συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα. Επιπλέον, η ίδια ερευνητική ομάδα κατέληξε ότι τα άτομα με ASD είχαν μικρότερη ικανότητα στο να αναγνωρίσουν ορισμένες γεύσεις με ακρίβεια, ενώ επιπλέον βρήκαν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της γευστικής αναγνώρισης και την αποδοχή υφής και γεύσης των τροφίμων.

Σύμφωνα, λοιπόν, με όσα προαναφέρθηκαν σχετικά με την αισθητηριακή επεξεργασία και αναλόγως με το πλήθος και το είδος των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, η επίδραση στη διαδικασία της θρέψης μπορεί να είναι διάχυτη. Να μεταφέρουμε, σε αυτό το σημείο, ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα από την ανασκόπηση των Twachtman-Reilly et al. 2008. Στο περιβάλλον ενός κυλικείου, λαμβάνουν χώρα πληθώρα εμπειριών που ερεθίζουν τις αισθήσεις και θα αναγνωρίζονταν από ένα τυπικά αναπτυσσόμενο παιδί: η μυρωδιά του φαγητού που μαγειρεύεται στην κουζίνα, η λάμπα φθορίου που τρεμοπαίζει, οι συνεχείς κινήσεις των άλλων μαθητών και οι αντηχήσεις των ομιλιών στο χώρο. Όμως, ένα παιδί με ASD, ενδεχομένως να αντιμετωπίζει δυσκολίες στο να επεξεργαστεί το σύνολο των ερεθισμάτων και να βιώне την εμπειρία αυτή ως «αισθητηριακή επίθεση» στο νευρικό του σύστημα.

Έτσι, η συμπεριφοριστική αντίδραση του παιδιού με ASD στις προαναφερθείσες συνθήκες, ενδεχομένως να είναι του τύπου: «fight= παλεύω» (πχ. να φωνάζει ή να γίνει επιθετικό),

«flight= πετάω» (πχ. να αποχωρήσει από αυτές τις συνθήκες) ή «fright= τρομάζω» (πχ. να κλειστεί στον εαυτό του και να μην τρώει ή να μη συναναστρέφεται με τους γύρω του).

Είναι φανερό ότι το ζήτημα αυτό είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο, και, επομένως, τα παιδιά με ASD ενδεχομένως να έχουν ποικίλες αντιδράσεις στα αισθητηριακά ερεθίσματα, οδηγώντας σε ταλαντευόμενες συμπεριφορές, δύσκολες να προβλεφθούν και εύκολα παρερμηνεύσιμες ως ηθελημένες. Ορισμένες από τις πιθανές συμπεριφοριστικές αντιδράσεις λόγω δυσλειτουργιών κάθε συστήματος αισθήσεων και η επίδραση που ενδεχομένως να έχουν στη διατροφική συμπεριφορά των παιδιών με ASD, δίδεται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 1.2**).

Πίνακας 1.7. Αισθητηριακά συστήματα και συμπεριφοριστικές αντιδράσεις
(Τροποποίηση από Twachtman-Reilly et al. 2008)

Σύστημα Αισθήσεων	Υπερ-απόκριση	Συμπτωματολογία	Υπό-απόκριση	Συμπτωματολογία
Ακοή	Υπερευαισθησία στους ήχους του περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια του γεύματος	άγχος, νευρικότητα, κλάμα, φωνές, αποσπασμένη προσοχή, κάλυψη αυτιών	Ανικανότητα εντοπισμού ήχων κατά τη διάρκεια του γεύματος	αφηρημένος, γεύματα με μεγάλη διάρκεια
Όραση	Υπερευαισθησία στην έκθεση σε φως και στις κινήσεις του περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια του γεύματος	Τοποθέτηση χεριού μπροστά από τα μάτια, στραβισμός, στραμμένο βλέμμα, άγχος, αποσπασμένη προσοχή με αποτέλεσμα μειωμένη πρόσληψη τροφής	Ανικανότητα εντοπισμού στοιχείων του περιβάλλοντος ή μεταβολές σε αυτό	Υπέρμετρη συγκέντρωση σε στοιχεία του φαγητού ή του πιάτου, απροθυμία για ολοκλήρωση του γεύματος
Γεύση	Υπερευαισθησία σε ποικίλες γεύσεις	Επιλεκτικότητα, προτίμηση σε ήπιες γεύσεις, άρνηση κατανάλωσης ορισμένων τροφίμων	Ανικανότητα στο διαχωρισμό γεύσεων	Αναζήτηση έντονων γεύσεων, «δοκιμή» μη βρώσιμων αντικειμένων
Όσφρηση	Υπερευαισθησία σε οσμές μη αντιληπτές από τους άλλους	Επιλεκτικότητα, άγχος, θλίψη, αποτραβηγμένος	Ανικανότητα εντοπισμού ακόμα και έντονων οσμών του περιβάλλοντος	Έλλειψη ενδιαφέροντος για τη λήψη φαγητού
Αφή	Υπερευαισθησία σε αγγίγματα στο δέρμα ή/και σε περιοχές κοντά στο στόμα	Προτίμηση σε ουδέτερες θερμοκρασίες, άρνηση κατανάλωσης ορισμένων τροφίμων, έντονη αισθαντικότητα μέσα και γύρω από το στόμα	Ανικανότητα διαχωρισμού διαφορετικών υφών των τροφίμων	Μειωμένη αισθαντικότητα μέσα και γύρω από το στόμα, «δοκιμή» μη βρώσιμων αντικειμένων, υπερβολική ποσότητα τροφής στο στόμα, αποθήκευση στο στόμα και όχι κατάποση της τροφής
Ισορροπία	Υπερευαισθησία σε κινήσεις ή αλλαγές στις κινήσεις του κεφαλιού	Διαταραγμένη αίσθηση προσανατολισμού για ορθή χρήση των κατάλληλων σκευών κατά τη διάρκεια του φαγητού, αίσθημα φόβου σε κάθισμα χωρίς την κατάλληλη στήριξη	Αναζήτηση έντονων κινήσεων	Λάθος στάση σώματος, έντονη σωματική δραστηριότητα, νευρικότητα
Ιδιοδεκτικότητα	Μειωμένη αντίληψη του σώματος και αδυναμία ελέγχου των διαβαθμίσεων της δύναμης	Σπαστικότητα κινήσεων, διαταραγμένη ικανότητα συντονισμού κινήσεων των χεριών και της γνάθου	Μειωμένη αντίληψη του σώματος και αδυναμία ελέγχου των διαβαθμίσεων της δύναμης	Σπαστικότητα κινήσεων, διαταραγμένη ικανότητα συντονισμού κινήσεων των χεριών και της γνάθου

- Συμπεριφοριστικοί παράγοντες:

Ακόμη και αν οι ιδιαιτερότητες στη συμπεριφορά των παιδιών με ASD, και κατ' επέκταση στις διατροφικές τους συνήθειες, δεν επηρεάζουν αρνητικά την υγεία τους, ενδέχεται παρόλα αυτά να ασκούν έντονη αρνητική επίδραση στη εμπειρία τους σε θέματα θρέψης, γεγονός το οποίο συχνά εκλαμβάνεται από τους άλλους ως επιθυμητή μη-συμμόρφωση (Twachtman-Reilly et al. 2008). Εντούτοις, οι αρνητικές συμπεριφορές που συχνά παρατηρούνται στα παιδιά με ASD, φαίνεται να είναι προέκταση των νευρολογικών συμπτωμάτων. Κατόπιν, ακολουθεί περιγραφή αυτών και σύνδεσή τους με διατροφικές συμπεριφορές που συχνά αναφέρονται να έχουν τα παιδιά αυτά.

➤ Ένα μεγάλο κεφάλαιο σε αυτή την υποενότητα, αποτελούν οι επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές. Οι περιοριστικού τύπου και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, αποτελούν ένα από τα τρία διακριτά χαρακτηριστικά των διαταραχών αυτού του φάσματος (American Psychiatric Association 2000). Σύμφωνα με το διαχωρισμό που επιχείρησε ο Turner (1999), υπάρχουν δύο τάξεις επαναλαμβανόμενων συμπεριφορών: α) αυτές που χαρακτηρίζονται από περιορισμένο ενδιαφέρον/ γνωσιακή ακαμψότητα και β) αυτές, στις οποίες κυριαρχούν οι στερεοτυπικές συμπεριφορές και οι επαναλαμβανόμενες κινήσεις. Οι εμμονές στα θέματα της διατροφής των παιδιών με ASD, δεν αφορούν μόνο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, αλλά συχνά επεκτείνονται σε διάφορες παραμέτρους του γεύματος, όπως εμμονή σε κάποιο συγκεκριμένο τρόπο παρασκευής των γευμάτων, είδος τροφίμων, και κανόνες κατά τη διάρκεια των γευμάτων (Raiten & Massaro 1986, Schreck & Williams 2006, Williams et al. 2000). Οι προαναφερθέντες εμμονές, αλλά και το μοντέλο της επιλεκτικότητας των τροφίμων που συζητιέται στη βιβλιογραφία πολλές φορές μπορούν να εξηγηθούν μέσω της πρώτης κατηγορίας κατά Turner (Ahearn et al. 2001, Raiten & Massaro, 1986, Schreck et al. 2004, Williams et al. 2005, Williams et al. 2000). Σύμφωνα με τους Twachtman-Reilly et al. (2008) το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η παρουσία εμμονών κατά τη διάρκεια των γευμάτων είναι πιθανότερο να σχετίζεται με τη συμπτωματολογία και τη νευρολογική βάση του αυτισμού, παρά με μη-συμμόρφωση στις κοινές προτιμήσεις ή αναπτυξιακούς παράγοντες.

Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό είναι οι διαταραγμένες επιτελεστικές λειτουργίες που εμφανίζουν τα παιδιά με ASD, ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι μόνο ένα μέρος του συνόλου των λειτουργιών αυτών φαίνεται να επηρεάζεται. Συγκεκριμένα, δύο επιμέρους κατηγορίες των επιτελεστικών λειτουργιών έχει δείχθει να σχετίζονται με τα διατροφικά προβλήματα, και επομένως με τη διατροφική συμπεριφορά αυτών των παιδιών: η ικανότητα προγραμματισμού και η νοητική ικανότητα (Hill 2004, Ozonoff & Jensen 1999). Η ικανότητα προγραμματισμού ορίζεται ως μια πολύπλοκη και δυναμική διεργασία κατά την οποία

επιτελείται και επαναξιολογείται μια ακολουθία προγραμματισμένων δράσεων (Hill 2004). Ειδικότερα τώρα για τη διατροφική συμπεριφορά (Twachtman-Reilly et al. 2008), τόσο η έννοια της ακολουθίας όσο και της επαναξιολόγησης έχουν εξέχουσα σημασία, δεδομένου ότι κατά τη διάρκεια του γεύματος λαμβάνει χώρα μια σειρά διαδικασιών (πχ. πλύσιμο χεριών, χρήση κατάλληλων σκευών, κατανάλωση διαφορετικών τροφίμων, συνδυασμός βρώσης και πόσης, κá). Δυσλειτουργίες, λοιπόν, αναφορικά με αυτές τις διαδικασίες οδηγούν στην ανικανότητα του ατόμου να προβλέψει την εξέλιξη των πράξεων του, κάτι το οποίο, όπως είναι αναμενόμενο, μπορεί να προκαλέσει άγχος ή/και επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές προκειμένου να αυξήσει τη δυνατότητα πρόβλεψης.

Επιπλέον, τα παιδιά με ASD ενδέχεται να μην μπορούν να συνδέσουν το εγγενές αίσθημα της πείνας με την κατανάλωση φαγητού (Wing 1972/1980), καθώς όπως φαίνεται και στη μελέτη των Kerwin et al. (2005) το 16,9% των γονέων δήλωσε ότι τα παιδιά τους ήταν πεινασμένα. Πέρα από τις διαταραγμένες φυσιολογικές διεργασίες, και η λήψη ψυχοτροπικής φαρμακευτικής αγωγής ενδέχεται να επηρεάζει το αίσθημα της όρεξης (Volkmar & Wiesner 2004). Έτσι, στην περίπτωση που η ρύθμιση της όρεξης είναι διαταραγμένη, θα βρεθούν άλλα ερεθίσματα που θα καθορίσουν την πρόσληψη τροφής, όπως η εικόνα του πιάτου με το υπόλοιπο φαγητό, ο χρόνος που έχει αφιερωθεί για το γεύμα κá.

Τα άτομα με ASD φαίνεται να παρουσιάζουν και αυξημένη επίπτωση νοητικών προβλημάτων (Lopez et al. 2005, Ozonoff & Jensen 1999). Τα προβλήματα τέτοιας φύσεως σχετίζονται, εμφανώς, με τις επαναλαμβανόμενες και στερεοτυπικές συμπεριφορές και οι επιπτώσεις τους στη διατροφική συμπεριφορά είναι ίδια με αυτή που αναφέρθηκε παραπάνω (Field et al. 2003, Williams et al., 2005, Williams et al. 2000, Raiten & Massaro 1986, Schreck et al. 2004).

➤ Ένας επιπλέον συμπεριφοριστικός παράγοντας είναι το αίσθημα άγχους και φόβου, που συχνά παρατηρούνται στην κλινική πράξη (Twachtman-Reilly et al. 2008). Παρατηρείται κυρίως σε παιδιά με πληθώρα παθολογικών προβλημάτων και δυσκολίες στη σίτιση, ενώ τα αισθήματα αυτά εξακολουθούν να υπάρχουν ακόμα και μετά την επίλυση των προβλημάτων, κατάσταση που συχνά περιγράφεται ως συνεχής αντίσταση στην ένταξη νέων τροφίμων ή στη σίτιση από το στόμα (Swigert 1998). Ο φόβος, στις περιπτώσεις αυτές, οφείλεται στο κίνδυνο για πνιγμό, πόνο ή/και άλλες δυσάρεστες καταστάσεις. Οι αντιδράσεις που καθορίζονται από φόβο, στα παιδιά με ASD ερμηνεύεται πολύ δύσκολα, καθώς ο φόβος μπορεί να εκφραστεί πολύ έντονα παρόλο που φαινομενικά δεν υπάρχει κάποιος κίνδυνος. Οι γονείς, ενώ μερικές φορές είναι σε θέση να εντοπίσουν τη στιγμή που δημιουργείται αυτός ο φόβος, συνήθως δυσκολεύονται να προσδιορίσουν το αίτιο (Twachtman-Reilly et al. 2008). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα της μελέτης των Evans et al. (2005), οι οποίοι

βρήκαν ότι οι συμμετέχοντες με ASD εκδήλωναν λιγότερες φοβίες για τυχόν τραυματισμό ή κάποια σωματική βλάβη, αλλά περισσότερες καταστάσεις ήταν πιθανό να τους προκαλέσουν φόβο όπως πχ. τα μικρά δωμάτια και τα πολυπληθή εμπορικά κέντρα ή /και κάποιες καταστάσεις που αφορούν στην υγεία (πχ. επίσκεψη στον οδοντίατρο). Στην ίδια ερευνητική εργασία βρέθηκε, επίσης, ότι για τα παιδιά αυτά οι φοβίες και το άγχος τους συσχετιζόταν περισσότερο με προβλήματα συμπεριφοράς συγκριτικά με τις άλλες ομάδες. Το εύρημα αυτό, έχει σημαντικές προεκτάσεις στη διαδικασία της θρέψης, γιατί τα άτομα με ASD που αναπτύσσουν φοβίες για ορισμένα τρόφιμα ή χαρακτηριστικά γεύματος ενδεχομένως να αντιδρούν πολύ πιο έντονα από ότι αναμένεται.

➤ Τέλος, οι κοινωνικές και επικοινωνιακές ικανότητες φαίνεται να επηρεάζουν και αυτές με τη σειρά τους τις διατροφικές ικανότητες των παιδιών με ASD. Δεδομένου ότι η κατανάλωση τροφής εκτός από μια βιολογική ανάγκη είναι και μια κοινωνική διεργασία, τα παιδιά αυτά υστερούν στο κομμάτι αυτό, αφού πολλές φορές δεν είναι σε θέση να αντιληφθούν τους άτυπος κοινωνικούς κανόνες που διέπουν την διαδικασία κατανάλωσης γεύματος. Έτσι, παρατηρούνται «κοινωνικά μη ανεκτές» συμπεριφορές και συχνά τη δυσaráσκεια του κοινωνικού περιβάλλοντος. Το γεγονός αυτό, όμως, ενδεχομένως να δημιουργεί ένα αγχώδες περιβάλλον για τα παιδιά με ASD, κατάσταση η οποία με τη σειρά της είναι ικανή να μειώσει την πρόσληψη τροφής και να αυξήσει την άρνηση για κάποια τρόφιμα (Twachtman-Reilly et al. 2008). Στη μελέτη των Williams et al. (2000), όπου μελετήθηκε η επίδραση του κοινωνικού περιβάλλοντος, αναφέρεται ότι το ένα τρίτο των συμμετεχόντων εμφάνισε διαφορετικές διατροφικές συνήθειες ανάλογα με τα άτομα και τις συνθήκες υπό τις οποίες καταναλωνόταν κάποιο γεύμα. Είναι σαφές λοιπόν, ότι η επίδραση των κοινωνικών ικανοτήτων είναι ένας ακόμα κρίσιμος, για τη διατροφική συμπεριφορά των παιδιών αυτών παράγοντας.

**1.3 Εντερική Μικροχλωρίδα Παιδιών με Διαταραχές
του Φάσματος του Αυτισμού**

1.3.1. Η ανθρώπινη εντερική μικροχλωρίδα

- Γενικές πληροφορίες

Ο ανθρώπινος γαστρεντερικός σωλήνας αποικείται από 10^{14} μικροβιακά κύτταρα με περισσότερα από 50 διαφορετικά γένη και 1.000 είδη βακτηρίων, κυρίως στο τμήμα του παχέος εντέρου (Moore & Holdeman 1972), ενώ η πολυπλοκότητα και ο βαθμός της ποικιλομορφίας απασχολούν ακόμα την επιστημονική κοινότητα (Mai 2004).

Το σύνολο της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως εύστοχα χαρακτηρίζεται από τον Mai, είναι μια πολύπλοκη συμβιωτική κοινοπραξία, η οποία αποτελείται ως επί το πλείστον από βακτήρια, αλλά επίσης περιλαμβάνει και ορισμένους μύκητες και πρωτόζωα με ιδιαίτερο ρόλο στη διατήρηση της υγείας (Mai 2004).

Κατά την ενδομήτριο ζωή και μέχρι τη στιγμή της γέννησης ο εντερικός σωλήνας, μέχρι πολύ πρόσφατα τουλάχιστον, θεωρείτο ένα στείρο περιβάλλον. Με την ολοκλήρωση του τοκετού αρχίζει ο αποικισμός των βακτηρίων (Comstock 2007). Αρχικά εγκαθίστανται τα προαιρετικά αναερόβια βακτήρια, όπως αυτό της *Escherichia coli* και το γένος των *Streptococcus*. Σκοπός αυτής της κατηγορίας των βακτηρίων είναι να μεταβολίσουν οποιοδήποτε ίχνος οξυγόνου στην περιοχή και με αυτό τον τρόπο να δημιουργήσουν ένα ισχυρά αναερόβιο περιβάλλον (Stark & Lee 1982). Ιδιαίτερο ρόλο στον αρχικό αυτό αποικισμό φαίνεται να έχει και ο τρόπος γέννησης, δηλαδή φυσιολογικός τοκετός ή καισαρική τομή (Neut 1987).

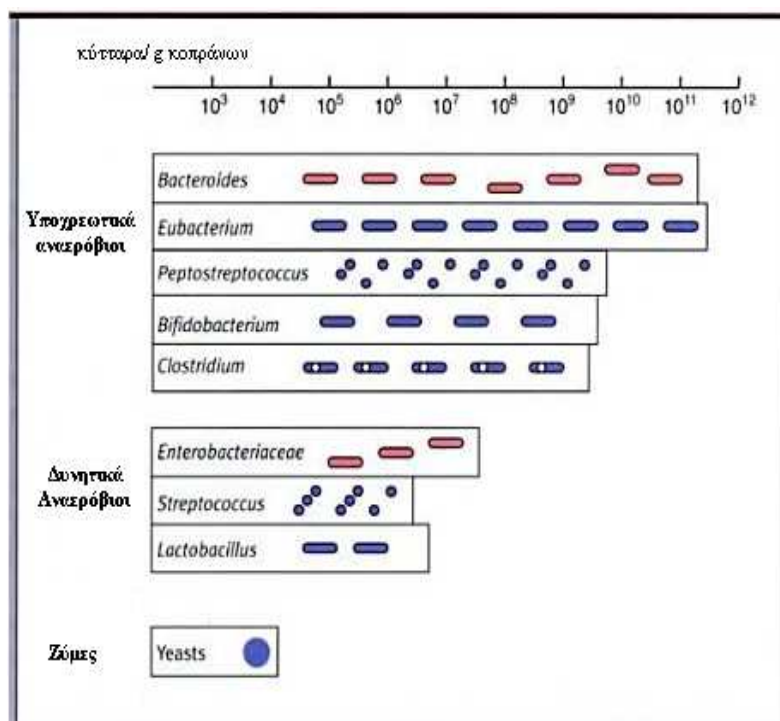
Η σύσταση της μικροχλωρίδας μετέπειτα καθορίζεται κατά κύριο λόγο από το διατροφικό πρότυπο του βρέφους. Έτσι, το ανθρώπινο γάλα που παρέχεται στο βρέφος, εκτός από την υψηλή του θρεπτική αξία, αποτελεί και πηγή προβιοτικών για τον εμβρυικό εντερικό σωλήνα (Mountzouris et al. 2002). Πληθώρα παραγόντων, όπως η μικροβιακή χλωρίδα των γεννητικών οργάνων στις γυναίκες, οι κανόνες υγιεινής, οι τεχνικές που θα χρησιμοποιηθούν κατά τον τοκετό, το είδος του τοκετού (φυσιολογικός ή καισαρική) αλλά και το είδος της διαίτας, ασκούν άμεση επίδραση στη συγκέντρωση, αλλά και τη συχνότητα που διάφορα είδη αποικούν τελικά τον εντερικό σωλήνα των νεογνών (Heavey & Rowland 1999).

Η διαμόρφωση και απόκτηση της τελικής εικόνας της πολύπλοκης μικροβιακής χλωρίδας, που θα ομοιάζει με αυτή της ενήλικης ζωής, συμβαίνει κατά τα τρία πρώτα χρόνια ζωής (Koenig et al. 2011) και η πλειονότητα των βακτηρίων που εντοπίζονται στο γαστρεντερικό σωλήνα των ενηλίκων είναι αναερόβια. Συγκεκριμένα, περισσότερο από το 97% των μικροοργανισμών που εντοπίζονται στα κόπρανα των θηλαστικών είναι υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια (Moore & Holdeman 1972) και τα κυρίαρχα είδη που παρατηρούνται ανήκουν στα γένη των

Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Clostridium, Lactobacillus, Fusobacterium, καθώς και κάποιοι gram θετικοί κόκκοι, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται τα είδη των Enterococcus, Enterobacteriaceae κ.ά (Wallace et al. 2011).

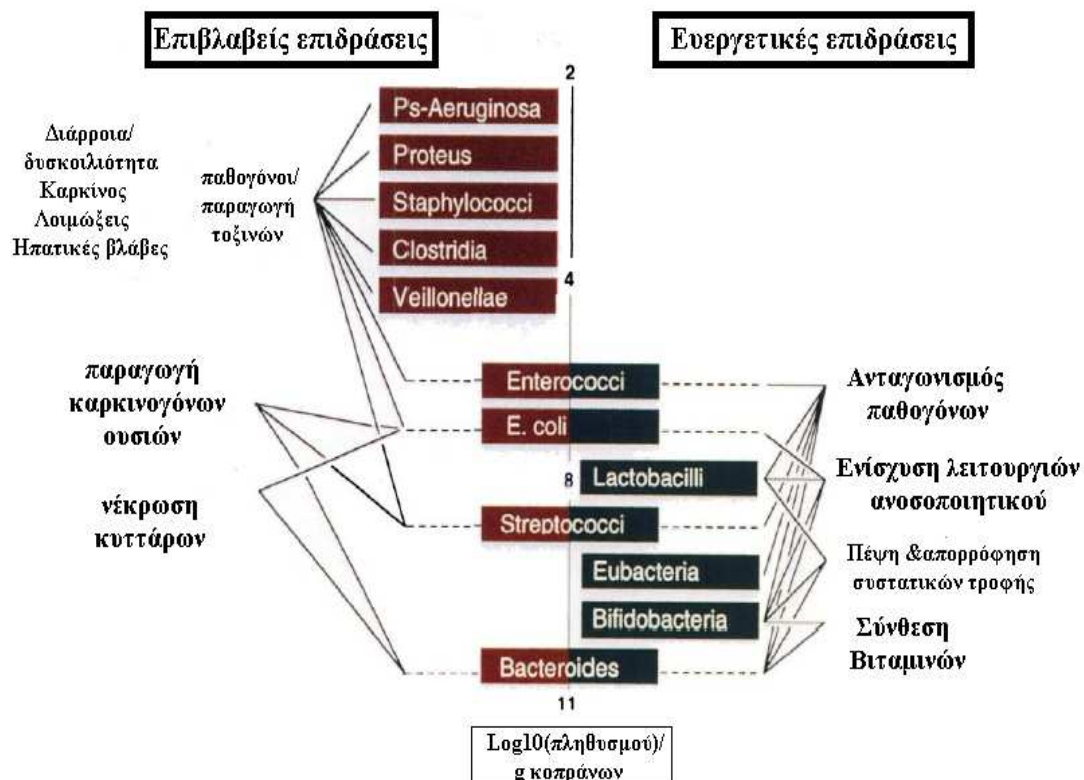
Όπως αναφέρεται και στο βιβλίο των Rambaud et al. 2006 το σύνολο των μικροοργανισμών που αποικούν τον εντερικό σωλήνα, όπως προκύπτει από καλλιεργητικές μεθόδους δείγματος κοπράνων, συνεισφέρει κατά 40% στο συνολικό βάρος των κοπράνων, και η σύσταση αυτών δίδεται στο **Σχήμα 1.2**. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι ικανοί να μεταβολίσουν το διαθέσιμο υπόστρωμα, το οποίο προκύπτει είτε από τη διαίτα, είτε από ενδογενείς εκκρίσεις. Το υπόστρωμα αυτό είναι κυρίως αμυλούχες ενώσεις, υδατοδιαλυτές φυτικές ίνες και σε μικρότερη ποσότητα ολιγοσακχαρίτες και απλά σάκχαρα, πρωτεΐνες και αμινοξέα, καθώς επίσης και προϊόντα του μεταβολισμού των βακτηρίων, επιθηλιακά κύτταρα και βλέννη (Cumings & Macfarlane 1991). Με τη χρήση, λοιπόν, των κατάλληλων βακτηριακών ενζύμων μεταβολίζεται το υπόστρωμα μέσω μιας σειράς εξώθερμων αντιδράσεων υπό αναερόβιες συνθήκες (Wallace et al. 2011).

Σχήμα 1.2 . Μικροβιακή σύσταση κοπράνων (από καλλιεργητικές μεθόδους)
(Τροποποίηση από Rambaud et al. 2006)



Αναλόγως τώρα τη μεταβολική τους δραστηριότητα και τα τελικά προϊόντα, οι μικροοργανισμοί της εντερικής μικροχλωρίδας κατατάσσονται σε ευεργετικούς ή δυνητικά παθογόνους. Ορισμένες από τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις περιλαμβάνουν την ενίσχυση του ανοσοποιητικού, τη βελτιωμένη πέψη και απορρόφηση, τη σύνθεση βιταμινών, τον ανταγωνισμό στην ανάπτυξη δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών και τη μείωση της χοληστερόλης. Αντιθέτως, στις βλαβερές επιδράσεις συμπεριλαμβάνεται η παραγωγή καρκινογόνων ουσιών, νέκρωση περιοχών του εντέρου, παραγωγή τοξινών, διάρροια/ δυσκοιλιότητα και λοιμώξεις του γαστρεντερικού συστήματος. Οι ιδιότητες αυτές των βακτηρίων δίνονται και σχηματικά (Σχήμα 1.3.) από τους Gibson & Roberfroid 1995. Εντούτοις, θα πρέπει σε αυτό το σημείο να αναφερθεί, ότι η κατάταξη κάποιου μικροοργανισμού ως ευεργετικός ή επιβλαβής, παραμένει υπό διερεύνηση, καθώς ο προσδιορισμός γίνεται με βάση τη μελέτη ορισμένων επιδράσεων, και όχι τη συνολική κατάσταση της υγείας.

Σχήμα 1.3. Επιβλαβείς και ευεργετικές επιδράσεις αναερόβιων βακτηρίων.
(τροποποίηση από Gibson & Roberfroid 1995)



- Παράγοντες ικανοί να επηρεάσουν την εντερική μικροχλωρίδα

Τέλος, ακολουθεί μια σύντομη αναφορά στους διαιτητικούς και μη παράγοντες που είναι ικανοί να επηρεάσουν την εντερική μικροχλωρίδα, όπως φαίνεται και από την ανασκόπηση του Mai 2004.

Ένας από τους μη-διαιτητικούς παράγοντες είναι ο γεωγραφικός τόπος, και οι διαφορές που παρατηρούνται ενδεχομένως να οφείλονται στη σύσταση του πόσιμου νερού και των τροφίμων, στους διαφορετικούς κανόνες υγιεινής που επικρατούν στην κάθε κουλτούρα, αλλά και στο κλίμα (De Filippo et al. 2010). Επιπροσθέτως αυτού του περιβαλλοντικού παράγοντα, πιθανό ρόλο να έχουν και ορισμένοι γενετικοί παράγοντες του ξενιστή, ικανοί να επηρεάσουν την έκκριση ουσιών και τη διαμόρφωση των συνθηκών στο εντερικό περιβάλλον. Επιπλέον, ο έλεγχος που πραγματοποιείται από το ανοσοποιητικό σύστημα φαίνεται να ενισχύει την ανάπτυξη ορισμένων ειδών βακτηρίων (Ivanov & Littman 2011).

Ακόμα ένας μη- διαιτητικός παράγοντας που έχει απασχολήσει ιδιαίτερος τους επιστήμονες υγείας, είναι η λήψη αντιβιοτικών. Η αγωγή αυτή αφού επιτίθεται στο συγκεκριμένο στόχο- μικροοργανισμό, λόγος για τον οποίο άλλωστε και προτείνεται η χορήγηση του, διαταράσσει τελικά και την ισορροπία της υπάρχουσας μικροχλωρίδας. Χαρακτηριστικά αναφέρεται από τους Adams et al. (2011a) ότι τα αντιβιοτικά ευρέος φάσματος μπορούν να εξαλείψουν τη φυσιολογική μικροχλωρίδα, η οποία κατέχει σημαντικό ρόλο σε σημαντικές λειτουργίες, όπως η διάσπαση των πολυσακχαριτών των φυτικών τροφών, η κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα, η διατήρηση της ισορροπίας του ύδατος, η παραγωγή βιταμινών και ο ανταγωνισμός στα παθογόνα βακτήρια. Η διατάραξη αυτής της ισορροπίας, ενδέχεται να προκαλεί υπερανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών, γεγονός το οποίο με τη σειρά του μπορεί να προκαλέσει δυσκοιλιότητα και άλλα γαστρεντερικά προβλήματα. Επιπλέον, η επαναφορά της αρχικής μικροχλωρίδας μετά το πέρας της θεραπείας στην αρχική εικόνα μπορεί να μην επέλθει (Favier et al. 2003).

Διαφορές στα επίπεδα της σωματικής δραστηριότητας, ενδέχεται να επηρεάζουν τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας. Παρόλο που η μέτριας έντασης φυσική δραστηριότητα δεν έχει φανεί να μειώνει το χρόνο μεταφοράς του εντερικού περιεχομένου (Coenen et al. 1992), δεν αποκλείεται το γεγονός η άσκηση να επιδρά σε άλλους παράγοντες της φυσιολογίας του εντέρου και επομένως στον μικροβιακό αποικισμό.

Επιπλέον, δε θα πρέπει να διαφεύγει της προσοχής η ύπαρξη των τυχαίων γεγονότων ή, από μια άλλη σκοπιά, των πλήρως άγνωστων επιδράσεων στον καθορισμό και τη διατήρηση της

εντερικής μικροχλωρίδας. Η ερμηνεία αυτή προκύπτει από περιορισμένο αριθμό μελετών σε πειραματόζωα όπου ποντίκια με το ίδιο γενετικό υλικό, ηλικία και σίτιση με την ίδια ποσότητα και σύσταση δίαιτας, παρουσίασαν διαφορές στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας (Mc Cracken et al 2001, Mai et al. 2002).

Σχετικά με τους διαιτητικούς παράγοντες, η υπάρχουσα γνώση είναι αποσπασματική. Ήδη από το 1940 (Porter & Rettger) εκδηλώθηκε επιστημονικό ενδιαφέρον για την επίδραση της διατροφής στην εντερική μικροχλωρίδα. Έκτοτε πληθώρα μελετών έχει διεξαχθεί σε πειραματόζωα (Hammons et al. 2010) και in vitro συνθήκες (Shen et al. 2010), ενώ τα δεδομένα από ανθρώπινους πληθυσμούς είναι σαφώς περιορισμένα. Η πλειονότητα των τελευταίων αφορά στον τρόπο σίτισης βρεφών (Harmsen et al. 2000), ενώ η διερεύνηση σε ενήλικους πληθυσμούς αποτελεί τολμηρό εγχείρημα που από λίγους επιχειρήθηκε (Finegold et al. 1974, Mai et al. 2004).

Συνοψίζοντας, παρόλο που δεν αποτελεί θέμα της παρούσας εργασίας, ακολουθεί αναφορά σε ορισμένους διαιτητικούς παράγοντες που, όπως προκύπτει από την εκτενή ανασκόπηση του Hentges 1980, φαίνεται να επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα. Συγκεκριμένα, σε πειραματόζωα που σιτίστηκαν με δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, προϊόντων κρέατος, καθώς επίσης και σε καταστάσεις νηστείας, έχει παρατηρηθεί αύξηση των αναερόβιων βακτηρίων και μείωση των λακτοβακίλλων, ενώ μείωση των λακτοβακίλλων έχει παρατηρηθεί, επιπλέον, και σε πειραματόζωα που σιτίστηκαν με απομονωμένη καζεΐνη ή γλουτένη συγκριτικά με τη δίαιτα ελέγχου που περιλάμβανε σιτάρι και γάλα. Από συγκρίσεις της εντερικής μικροχλωρίδας σε βρέφη που θηλάζουν συγκριτικά με αυτά που σιτίζονται με τυποποιημένο γάλα, το τοπίο είναι πιο ξεκάθαρο. Σημαντικές διαφορές έχουν καταγραφεί τόσο στους πληθυσμούς των κλωστριδίων, των στρεπτόκοκκων και των κολίμορφων βακτηρίων. Επίσης, από δεδομένα σε ενήλικες έχει αναφερθεί μείωση των μπιφιδοβακτηρίων και των λακτοβακίλλων και αντικατάσταση του κλωστριδίου *C. perfringens* από άλλα κλωστρίδια, μετά την κατανάλωση χημικής, πλήρως απορροφούμενης, δίαιτας. Ενώ από μελέτες σύγκρισης διαιτητικών προτύπων πλούσιων σε πρωτεΐνες και κρέας (δυτικού τύπου) με άλλες χαμηλότερης περιεκτικότητας (Ιαπωνία) τα αποτελέσματα δεν ανέδειξαν κάποια σαφή τάση, συνολικά θεωρείται ότι η πρόσληψη διαιτητικών ινών, πηκτίνης, λίπους και πρωτεϊνών είναι ικανή να επηρεάσει τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως χαρακτηριστικά αναφέρεται στην πρόσφατη μελέτη του Mai 2004. Τέλος, να γίνει αναφορά και στα πρεβιοτικά τρόφιμα, τα οποία εξ' ορισμού προκαλούν βελτίωση στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας κυρίως μέσω της αύξησης των μπιφιδοβακτηρίων και των λακτοβακίλλων (Luis et al. 2007). Δεδομένης της πολυπλοκότητας του ανθρώπινου οργανισμού, αλλά και της

σύστασης των τροφίμων, η διαδικασία της ζύμωσης των θρεπτικών συστατικών που καταλήγουν στο κόλον (colonic foods), δεν είναι εξειδικευμένη. Έτσι, τα συστατικά αυτά, τελικά θα αποτελέσουν το υπόστρωμα για ανάπτυξη ή/ και τη μεταβολική δραστηριότητα πλήθους βακτηριακών ειδών, παθογόνων και μη (Gibson & Roberdfroid 1994). Η χαρακτηριστική αυτή, μη επιλεκτική μεταβολική δραστηριότητα, καθιστά εξαιρετικά δύσκολο τον προσδιορισμό της επίδρασης θρεπτικών συστατικών/ τροφίμων/ διαιτητικών προτύπων στο κάθε μικροβιακό είδος. Εξαιτίας αυτού, σε συνδυασμό με τις τεχνικές δυσκολίες πραγματοποίησης των καλλιιεργειών υποχρεωτικά αναερόβιων μικροοργανισμών, αλλά και των επιπρόσθετων οικονομικών παραγόντων, η πλειονότητα των μελετών που διερευνά την ευεργετική επίδραση της εντερικής μικροχλωρίδας έχει πλέον επικεντρωθεί σε ορισμένα προβιοτικά στελέχη (Ulluwishewa et al. 2010).

Απάντηση στους παραπάνω περιορισμούς έρχεται να δώσει η επιστήμη των «gnotobiotic», όπου γίνεται μεταφορά των μικροβιακών πληθυσμών από ανθρώπινα κόπρανα σε πειραματόζωα. Όπως χαρακτηριστικά αναφέρουν και οι Kau et al. 2011: «...η μέθοδος αυτή ενδεχομένως να αποτελέσει τον τρόπο που οι διάφοροι διαιτητικοί παράγοντες επιδρούν στην μικροχλωρίδα και σε άλλες όψεις της βιολογίας του ξενιστή. Έτσι, εάν το επιθυμητό αποτέλεσμα είναι το σύνολο των επιδράσεων ενός συγκεκριμένου θρεπτικού συστατικού ή τροφίμου, τότε η χορήγηση στα εκάστοτε πειραματόζωα της κατάλληλης δίαιτας, προσθέτοντας ή αφαιρώντας διάφορα συστατικά κάθε φορά, ενδεχομένως να αποτελεί την κατάλληλη μέθοδο δεδομένου βέβαια ότι τα αντίστοιχα συστατικά των τροφίμων είναι γνωστά και διαθέσιμα. Από την άλλη πλευρά, εάν το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι στραμμένο στο σύνολο των διαφορών μεταξύ διαιτητικών συνηθειών, ανάμεσα στην ίδια ή και σε διαφορετικές ομάδες ανθρώπων, τότε η επιλογή και χορήγηση της δίαιτας στα πειραματόζωα θα πρέπει να αντικατοπτρίζει το σύνολο των διαιτητικών χαρακτηριστικών των ομάδων και όχι του κάθε ατόμου ξεχωριστά...».

Συνοψίζοντας τη σημασία και την πολύπλοκη φύση της εντερικής μικροχλωρίδας, οι Blaser & Falkow (2009) αναφέρουν το εξής: «Μολονότι, από μελέτες με γνωθοβιοτικά ζώα (=gnotobiotic) δείχνουν ότι οι μικροοργανισμοί (ή τουλάχιστον τα βακτήρια) δεν είναι απαραίτητα για τη ζωή ή για την ολοκλήρωση του κύκλου της ζωής ενός ζώου. Εντούτοις, λοιπόν, φαίνεται παράδοξο το γεγονός ότι αν και δε φαίνεται να υπάρχει απόλυτη αναγκαιότητα για μια λειτουργική μικροβιακή χλωρίδα, στη φύση δεν απαντώνται γνωθοβιοτικοί οργανισμοί».

- Γενικές πληροφορίες για τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν

Είναι προφανές, λοιπόν, ότι ο εντερικός σωλήνας είναι ένα πολύπλοκο μικροβιακό οικοσύστημα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, καθώς είναι ένα πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, ανοιχτό σύστημα με σταθερή θερμοκρασία και συνεχείς εναλλαγές (Flint et al. 2007).

Παρακάτω ακολουθεί μια σύντομη αναφορά στους μικροοργανισμούς οι οποίοι εξετάστηκαν στο παρόν ερευνητικό πρωτόκολλο.

Ολικά αναερόβια βακτήρια:

Η κατάταξη των περισσότερων αναερόβιων βακτηρίων στο σωστό είδος, μπορεί να γίνει βάση πέντε κυρίαρχων χαρακτηριστικών: την ικανότητα του να δημιουργεί ενδοσπόρια, κάποια γενικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, την αντίδραση του στη χρώση Gram, τα μεταβολικά του προϊόντα και τον τρόπο κίνησης του (Moore & Holdeman 1972). Μέχρι και πριν από μια δεκαπενταετία περίπου, η γνώση αναφορικά με τη σύσταση της μικροβιακής χλωρίδας βασιζόταν κατά κύριο λόγο σε ορισμένες, μεγάλης κλίμακας, μελέτες, όπου είχε γίνει προσδιορισμός των μικροβιακών πληθυσμών σε δείγματα κοπράνων με καλλιεργητικές μεθόδους σε αναερόβιο θάλαμο. Με τον τρόπο αυτό εντοπίστηκαν τα κυρίαρχα γένη, και βάση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο, ταξινομήθηκαν. Έτσι, προέκυψε μια αδρή περιγραφή της εντερικής μικροχλωρίδας του ανθρώπου, τουλάχιστον των μικροοργανισμών αυτών που μπορούν να καλλιεργηθούν *in vitro* (Rimbaud et al. 2006), ενώ υπολογίζεται ότι στο κόλον υγιών ανθρώπων υπάρχουν 10 έως 100 φορές περισσότερα αναερόβια βακτήρια συγκριτικά με τα αερόβια (Mai 2004). Τα κυρίαρχα αναερόβια βακτήρια που εντοπίστηκαν δίδονται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 1.8.**)

Πίνακας 1.8. Κυρίαρχα γένη βακτηρίων που μπορούν να καλλιεργηθούν
(Τροποποίηση από Rimbaud et al. 2006)

Γένη βακτηρίων	Ποσοστό επί των ολικών αναερόβιων βακτηρίων
Bacteroides	30-56 %
Eubacterium	14-26 %
Bifidobacterium	4-11 %
Peptostreptococcus	4-9 %
Fusobacterium	0,1-8 %
Ruminococcus	4-9 %
Clostridium	2 %
Lactobacillus	2-6 %
Streptococcus	2-6 %
Άλλα	1-3 %

Ο αναερόβιος μεταβολισμός από τη μικροβιακή χλωρίδα στον εντερικό σωλήνα, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μικρής αλύσου λιπαρών οξέων με ταυτόχρονη παραγωγή CO₂, H₂ και CH₄ (Macfarlane and Gibson, 1997). Τα προϊόντα αυτά ασκούν σημαντική επίδραση στον καθορισμό του εντερικού περιβάλλοντος, αλλά και του ξενιστή, ως πηγή ενέργεια, ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, της κυτταρικής διαφοροποίησης και καθορισμού των αντιφλεγμονοδών παραγόντων (Flint et al. 2007).

Κλωστρίδια:

Το γένος των *Clostridium* αποτελείται από μια ποικιλία gram-θετικών βακτηρίων τα οποία δεν αναπτύσσονται παρουσία οξυγόνου και έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν θερμοανθεκτικά ενδοσπόρια. Πολλά από τα είδη αυτού του υποχρεωτικά αναερόβιου γένους, είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και άλλα θηλαστικά, με πολλές από τις προκαλούμενες ασθένειες να προκύπτουν πιθανώς από την παραγωγή εξωκυττάρων τοξινών. Η ικανότητα σχηματισμού ενδοσπορίου φαίνεται να αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην επιδημιολογία των ασθενειών αυτών (Rood & Cole 1991).

Ειδικότερα τώρα για το είδος *Clostridium perfringens*, συχνά εντοπίζεται στο γαστρεντερικό σωλήνα των θηλαστικών, στο έδαφος και σε λύματα και έχειδειχθεί ότι είναι η αιτία εμφάνισης ορισμένων ασθενειών, τόσο στους ανθρώπους, όσο και σε άλλα θηλαστικά. Συγκεκριμένα στους ανθρώπους, μπορεί να προκαλέσει κλωστηριδιακή μυονέκρωση, τροφική δηλητηρίαση, νεκρωτική εντεροκολίτιδα σε βρέφη, και νεκρωτική εντερίτιδα (pig-bel) (McDonel 1980, Smith 1979).

Η τοξικότητα αυτού του βακτηρίου αποδίδεται, κυρίως, στην ύπαρξη 15 διαφορετικών τοξινών πρωτεϊνικής φύσης. Εντούτοις, από κάθε *C. perfringens* που απομονώνεται, εκφράζεται μόνο μια υποομάδα αυτών των τοξινών, και έτσι προκύπτει η ταξινόμηση του είδους σε 5 τύπους (A- E) (McDonel 1986). Περίπου το 2-5% των *C. perfringens*, η πλειονότητα των οποίων κατηγοριοποιείται στον τύπο A, παράγουν μια εντεροτοξίνη με ιδιαίτερη βιοιατρική σημασία (McClane 2001).

Τα τελευταία 25 χρόνια, απομονώσεις αυτής της εντεροξίνης έχουν αναγνωριστεί ως η κύρια αιτία γαστρεντερικών ασθενειών τροφογενούς, καθώς και μη-τροφογενούς αιτιολογίας (McClane 2000). Επιπλέον ενδείξεις υποδεικνύουν ότι για την πλειονότητα (αν όχι για το σύνολο) των γαστρεντερικών συμπτωμάτων υπαίτιος είναι η αναφερθείσα τοξίνη, ενώ άλλα πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι το 5-20% όλων των διαρροιών που σχετίζονται με τη λήψη αντιβιοτικών προκαλούνται από αυτό τον τύπο βακτηρίων (Carmal 1997).

Οι Borriello et al. το 1984, πρώτοι εντόπισαν την εντεροτοξίνη του *C. perfringens* και αυξημένα επίπεδα συγκέντρωσης του συγκεκριμένου βακτηρίου σε ασθενείς με διάρροια κατόπιν αγωγής με αντιβιοτικά. Έτσι, λοιπόν, διατυπώθηκε για πρώτη φορά ότι η συσχέτιση του *C. perfringens* με τη αντιβιοτική θεραπευτική αγωγή είναι αιτιολογική και όχι τυχαία. Εντούτοις, αν και 20 χρόνια μετά όπως αναφέρεται από τους Vaishnavi et al. 2005, παραμένει άγνωστο αν τα αντιβιοτικά επιτρέπουν τη μόλυνση από αυτό τον τύπο *C. perfringens* ή την υπέρμετρη ανάπτυξη μικρού πλήθους των βακτηρίων τα οποία προϋπάρχουν στο γαστρεντερικό σωλήνα αυτών των ατόμων.

Μπιφιδοβακτήρια & Λακτοβάκιλλοι:

Τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, ανήκουν στα *Actinobacteria* και είναι gram-θετικοί βάκιλλοι που δεν σχηματίζουν ενδοσπόρια, ενώ τα κύτταρα ορισμένων ειδών, υπό κατάλληλες συνθήκες, έχουν τη χαρακτηριστική δισχιδή μορφολογία (Y). Ανήκουν και αυτά στην κατηγορία των υποχρεωτικά αναερόβιων βακτηρίων και έχουν την ικανότητα να παράγουν μεγάλες ποσότητες οξικού και γαλακτικού οξέος από τη ζύμωση της γλυκόζης (Scardoni 1986). Από δεδομένα συμβατικών καλλιιεργειών θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν έως και το 10% της εντερικής μικροχλωρίδας των ενηλίκων, ενώ από αντίστοιχες αναλύσεις με μοριακές τεχνικές το ποσοστό αυτό είναι 1–5% (Franks et al. 1998, Vaughan 2005). Συμπληρωματικά το μέγεθος του πληθυσμού, φαίνεται να ποικίλει ιδιαίτερα μεταξύ ατόμων, παρόλο που πληθυσμοί της τάξης των 10^9 έως 10^{10} ανά γραμμάριο κοπράνων συχνά αναφέρονται (Finegold et al. 1983). Αναφορικά με την επίδραση της ηλικίας, έχει παρατηρηθεί μείωση του πληθυσμού όσο αυξάνεται η ηλικία. (Hébuterne 2003).

Μία ακόμα κατηγορία gram-θετικών βακτηριακών βακίλλων είναι το γένος *Lactobacillus*. Ανήκουν στα *Firmicutes*, και παρόλο που αναπτύσσονται καλύτερα σε αναερόβιες συνθήκες, μπορούν να καλλιεργηθούν και σε συνθήκες με μικρή ποσότητα οξυγόνου, ενώ χαρακτηριστική τους ιδιότητα είναι η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων γαλακτικού οξέος από τη ζύμωση υποστρωμάτων γλυκόζης. (Kandler & Weiss 1986). Το ενδιαφέρον για τους λακτοβακίλλους είναι μακροχρόνιο, κυρίως γιατί ευθύνονται για τις ιδιότητες τροφίμων όπως τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά και προϊόντα κρέατος, καθώς και για την παραγωγή του ενσιρώματος, διαδικασία ενζύμωσης φυτικών προϊόντων (Tannock 2002). Επιπροσθέτως, οι λακτοβάκιλλοι αποτελούν το 1% των βακτηρίων στα ανθρώπινα κόπρανα (Sghir et al. 2000).

Τόσο το μπιφιδοβακτήρια, όσο και οι λακτοβάκιλλοι, ενδεχομένως να έχουν πιθανά οφέλη για την υγεία και για αυτό είναι συνήθη συστατικά των προβιοτικών προϊόντων (Goldin, & Gorbach, 1992). Σε αυτά συγκαταλέγονται, όπως αναφέρεται και στην ανασκόπηση του

Trebichavsky et al. 2008, η υποβοηθούμενη απορρόφηση της λακτόζης σε άτομα με δυσανοχή σε αυτή, μείωση των συμπτωμάτων δυσκοιλιότητας και ανακούφιση των συμπτωμάτων διάρροιας σε παιδιά, βοηθούν στην άμυνα έναντι μολύνσεων από παθογόνους μικροοργανισμούς ενώ σπάνια είναι οι ίδιο παθογόνοι, προάγουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και μειώνουν τις φλεγμονώδεις καταστάσεις στο γαστρεντερικό σωλήνα.

Candida albicans:

Το γένος της *Candida* αποτελείται περίπου από 150 είδη με μεγάλη ετερογένεια ανάμεσά τους, εκ των οποίων ελάχιστα είναι αυτά που μπορούν να αποβούν παθογόνα για τον άνθρωπο (Lim et al. 2011). Ανήκει στις ζύμες και είναι ένας διπλοειδής μύκητας (Ryan & Ray 2004). Οι ζύμες είναι δυνητικά συμβιωτικοί ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί και αποτελούν μέρος του βλεννογόνου του γαστρεντερικού σωλήνα και του αναπαραγωγικού συστήματος στους ανθρώπους (Kennedy et al. 1987). Ειδικότερα η *C. albicans* φαίνεται να αποικεί τις βλεννογόνους μεμβράνες στο 30–60% των ανθρώπων (Larriba et al. 2000). Εντούτοις, υπό ορισμένες συνθήκες, η *C. albicans* μπορεί να προκαλέσει εύρος λοιμώξεων, από επιφανειακές άφθες έως και συστηματική καντιντίαση, κατατάσσοντας την ως τον παθογόνο μύκητα με τον υψηλότερο επιπολασμό (Sudbery et al. 2004). Τέλος, μολονότι ο επιπολασμός των λοιμώξεων και από άλλα είδη της *Candida* αυξάνεται, η πλειονότητα των περιπτώσεων καντιντίας, εξακολουθεί να προκύπτει από την *C.albicans* (Parker et al. 1976)

1.3.2. Η εντερική μικροχλωρίδα στα παιδιά με ASD

Είναι ήδη γνωστό ότι η συμβιωτική φύση των βακτηρίων διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στην εντερική λειτουργία, ενώ αρκετές μελέτες υποδεικνύουν και το ρόλο της εντερικής μικροχλωρίδας στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (Ivanov & Littman 2011). Επιπλέον, πολύ πρόσφατα δεδομένα σε ποντίκια, υποδεικνύουν ότι η βακτηριακή σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας, η οποία υπόκειται σε ραγδαίες αλλαγές μετά τη γέννηση καθώς αρχίζει η διαδικασία της σίτισης, είναι ικανή να διαφοροποιήσει την ανάπτυξη του εγκεφάλου (Heijtz et al. 2011). Η πληροφορία αυτή δίνει μια άλλη διάσταση στην έβδομη θέση της Αμερικανικής Ένωσης Παιδιάτρων (Buie et al. 2010), σύμφωνα με την οποία τα παιδιά με ASD και γαστρεντερικά συμπτώματα έχουν αυξημένο κίνδυνο για προβλήματα συμπεριφοράς. Στη συνέχεια ακολουθεί, μια σύντομη ανασκόπηση του περιορισμένου αριθμού μελετών που αφορούν στην εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με ASD.

Μόλις το 1998, μια μητέρα αυτιστικού παιδιού, δημοσίευσε την ενδιαφέρουσα υπόθεση ότι το *Clostridium tetani* (ή άλλα βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας) ενδεχομένως να έχουν κάποιο ρόλο στον αυτισμό (Bolte 1998). Ειδικότερα η υπόθεση που διατύπωσε η Bolte προκύπτει από τη παρατήρηση ότι τα παιδιά με ASD συνήθως έχουν ιστορικό επανειλημμένης χορήγησης αντιβιοτικής θεραπείας και την υποψία ότι η συχνή χρήση αυτών είναι ικανή να δημιουργήσει ένα μικροπεριβάλλον κατάλληλο για αποικισμό από ένα ή περισσότερα είδη που παράγουν τοξίνες, όπως αυτά των κλωστριδίων. Κατόπιν, οι Sandler et al. πραγματοποίησαν μια μελέτη το 2000 σε 11 παιδιά με αυτισμό και συμπτώματα διάρροιας, όπου παρατηρήθηκε βελτίωση στη συμπεριφορά, στις επικοινωνιακές και κοινωνικές ικανότητες, αλλά και στη διαχείριση των γαστρεντερικών συμπτωμάτων μετά από τη χορήγηση δια στόματος βανκομυκίνης για 8 εβδομάδες. Η υπόθεση των ερευνητών που διατυπώθηκε είναι ότι η παρατήρηση αυτή οφείλεται στον περιορισμό των βακτηριακών στελεχών των *Clostridium spp.* που παράγουν εντεροτοξίνες.

Λαμβάνοντας υπόψη τους αυτές τις παρατηρήσεις οι Finegold et al. 2002 διεξήγαγαν μια συγχρονική μελέτη προκειμένου να εντοπίσουν διαφορές στα είδη των κλωστριδίων μεταξύ αυτιστικών και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν συνολικά αυξημένο αριθμό κλωστριδίων κατά 1 log και 23 είδη κλωστριδίων στα δείγματα κοπράνων των παιδιών με αυτισμό (n=13), σε αντίθεση με τα, μόλις, 15 είδη που εντοπίστηκαν στα δείγματα της ομάδας ελέγχου (n=8). Οι ποσοτικές διαφορές σε ορισμένα είδη κλωστριδίων επιβεβαιώνονται από μια μελέτη δύο χρόνια αργότερα, όπου για τον ποσοτικό προσδιορισμό αυτών χρησιμοποιήθηκε η τεχνική real-time PCR (Song et al. 2004).

Μόλις το 2005 το ενδιαφέρον αναφορικά με την εντερική μικροχλωρίδα επεκτείνεται όχι μόνο σε άλλους μικροοργανισμούς πέρα των κλωστριδίων, αλλά και στο σύνολο των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού (Parracho et al. 2005). Έτσι, με τη χρήση της τεχνικής F.I.S.H. (Fluoresence In Situ Hybridization), προσδιορίστηκαν οι μικροοργανισμοί και προέκυψαν τα αποτελέσματα που φαίνονται στον **Πίνακα 1.9.** παρακάτω:

***Πίνακας 1.9.** Αποτελέσματα μελέτης των Parracho et al. 2005*

Είδη βακτηρίων	ASD (n=58)	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=10)	Αδέρφια με ASD (n=10)	Αδέρφια τυπικά αναπτυσσόμενα (n=12)
Bifidobacteria	9,58 (0,27)	9,54 (0,18)	9,56 (0,23)	9,62 (0,24)
Bacteroides	9,59 (0,29)	9,63 (0,25)	9,50 (0,35)	9,18 (0,60) **
C. histolyticum group	9,75 (0,36) *	9,38 (0,34)	9,69 (0,34)	9,51 (0,35) ***
Lactobacilli/ Enterococci	8,93 (0,34)	8,88 (0,34)	8,83 (0,35)	8,68 (0,29)
C. coccoides/ E. rectale group	9,76 (0,35)	9,81 (0,18)	9,95 (0,11)	9,62 (0,43)
Ολικά βακτήρια	10,55 (0,21)	10,55 (0,24)	10,51 (0,18)	10,45 (0,28)

* Στατιστικά σημαντική διαφορά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($p < 0,01$), ** Στατιστικά σημαντική διαφορά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($p < 0,05$), *** Στατιστικά σημαντική διαφορά με το σύνολο των παιδιών με ASD ($p < 0,01$)

Μια επιπλέον μελέτη (Finegold et al. 2010) με τη χρήση μιας νέας μοριακής τεχνικής, αυτή του προσδιορισμού της αλληλουχίας του DNA μέσω του πυροφωσφορικού (pyrosequencing), καθώς και με τη συμμετοχή δύο ομάδων ελέγχου (τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και τυπικά αναπτυσσόμενα αδέρφια), έρχεται να αποσαφηνίσει τις διαφορές στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας αλλά και την πιθανή αιτιολογία αυτών. Ειδικότερα τώρα, βρέθηκε ότι τα παιδιά με αυτισμό έχουν διπλάσιο αριθμό βακτηριακών ειδών στα κόπρανα τους συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά (1018 και 530, αντίστοιχα), γεγονός που οδηγεί τους ερευνητές στην υπόθεση του αυξημένου αριθμού παθογόνων μικροοργανισμών στα παιδιά με αυτισμό. Η εξήγηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με τη βελτίωση των συμπτωμάτων κατόπιν χορήγησης αντιβιοτικού ευρέως φάσματος (Sandler et al. 2000). Επιπλέον, από τα αποτελέσματα της ίδιας μελέτης, η συνολική εικόνα που παρουσίασαν τα αδέρφια παιδιών με αυτισμό φάνηκε να έχει περισσότερες ομοιότητες με αυτή που έχουν τα αδέρφια τους παρά με αυτή των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, γεγονός που υποδεικνύει την εξάπλωση των μικροοργανισμών ενδοοικογενειακά.

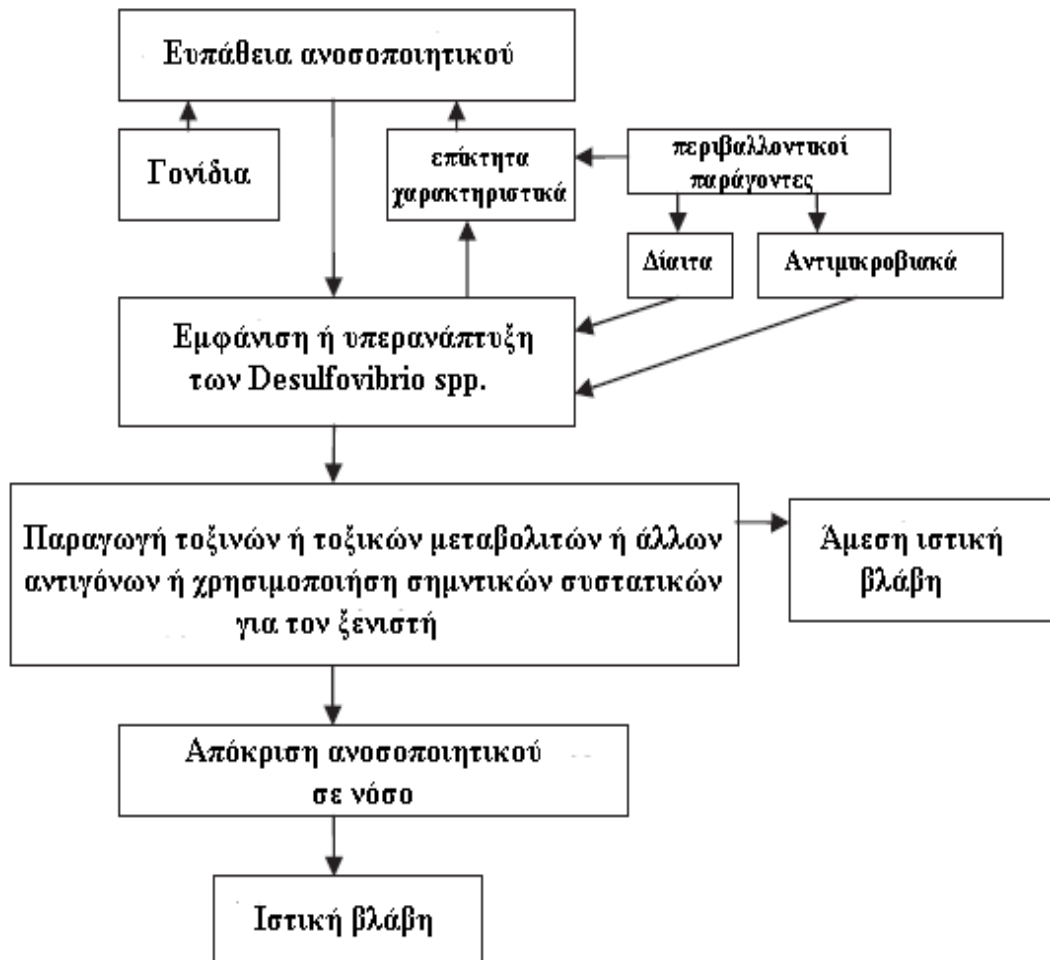
Με το ίδιο σκεπτικό του προσδιορισμού των διαφορών στο σύνολο της εντερικής μικροχλωρίδας ενήργησαν και οι Adams et al. 2011, χρησιμοποιώντας όμως την παραδοσιακή καλλιεργητική μέθοδο. Στη μελέτη αυτή έλαβαν μέρος 58 παιδιά με ASD και 39 τυπικά αναπτυσσόμενα. Αναφορικά με τα ευεργετικά για τον ξενιστή βακτήρια, τα παιδιά με ASD είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα *μπιφιδοβακτηρίων* (-45%, $p = 0,002$), ελαφρώς χαμηλότερα επίπεδα *εντερόκκοκων* (-16%, $p = 0.05$) και διπλάσια επίπεδα *λακτοβακκίλων* (+100%, $p < 0.001$), ενώ για τους παθογόνους και τα συμβιωτικούς μικροοργανισμούς τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά.

Το ίδιο έτος δημοσιεύεται μια ακόμα μελέτη (Martirosian et al. 2011), η οποία εμμένει στο ρόλο των κλωστριδίων. Οι ερευνητές είχαν ως στόχο την περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης των κλωστριδίων στις ASD. Σκοπός τους ήταν η αξιολόγηση των παραγόμενων, εκ των κλωστριδίων *C. difficile* και *C. perfringens*, τοξινών, καθώς και τα επίπεδα λακτοφερίνης κοπράνων, σε 41 παιδιά με αυτισμό και 10 τυπικά αναπτυσσόμενα. Παρόλο που δεν εντοπίστηκαν οι τοξίνες αυτές στα δείγματα κοπράνων, αξιοσημείωτο είναι το εύρημα ότι το *C. perfringens* απομονώθηκε από το 73,2% των αυτιστικών παιδιών και μόλις από το 20% της ομάδας ελέγχου ($p=0,0032$).

Τέλος, ο Finegold και οι συνεργάτες του (2011), διερευνώντας εκ νέου τα δεδομένα από τη μελέτη τους (Finegold et al. 2010) και βασιζόμενοι στο μεγαλύτερο πληθυσμό των *Desulfovibrio* που βρέθηκε στα αυτιστικά συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, εισάγουν μια καινούργια υπόθεση για την αιτιολογία του αυτισμού (**Σχήμα 1.4.**), που, όμως, δεν αποκλείει και την προηγούμενη υπόθεση της εμπλοκής των κλωστριδίων.

Παρόλο που δεν αποτελεί αντικείμενο της παρούσας εργασίας, αξίζει να αναφερθεί σε αυτό το σημείο ότι, επιπρόσθετες μελέτες εξετάζουν έμμεσα την εμπλοκή της εντερικής μικροχλωρίδας στο σύνολο των διαταραχών αυτών, είτε μέσω δεδομένων αναφορικά με τη διαπερατότητα του εντέρου (DeMagistris et al. 2010), είτε μέσω των προϊόντων του μικροβιακού μεταβολισμού (McFabe et al. 2007).

Σχήμα 1.4. Υποθετικός μηχανισμός παθογένεσης αυτισμού
(Προσαρμοσμένο σχήμα από Finegold 2011)



2. ΣΚΟΠΟΣ

Δεδομένου του αυξημένου επιπολασμού των διαταραχών του φάσματος του αυτισμού, αλλά και των αναπάντητων ερωτημάτων αναφορικά με τα διατροφικά δεδομένα και την εμπλοκή της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας στις διαταραχές αυτές, ευρύτερος στόχος του ερευνητικού πρωτοκόλλου, και ειδικότερα της παρούσας εργασίας, είναι η συνεισφορά κατά το μέγιστο δυνατό στη διερεύνηση αυτών των συσχετίσεων.

Συγκεκριμένα, σκοπός είναι η μελέτη των διατροφικών συμπεριφορών που αφορούν στον τύπο, στην κοινωνική συναναστροφή, στις παράλληλες δραστηριότητες και στην ανησυχία κατά τη διάρκεια των γευμάτων. Επιπλέον, εξετάζονται τα είδη των γευμάτων, καθώς και η ανησυχία πριν και μετά το κάθε γεύμα, στα παιδιά με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού. Κατόπιν, διερευνώνται οι πιθανές συσχετίσεις των μεταβλητών, που αναδεικνύονται από την παραπάνω σύγκριση, με την εντερική μικροχλωρίδα. Οι επιμέρους συγκρίσεις και συσχετίσεις επιχειρούνται σε τρία στάδια, συγκρίνοντας τα δεδομένα μεταξύ των εξής υποομάδων του δείγματος: α) παιδιά με διαταραχές του φάσματος/ τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, β) παιδιά με αυτισμό/ παιδιά με κάποια από τις άλλες διαταραχές και γ) αδέρφια, όπου το ένα παιδί έχει διαγνωσθεί με διαταραχές του φάσματος και το άλλο είναι τυπικά αναπτυσσόμενο. Στόχος της επιμέρους διερεύνησης των προαναφερθέντων υποομάδων είναι η επιπρόσθετη πληροφόρηση και η ορθότερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Κατόπιν, εξετάζεται η συσχέτιση των μεταβλητών της διατροφικής συμπεριφοράς που αναδεικνύονται με ορισμένα είδη της εντερικής μικροχλωρίδας.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1. Πληθυσμός Δείγματος

Στη μελέτη αυτή έλαβαν μέρος 38 παιδιά (αγόρια και κορίτσια) ηλικίας 3,5-10,5 ετών, στα 18 από τα οποία είχε γίνει διάγνωση για διαταραχή του φάσματος του αυτισμού, ενώ τα υπόλοιπα 20 ήταν υγιή (τυπικά αναπτυσσόμενα) αναφορικά με αυτές τις διαταραχές, παιδιά.

Το ηλικιακό αυτό εύρος επιλέχθηκε, αφενός μεν για να αποφευχθεί το ηλικιακό, μεταβατικό για τις διατροφικές συνήθειες, στάδιο που εισάγονται για πρώτη φορά οι στερεές τροφές, αφετέρου δε, για να μη συμπεριληφθεί η μετάβαση από την παιδική στην εφηβική ηλικία όπου τα παιδιά αφιερώνουν αρκετό χρόνο μακριά από το οικογενειακό περιβάλλον, γεγονός το οποίο θα καθιστούσε επισφαλή την καταγραφή των διατροφικών δεδομένων από τους γονείς.

Στην ομάδα των παιδιών με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού συμμετείχαν παιδιά τα οποία ήδη είχαν διαγνωσθεί και αξιολογηθεί στην Α' Παιδιατρική Κλινική και την Παιδοψυχιατρική Κλινική του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία», ενώ στην ομάδα των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών συμπεριελήφθησαν, είτε αδέρφια της προαναφερθείσας ομάδας, όπου αυτό κατέστη εφικτό, είτε άλλα παιδιά της ίδιας ηλικιακής ομάδας, μεταξύ του φιλικού περιβάλλοντος των συνεργατών της μελέτης. Η προτίμηση στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά της ίδιας οικογένειας με αυτά με ASD προέκυψε από την ανάγκη αποσαφήνισης των παραγόντων που επιδρούν στη διατροφική συμπεριφορά και στην εντερική μικροχλωρίδα των συμμετεχόντων.

Από την μελέτη αποκλείστηκαν εξ' αρχής παιδιά που είχαν λάβει αντιβίωση τους τελευταίους δύο μήνες ή κατανάλωναν προβιοτικά ή πρεβιοτικά έως και ένα μήνα πριν από τη διεξαγωγή της μελέτης.

3.2 Σύντομη Περιγραφή Ερευνητικού Πρωτοκόλλου

Αρχικά παρατίθεται μια σύντομη περιγραφή του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου με την Α' Παιδιατρική Κλινική και την Παιδοψυχιατρική Κλινική Νοσοκομείου του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» και εγκρίθηκε από την επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Είναι μια συγχρονική μελέτη και η συλλογή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε το χρονικό διάστημα από 11/2010 έως 7/2011.

Στη δειγματοληψία συμμετείχαν παιδιά με διαγνωσμένη διαταραχή του φάσματος του αυτισμού, καθώς και τυπικά αναπτυσσόμενα, ως προς αυτές της διαταραχές παιδιά.

Σε όλα τα παιδιά συλλέχθηκαν στοιχεία αναφορικά με τα ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά, τη διαιτητική τους πρόσληψη, τη διατροφική συμπεριφορά και τη σωματική δραστηριότητα. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε λήψη δείγματος κοπράνων και μικροβιολογική ανάλυση αυτού, καθώς και αξιολόγηση των γαστρεντερολογικών συμπτωμάτων. Ειδικότερα για τα παιδιά με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού, έγινε ενδελεχής αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου

Στη συνέχεια ακολουθεί εκτενής περιγραφή αυτών των μεθοδολογικών παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν για τη συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας.

3.3. Συλλογή Δεδομένων

Από το σύνολο των δεδομένων που συλλέχθηκαν σε αυτή την ερευνητική εργασία, αξιολογήθηκε η βαρύτητα της νόσου, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, η διατροφική συμπεριφορά και η εντερική μικροχλωρίδα. Η μεθοδολογία αυτών παρουσιάζεται λεπτομερώς στη συνέχεια σε ξεχωριστές υποενότητες.

3.3.1. Αξιολόγηση βαρύτητας της νόσου:

Η διάγνωση των διαταραχών, σύμφωνα με το Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο Ψυχικών Διαταραχών (DSM-IV), είχε λάβει χώρα πριν την πραγματοποίηση του πρωτοκόλλου και έτσι τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιήθηκαν αναδρομικά. Η αξιολόγηση είχε πραγματοποιηθεί από το επιστημονικό προσωπικό της Α' Παιδιατρικής Κλινικής και της Παιδοψυχιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία».

3.3.2. Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών:

Δεδομένα για το βάρος και το ύψος των παιδιών δηλώθηκαν από τους γονείς.

3.3.3. Συλλογή και επεξεργασία διατροφικών δεδομένων:

- Τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής

Το εργαλείο που χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή των διαιτητικών πληροφοριών είναι το τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων (Barrett- Connor 1991, Institute of Medicine 2001). Οι γονείς κλήθηκαν με τη βοήθεια των παιδιών τους να καταγράψουν για τρεις ημέρες (δύο καθημερινές και Σάββατο ή Κυριακή) το είδος και την ποσότητα της τροφής που καταναλώνει το παιδί τους. Επειδή η διαιτητική πρόσληψη τροφίμων και ποτών αποτέλεσε κυρίαρχο μέρος των πληροφοριών που αξιολογήθηκαν, δεν λήφθηκαν στοιχεία για πρόσληψη βιταμινών και ιχνοστοιχείων. Στη συνέχεια, τα δεδομένα της διαιτητικής πρόσληψης αναλύθηκαν ως προς την περιεκτικότητα σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά με το λογισμικό Nutritionist Pro, version 2.2 (Axxya Systems-Nutritionist Pro, Stafford, TX, USA). Η συγκεκριμένη βάση δεδομένων, η οποία στηρίζεται κυρίως στους Πίνακες Ανάλυσης Τροφίμων του USDA (US Department of Agriculture), εμπλουτίστηκε με αναλύσεις παραδοσιακών ελληνικών τροφίμων και συνταγών (Τριχοπούλου και Γεωργά 2004), με

επιπρόσθετα δεδομένα από τους πίνακες σύνθεσης ελληνικών τροφίμων (<http://nutrition.med.uoc.gr/greektables/Main/main.htm>), καθώς και με τις πληροφορίες για τη διατροφική σύσταση ορισμένων τυποποιημένων τροφίμων, όπως αυτές παρουσιάζονταν στις ετικέτες των τροφίμων ή παραχωρούνταν από τις βιομηχανίες τροφίμων.

- Συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων (ΣΚΓ)

Από τα τριήμερα ημερολόγια καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης εκτιμήθηκε και η ΣΚΓ για κάθε παιδί. Ο ορισμός που δόθηκε εξ' αρχής στο διατροφικό επεισόδιο (Drummond et al. 1998) για τους σκοπούς της έρευνας αυτής, ήταν ο εξής: Οποιαδήποτε κατανάλωση τροφίμου ή ποτού θεωρήθηκε ως ξεχωριστό διατροφικό επεισόδιο, ανεξάρτητα από το θερμιδικό περιεχόμενο αυτού και με μοναδική προϋπόθεση να απέχει χρονικά από το προηγούμενο ή/και το επόμενο 15 λεπτά. Η πρόσληψη νερού δεν καταγράφηκε και δεν συμπεριλήφθηκε σε αυτό το διαχωρισμό. Αφού υπολογίστηκε η ΣΚΓ για κάθε ημέρα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος αυτών.

- Διατροφική συμπεριφορά

Τα δεδομένα για τη διατροφική συμπεριφορά καταγράφονταν σε ειδικές στήλες μαζί με τα δεδομένα της διαιτητικής πρόσληψης. Τα στοιχεία αυτά περιλάμβαναν:

- δύο πενταβάθμιες κλίμακες (Archer et al. 1991) ανησυχίας των έξι εκατοστών, πριν και μετά την κατανάλωση κάθε γεύματος, με ακραίες τιμές «πολύ ήσυχος» (=0) και πολύ ανησυχός» (=6) πριν και μετά από την κατανάλωση των γευμάτων. Κατόπιν, προστέθηκαν οι βαθμολογίες για τα γεύματα που είχαν πλήρη δεδομένα (πριν και μετά) και διαιρέθηκαν με τον συνολικό αριθμό των γευμάτων. Η μεταβλητή αυτή αντανακλά την πεποίθηση του υπεύθυνου διατροφής των παιδιών.
- Μια τριχότομη μεταβλητή προκειμένου να καταγραφεί και η ανησυχία κατά τη διάρκεια του γεύματος. Οι γονείς έπρεπε να επιλέξουν ανάμεσα στις απαντήσεις α) καθιστός και ήσυχος, β) όχι καθιστός και γ) καθιστός και ανήσυχος. Και αυτή η μεταβλητή αυτή αντανακλά την πεποίθηση του υπεύθυνου διατροφής.
- Καταγραφή του τόπου κατανάλωσης του κάθε γεύματος, την κοινωνική συναναστροφή και παράλληλες δραστηριότητες των παιδιών κατά τη διάρκεια των γευμάτων. Κατόπιν επεξεργάστηκαν τα δεδομένα αυτά και ομαδοποιήθηκαν ως εξής:

	Τόπος κατανάλωσης	Κοινωνική συναστροφή	Παράλληλες δραστηριότητες
1.	Σπίτι	Μόνος	Τίποτα
2.	Σχολείο	Οικογένεια	Παιχνίδι
3.	Άλλοι δημόσιοι χώροι	Φίλοι	TV/ PC
4.	-	-	Άλλο

➤ Τέλος, αξιολογήθηκε ο τύπος των γευμάτων. Η κατηγοριοποίηση των γευμάτων, όπως αυτά είχαν ήδη διαχωριστεί (βλ. Συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων), προέκυψε από τροποποίηση της κατηγοριοποίησης της Anderson και των συνεργατών της (1997). Αφότου πραγματοποιήθηκε προεπισκόπηση των γευμάτων που καταναλώθηκαν από τον συγκεκριμένο πληθυσμό, ο τρόπος που αυτά τελικά ταξινομήθηκαν είναι ο εξής:

Τύπος Γεύματος	Χαρακτηριστικά
τύπου «μαγειρευτό»	Γεύμα που απαιτεί προετοιμασία όπως μαγείρεμα, κόψιμο λαχανικών, κ.ά. είτε από την οικογένεια, είτε από κάποιον άλλο εκτός σπιτιού.
τύπου «σάντουιτς»	Έτοιμο ή παρασκευασμένο στο σπίτι γεύμα με βασική πηγή ενέργειας το ψωμί. Επιπλέον στην κατηγορία εμπεριέχονται οι τυποποιημένες πίτες όπως τυρόπιτες, κá.
τύπου «σνακ»	Επιδόρπια χαμύλης ή μέτριας ποιότητας, κυρίως με γλυκιά γεύση όπως σοκολάτα, παγωτό, κá.
τύπου «πρωινό»	Γεύματα που δεν απαιτούν ιδιαίτερη προετοιμασία και καταναλώνονται συνήθως ως πρωινό όπως γάλα, δημητριακά, ψωμί με μέλι, κá. Η χρονική στιγμή κατανάλωσης αυτού δεν έχει σημασία.
τύπου «πάρτυ»	Γεύματα με ποικιλία τροφίμων που δεν απαιτούν ιδιαίτερη προετοιμασία όπως πίτσα και κεφτεδάκια και αναψυκτικό
τύπου «ρόφημα»	Γεύματα αποτελούμενα ως επί το πλείστον από κάποιο ρόφημα όπως χυμός, αναψυκτικό, τσάι, κá..
τύπου «φρούτο»	Γεύματα αποτελούμενα ως επί το πλείστον από κάποιο φρούτο ή λαχανικό όπως μήλο, αγγούρι, κá.
Τύπου «εξεζητημένο»	Γεύματα ασυνήθιστα ή/ και περίεργα για τον ευρύ πληθυσμό όπως μουςακάς για πρωινό, κá.

Επιπλέον, των χαρακτηριστικών που φαίνονται στον παραπάνω πίνακα, στην πράξη προέκυψαν ορισμένες δυσκολίες οι οποίες δεν ήταν δυνατόν να καλυφθούν από αυτή τη γενική περιγραφή του εκάστοτε τύπου. Έτσι, όταν ένα γεύμα εμπεριείχε χαρακτηριστικά δύο ή περισσότερων τύπων γευμάτων, τελικά χρησιμοποιήθηκε ο χαρακτηρισμός για αυτό το οποίο ενεργειακά ή συμπεριφοριστικά το μεγαλύτερο ρόλο. Για παράδειγμα, εάν ένα γεύμα αποτελούνταν από κοτόπουλο, πατάτες και κάποιο φρούτο αυτό χαρακτηρίστηκε ως «μαγειρευτό». Επίσης, στην περίπτωση που καταναλώνονταν στο ίδιο γεύμα ένα φλυτζάνι χυμός και ένα σοκολατάκι, το γεύμα καταγραφόταν ως «ρόφημα», ενώ εάν αυτό συμπεριελάμβανε ένα φλυτζάνι χυμό και ένα κρουασάν τότε θεωρούνταν ως «σνακ».

3.3.4. Μικροβιολογική επεξεργασία δείγματος κοπράνων

- Προετοιμασία θρεπτικών υλικών:

➤ **Μέσο αραιώσης:**

Ως κατάλληλο μέσο για την πραγματοποίηση των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων επιλέχθηκε το διάλυμα Peptone Saline Solution (PPS). Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται με 0,1 % Bacteriological Peptone (L37, OXOID) και 0,85% NaCl (50520, Ducheta) σε απιονισμένο νερό. Με τη βοήθεια διανομέα το διάλυμα μοιράζεται ανά 9ml σε γυάλινα φιαλίδια Universal και υποβάλλεται σε αποστείρωση στους 121 για 15 λεπτά. Τα έτοιμα φιαλίδια έχουν τη δυνατότητα να αποθηκευτούν στους 2-8°C στο σκοτάδι για περισσότερο από ένα μήνα.

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

➤ **Ολικά αναερόβια βακτήρια:**

Για την καταμέτρηση της ολικής αναερόβιας εντερικής μικροχλωρίδας χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό γενικής χρήσης Columbia Blood Agar (CBA), το οποίο βασίζεται στο Columbia Agar (Ellner et al. 1966) εμπλουτισμένο με 5% αποστειρωμένο αίμα αλόγου. Σε 950ml απιονισμένου νερού προστίθενται 42g Columbia Agar και 5g Agar και διαλύονται μέσω βρασμού για ένα λεπτό. Κατόπιν, το υλικό αυτό, καθώς και το μέσο μεταφοράς του αίματος από το δοχείο αποθήκευσης στο υπόλοιπο θρεπτικό υλικό, αποστειρώνονται στους 121°C για 15 λεπτά. Αφού το αποστειρωμένο υλικό ψυχθεί στους 45-50°C, μοιράζεται υπό ασηπτικές τεχνικές σε τρυβλία Petri 90mm σε αναλογία 20ml/τρυβλίο εντός του θαλάμου νηματικής ροής. Τα έτοιμα τρυβλία έχουν τη δυνατότητα να αποθηκευτούν στους 2-8°C στο σκοτάδι για περισσότερο από ένα μήνα.

➤ **Clostridium perfringens:**

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια του Clostridium Perfringens είναι το Perfringens Agar Base (Tryptose Sulphite Cycloserine Agar-LAB194) εμπλουτισμένο με το αντιβιοτικό D-cycloserine (X194). Ειδικότερα τώρα σε 1L απιονισμένου ύδατος προστίθενται 46g Perfringens Agar Base. Ακολουθεί ανάδευση και αποστείρωση αυτού στους 121°C για 10 λεπτά. Κατόπιν, αφού ψυχθεί το μίγμα στους 45-50°C, προστίθεται η D-cycloserine (η οποία έχει ήδη αραιωθεί κατάλληλα με αποστερωμένο και απιονισμένο ύδωρ), το τελικό θρεπτικό

υλικό μοιράζεται υπό ασηπτικές τεχνικές σε τρυβλία Petri 90mm σε αναλογία 20ml/τρυβλίο εντός του θαλάμου νηματικής ροής. Τα έτοιμα τρυβλία αποθηκεύονται στους 2-8°C στο σκοτάδι έως και 7 ημέρες.

➤ **Λακτοβάκιλλοι:**

Για την καταμέτρηση και απομόνωση των στελεχών του γένους *Lactobacillus* χρησιμοποιήθηκε το εκλεκτικό θρεπτικό υλικό Rogosa Agar. Η προετοιμασία αυτού απαιτεί ανάμιξη 74,5g υλικού σε 1L απιονισμένου ύδατος, ρύθμιση του pH ($5,5 \pm 0,2$) με οξικό οξύ, θέρμανση μέχρι βρασμού σε αυτόκαυστο και ψύξη στους 45-50°C, και. Έπειτα θρεπτικό υλικό μοιράζεται υπό ασηπτικές τεχνικές σε τρυβλία Petri 90mm σε αναλογία 20ml/τρυβλίο εντός του θαλάμου νηματικής ροής. Τα έτοιμα τρυβλία αποθηκεύονται στους 2-8°C στο σκοτάδι έως και 7 ημέρες.

➤ **Μπιφιδοβακτήρια:**

Για την καλλιέργεια των στελεχών του γένους *Bifidobacterium* spp. χρησιμοποιήθηκε το εκλεκτικό θρεπτικό υλικό Beeren's Agar. Η προετοιμασία του υλικού αυτού απαιτούσε την ανάμιξη σε 1L απιονισμένου νερού, 42,5 g Columbia Agar Base και 5g Agar, 5g δεξτρόζης και βρασμό αυτών σε αυτόκαυστο. Κατόπιν, αφού το προπαρασκευασμένο μίγμα ψυχθεί στους 45-50°C προστίθενται 0,5 υδροχλωρικής κυστεΐνης ως αναγωγικός παράγοντας και 5ml προπιονικού οξέος ως εκλεκτικός παράγοντας των δισχιδών βακτηρίων. Το νέο μίγμα αναδεύεται και ακολουθεί ρύθμιση του pH (5,0) με διάλυμα NaOH 1N και κατανομή αυτού υπό ασηπτικές τεχνικές σε τρυβλία Petri 90mm, σε αναλογία 20ml/τρυβλίο, εντός του θαλάμου νηματικής ροής. Τα έτοιμα τρυβλία αποθηκεύονται στους 2-8°C στο σκοτάδι έως και 48 ώρες.

- Συλλογή και μεταφορά δείγματος

Η συλλογή των δειγμάτων κοπράνων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια πλαστικών αποστειρωμένων συλλεκτών με κοχλιάριο από τους γονείς των παιδιών που έλαβαν μέρος στο ερευνητικό πρωτόκολλο, στον τόπο κατοικίας τους και κατόπιν συνεννόησης με την επιστημονική ομάδα. Αυτός ο συλλέκτης τοποθετήθηκε αμέσως από τους γονείς σε κατάλληλη φορητή συσκευή δημιουργίας αναερόβιων συνθηκών στην οποία εσωκλείεται και ένας δείκτης ελέγχου του τεχνητού αναερόβιου περιβάλλοντος. Κατόπιν ακολουθούσε η ενημέρωση από τους γονείς προς την επιστημονική ομάδα και ακολουθούσε η συλλογή και μεταφορά του δείγματος στο εργαστήριο Βιολογία Βιοχημείας Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο εντός δύο ωρών, όπου και λάμβανε χώρα η επεξεργασία του δείγματος.

- Ταυτόχρονη προετοιμασία των θρεπτικών υλικών

Ταυτόχρονα με τη διαδικασία μεταφοράς του εκάστοτε δείγματος κοπράνων στο εργαστήριο Βιολογία Βιοχημείας Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, όπως περιγράφηκε παραπάνω, πραγματοποιούνταν βρασμός στους 100°C για 20 λεπτά και έπειτα ψύξη στους 25 °C, 7 φιαλιδίων Universal με το ήδη αποστειρωμένο διάλυμα PPS, προκειμένου να απομακρυνθεί το οξυγόνο από το μέσο αραίωσης. Παράλληλα, τα τρυβλία με τα θρεπτικά υλικά που θα χρησιμοποιούνταν, μεταφερόντουσαν από τους 2-8 °C όπου ήταν αποθηκευμένα, εντός του θαλάμου νηματικής ροής και ανοίγονταν ελάχιστα, προκειμένου να διαφύγει η υπάρχουσα υγρασία και να είναι έτοιμα για την τεχνική της καλλιέργειας, όπως αυτό περιγράφεται στον πίνακα που ακολουθεί:

Θρεπτικό υλικό	Καλλιέργεια	Χρόνος (λεπτά)
CBA	Ολικά αναερόβια βακτήρια	45
TSC	Clostridium Perfigens	45
ROGOSA	Lactobacillus	35
BEEREN'S	Bifidobacteria	30 (10 κλειστό) + 15
CANDIDA	Candida Albicans	45

- Μικροβιολογική επεξεργασία δείγματος

Αφότου το δείγμα κοπράνων έφτανε στους εργαστηριακούς χώρους του πανεπιστημίου, απομονώνονταν 1g (με προσέγγιση 0,1g) και μεταφέρονταν σε ένα από τα γυάλινα φιαλίδια Universal με 9ml προβρασμένου PPS. Κατόπιν, εντός του αναερόβιου επωαστικού θαλάμου (H_2 5%, CO_2 5%, N_2 90%, O_2 30ppm), ακολουθεί ανάδευση του περιεχομένου του φιαλιδίου προκειμένου αυτό να ομογενοποιηθεί. Ακολουθώντας, πραγματοποιείται η διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων όπως αυτή περιγράφεται στη συνέχεια. Από το αρχικό φιαλίδιο μεταφέρεται 1ml ομογενοποιημένου μίγματος σε ένα άλλο φιαλίδιο με 9ml PPS. Η διαδικασία αυτή γίνεται διαδοχικά και στα υπόλοιπα φιαλίδια, έως ότου τελικά να έχουν πραγματοποιηθεί 6 επιπλέον διαδοχικές αραιώσεις του πρώτου μίγματος. Τέλος, επιλέγονται οι κατάλληλες αραιώσεις που θα χρησιμοποιηθούν για τις καλλιέργειες στη συνέχεια. Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι προαποφασισμένες αραιώσεις που θα χρησιμοποιούνταν, όπως αυτές προέκυψαν από την κρίση της επιστημονικής ομάδας με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα.

	Αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τις καλλιέργειες	
Είδος μικροοργανισμού	Τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά	Παιδιά στο φάσμα του αυτισμού
Ολικά αναερόβια βακτήρια	10^{-6} , 10^{-7}	10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}
Clostridium Perfigens	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4}	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-5}
Lactobacillus	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4}	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4}
Bifidobacteria	10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6}	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6}
Candida Albicans	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}	10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}

- Επώαση τρυβλίων

Τέλος, αφού έχει πραγματοποιηθεί και η επιλογή των κατάλληλων αραιώσεων, μεταφέρονται 100μl από την κατάλληλη αραιώση σε κάθε ένα τρυβλίο Petri. Σε κάθε αραιώση και για το κάθε θρεπτικό υλικό χρησιμοποιούνται τρία τρυβλία και πραγματοποιείται επιτόπιος επίστρωση, εντός του αναερόβιου επωαστικού θαλάμου υπό ασηπτικές τεχνικές. Η διαδικασία αυτή ακολουθήθηκε για όλα τα είδη εκτός από αυτό της Candida albicans, η οποία επεξεργάστηκε εντός του θαλάμου νηματικής ροής λόγω του ότι απαιτεί αερόβιες συνθήκες. Για την επίστρωση χρησιμοποιήθηκαν ειδικές αποστειρωμένες γυάλινες ράβδοι και η επίστρωση πραγματοποιήθηκε με φορά από τα τρυβλία μεγαλύτερης προς τα τρυβλία μικρότερης αραιώσης. Τα τρυβλία των αναερόβιων καλλιέργειών αποθηκεύονται εντός του

αναερόβιου επωαστικού θαλάμου στους 37 °C για όσο χρονικό διάστημα απαιτείται και αυτά της *Candida albicans* σε ειδικό αερόβιο επωαστικό θάλαμο στους 30 °C, όπως παρουσιάζεται και στη συνέχεια:

Καλλιέργεια	Επώαση	Συνθήκες
Ολικά αναερόβια βακτήρια	48 ώρες	Αναερόβιες
<i>Clostridium perfringens</i>	24 ώρες	Αναερόβιες
<i>Lactobacillus</i>	48 ώρες	Αναερόβιες
<i>Bifidobacteria</i>	76 ώρες	Αναερόβιες
<i>Candida albicans</i>	4-5 ημέρες	Αερόβιες

- Καταμέτρηση αποικιών και προσδιορισμός μικροβιακού πληθυσμού

Με τη συμπλήρωση του προαπαιτούμενου ειδικού χρόνου επώασης για το κάθε είδος καλλιέργειας, πραγματοποιούνταν καταμέτρηση των αποικιών και προσδιορισμός του μικροβιακού πληθυσμού ακολουθώντας τα εξής στάδια: Αρχικά γινόταν περιγραφή της μορφολογίας των αποικιών, ακολουθούσε η χρώση gram, η δοκιμασία καταλάσης και η παρατήρηση αυτών στο μικροσκόπιο. Συνεκτιμώντας τα μορφολογικά χαρακτηριστικά αποικιών και κυττάρων επιλέγονταν οι αποικίες αυτές οι οποίες αντιστοιχούσαν στον υπό εξέταση πληθυσμό. Έπειτα, καταμετρούνταν αυτές οι αποικίες και στα τρία τρυβλία που είχαν χρησιμοποιηθεί για την εκάστοτε αραίωση.

3.4. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Για τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS 18.0. Τα κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν και ο σκοπός επιλογής τους παρουσιάζεται εν συντομία παρακάτω.

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που επιλέχθηκε για την αξιολόγηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι το $p \leq 0,05$.

Το στατιστικό κριτήριο t-test χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να γίνει σύγκριση των μέσων τιμών των υπό εξέταση παραμέτρων μεταξύ δύο ανεξάρτητων δειγμάτων: τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά / παιδιά με διαταραχές φάσματος αυτισμού, παιδιά με την κλασσική μορφή του αυτισμού/ παιδιά με κάποια άλλη από τις διαταραχές του φάσματος, εκτός του αυτισμού και σε ζεύγη αδερφών: τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά / παιδιά με διαταραχές φάσματος αυτισμού.

Στην αρχική σύγκριση των μέσων τιμών που πραγματοποιήθηκε ανάμεσα στις εξής τέσσερις υποομάδες του πληθυσμού: παιδιά με την κλασσική μορφή του αυτισμού/ παιδιά με κάποια άλλη από τις διαταραχές του φάσματος, εκτός του αυτισμού/ τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά /τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά με αδερφό/ή που βρίσκεται στο φάσμα του αυτισμού, χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο ANOVA.

Κατόπιν στις επιμέρους υποομάδες πραγματοποιήθηκε διαχωριστική ανάλυση (Discriminant Analysis) προκειμένου να «διαχωριστεί» ή να κατανεμηθεί κάθε παρατήρηση του δείγματος στις, ήδη καθορισμένες ομάδες και με αυτό τον τρόπο να αναδειχθούν οι παράγοντες τις διατροφικής συμπεριφοράς που διαφέρουν ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι της νόσου.

Έπειτα, οι συμπεριφοριστικοί αυτοί παράγοντες που είχαν αναδειχθεί, εισήχθησαν στο μοντέλο της λογαριθμικής παλινδρόμησης ταυτόχρονα με τις μεταβλητές φύλο, ηλικία, ΔΜΣ και ενεργειακή πρόσληψη για να επιβεβαιωθεί η διαφορά μεταξύ των υποομάδων ακόμα και όταν λαμβάνονται οι προαναφερθέντες μεταβλητές.

Τέλος, για τους παράγοντες της διατροφικής συμπεριφοράς που αναδείχθηκαν από το σύνολο των προηγούμενων αναλύσεων εξετάστηκε η μερική συσχέτιση (Partial Correlation) με τους μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας, διορθώνοντας ως προς την ηλικία και το φύλο.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας επιλέχθηκε να παρουσιαστούν σε τρεις υποενότητες: α) τυπικά αναπτυσσόμενα vs παιδιά με ASD, β) παιδιά με αυτισμό vs παιδιά με τις υπόλοιπες διαταραχές του φάσματος και γ) τυπικά αναπτυσσόμενα vs παιδιά ASD, τις ίδιες οικογένειες (αδέρφια).

Στον **Πίνακα 4.1** δίδονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των 38 παιδιών που συνολικά έλαβαν μέρος σε αυτό το ερευνητικό πρωτόκολλο. Το 60,5% αυτών ήταν αγόρια και το 47,4% είχαν κάποια διαταραχή του φάσματος του αυτισμού. Συγκεκριμένα, το 23,7% του συνολικού δείγματος ήταν διαγνωσμένο με την κλασσική μορφή του αυτισμού και ισάριθμο ποσοστό με τις άλλες διαταραχές του φάσματος. Επιπλέον, το 36,8% των παιδιών που έλαβαν μέρος ήταν αδέρφια με το ένα από τα δύο παιδιά να είναι τυπικά αναπτυσσόμενο (18,4%) και το άλλο με ASD.

Πίνακας 4.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος

	Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση				
	Ποσοστό (%)	Ηλικία (έτη)	Βάρος (kg)	Ύψος (cm)	Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)
Σύνολο	100	6,7 ± 2,2	26,2 ± 9,3	123,0 ± 15,6	17,0 ± 2,3
Τυπικά αναπτυσσόμενα	52,6	6,7 ± 2,1	25,8 ± 8,1	123,3 ± 14,1	16,9 ± 2,4
ASD	47,4	6,7 ± 2,3	26,5 ± 10,2	122,6 ± 17,3	17,2 ± 2,1
Αυτισμός	50,0	7,4 ± 2,5	30,2 ± 13,0	128,1 ± 20,9	17,9 ± 2,1
Υπόλοιπο φάσμα	50,0	5,9 ± 1,8	22,8 ± 4,7	117,1 ± 11,3	16,6 ± 2,1
Αδέρφια	36,8	6,1 ± 2,0	23,5 ± 7,9	117,2 ± 15,0	17,1 ± 2,4
Τυπικά αναπτυσσόμενα	50,0	5,6 ± 1,3	21,8 ± 6,4	114,4 ± 9,9	16,8 ± 2,7
ASD	50,0	6,5 ± 2,4	25,2 ± 9,3	120,0 ± 19,3	17,4 ± 2,2

4.2. Σύγκριση τεσσάρων υποομάδων

Στη συνέχεια, στον **Πίνακα 4.2** παρατίθεται η σύγκριση των μέσων τιμών των τεσσάρων υποομάδων, μέσω ανάλυσης της διακύμανσης: α) παιδιά με την κλασσική μορφή του αυτισμού, β) παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή ASD εκτός από αυτισμό, γ) τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά και δ) τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά με αδερφό/-ή με ASD. Για ορισμένα γενικά χαρακτηριστικά της διαιτητικής πρόσληψης που μελετήθηκαν δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πίνακας 4.2 Σύγκριση μέσων τιμών διαιτητικής πρόσληψης

	Αυτισμός (n=9)	Υπόλοιπο Φάσμα (n=7)	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=12)	Αδέρφια:Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=6)	p-value
Ενέργεια (kcal/ ημέρα)	1757 ± 359	1688 ± 314	1641 ± 314	1683 ± 338	0,891
Πρωτεΐνες (% ενέργειας)	14,5 ± 2,8	15,2 ± 3,3	16,1 ± 2,6	14,1 ± 2,0	0,414
Υδατάνθρακες (% ενέργειας)	49,7 ± 9,0	45,5 ± 8,3	43,0 ± 5,2	46,0 ± 8,8	0,266
Λιπίδια (% ενέργειας)	37,1 ± 6,2	40,2 ± 5,2	41,9 ± 3,7	41,0 ± 7,7	0,246
Διαιτητικές ίνες (g/ ημέρα)	13,7 ± 8,1	10,6 ± 4,6	11,5 ± 5,2	8,9 ± 2,9	0,438
ΣΚΓ (γεύματα/ημέρα)	6,5 ± 1,3	6,1 ± 0,7	5,8 ± 1,3	5,5 ± 0,3	0,300

Από τα χαρακτηριστικά της διατροφικής συμπεριφοράς, στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τέσσερις υποομάδες παρατηρήθηκε μόνο για το ποσοστό των γευμάτων που τα παιδιά κατανάλωσαν μόνα τους και το ποσοστό αυτών που ήταν καθιστά και ανήσυχα, όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 4.3**. Επιπλέον, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των παιδιών με αυτισμό και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών για το ποσοστό των «μαγειρευτών» γευμάτων ($p < 0,05$). Το ποσοστό των γευμάτων που τα παιδιά ήταν καθιστά και ανήσυχα, βρέθηκε να διαφέρει σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο ($p < 0,05$) μεταξύ των παιδιών με κάποια άλλη διαταραχή ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων, καθώς και μεταξύ των παιδιών με κάποια άλλη διαταραχή ASD και τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά με αδερφό/-ή με ASD. Για τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας, οι διαφορές μεταξύ των ομάδων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (**Πίνακας 4.4**).

Πίνακας 4.3 Συγκεντρωτικός πίνακας σύγκρισης μέσων τιμών

	Αυτισμός (n=9)	Υπόλοιπο Φάσμα (n=7)	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=12)	Αδέρφια: Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=7)	p-value
Τόπος κατανάλωσης γευμάτων					
% σπίτι	81,5 ± 11,9	84,5 ± 11,6	80,4 ± 7,2	81,6 ± 11,7	0,872
% σχολείο	6,9 ± 7,0	9,1 ± 9,1	12,3 ± 8,9	5,9 ± 9,6	0,386
% άλλοι δημόσιοι χώροι	11,6 ± 7,6	6,5 ± 3,3	7,3 ± 9,4	9,0 ± 8,7	0,308
Παράλληλες δραστηριότητες κατά τη διάρκεια του γεύματος					
% τίποτα	71,3 ± 23,2	51,2 ± 26,9	61,4 ± 19,5	67,9 ± 27,3	0,412
% παιχνίδι	6,8 ± 9,4	11,3 ± 10,7	14,0 ± 11,3	11,6 ± 11,5	0,513
% tv/pc	17,8 ± 17,3	32,8 ± 20,1	19,3 ± 16,4	19,7 ± 24,7	0,465
% άλλο	4,2 ± 8,8	4,8 ± 6,8	5,2 ± 6,9	0,9 ± 2,4	0,599
Κοινωνική συναναστροφή κατά τη διάρκεια του γεύματος					
% μόνος	39,5 ± 24,1	41,5 ± 28,7	22,2 ± 16,4	15,9 ± 9,0	0,043
% οικογένεια	49,8 ± 20,3	44,3 ± 32,3	64,2 ± 14,8	69,4 ± 16,1	0,078
% φίλοι	10,7 ± 11,0	14,2 ± 7,9	13,7 ± 7,1	14,7 ± 13,3	0,833
Ανησυχία παιδιού κατά τη διάρκεια του γεύματος					
% καθιστός & ήσυχος	75,7 ± 21,3	61,8 ± 14,1	74,3 ± 12,9	81,5 ± 15,8	0,160
% όχι καθιστός	17,1 ± 14,2	23,9 ± 14,9	24,9 ± 12,3	17,3 ± 16,2	0,503
% καθιστός & ανήσυχος	7,2 ± 9,4	14,3 ± 12,2	0,7 ± 1,7	1,3 ± 3,3	0,003
Ανησυχία πριν το γεύμα	1,9 ± 2,2	2,4 ± 0,6	1,1 ± 0,7	1,7 ± 1,9	0,279
Ανησυχία μετά το γεύμα	1,7 ± 2,1	2,3 ± 0,9	1,1 ± 0,8	1,7 ± 1,6	0,417
Μεταβολή ανησυχίας (πριν- μετά) το γεύμα	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,7	-0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,4	0,435
Είδος γευμάτων					
% τύπου «μαγειρευτά»	23,8 ± 4,9	31,0 ± 10,0	32,1 ± 7,0	26,5 ± 7,5	0,068
% τύπου «σάντουιτς»	11,8 ± 7,4	8,6 ± 8,4	7,7 ± 9,3	9,5 ± 6,9	0,719
% τύπου «σνακ»	19,5 ± 9,5	28,1 ± 14,8	22,3 ± 10,8	17,2 ± 13,9	0,361
% τύπου «πρωινό»	28,2 ± 8,3	25,1 ± 13,4	29,8 ± 11,2	33,0 ± 6,6	0,534
% τύπου «πάρτυ»	0,7 ± 2,2	0,8 ± 2,2	0,4 ± 1,5	2,1 ± 3,7	0,513
% τύπου «ρόφημα»	5,8 ± 6,9	1,5 ± 2,6	2,1 ± 5,1	1,7 ± 3,0	0,283
% τύπου «φρούτο»	9,7 ± 7,6	4,8 ± 8,4	5,4 ± 9,4	9,9 ± 11,9	0,559
% τύπου «εξεζητημένο»	0,6 ± 1,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,424

Πίνακας 4.4 Συγκεντρωτικός πίνακας σύγκρισης μέσων τιμών

	Αντισμός (n=9)	Υπόλοιπο Φάσμα (n=7)	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=12)	Αδέρφια:Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=7)	p-value
Συχνότητα κενώσεων	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,6	1,0 ± 0,4	1,4 ± 1,0	0,535
Log (C. perfringens)	4,7 ± 1,3	4,8 ± 1,3	4,3 ± 1,0	4,3 ± 0,9	0,749
Log (Lactobacillus)	5,5 ± 1,1	4,3 ± 0,2	4,2 ± 1,4	4,4 ± 0,9	0,176
Log (Ολικά Αναερόβια)	9,3 ± 0,6	9,2 ± 0,5	9,2 ± 0,6	9,6 ± 0,2	0,509
Log (Bifidobacterium)	8,5 ± 0,5	7,5 ± 1,9	8,4 ± 0,8	9,0 ± 1,0	0,121
Log (C. albicans)	1,6 ± 1,2	1,5 ± 1,5	1,0 ± 0,4	1,4 ± 1,1	0,229

4.3. Σύγκριση Τυπικά Αναπτυσσόμενων παιδιών και παιδιών με ASD

Η ηλικία και ο ΔΜΣ δεν βρέθηκαν να διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο μεταξύ τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών ($6,7 \pm 2,1$ έτη και $16,7 \pm 2,4$ kg/m², αντίστοιχα) και παιδιών με ASD ($6,7 \pm 2,4$ έτη και $17,2 \pm 2,1$ kg/m², αντίστοιχα). Στον **Πίνακα 4.5** παρουσιάζονται οι μέσες τιμές ορισμένων γενικών χαρακτηριστικών της διαιτητική πρόσληψης των δύο υποομάδων, ενώ παράλληλα δίνονται στοιχεία για την στατιστική σημαντικότητα της διαφοράς των μέσων τιμών των επιμέρους μεταβλητών, όπως αυτές προέκυψαν από την εφαρμογή του στατιστικού κριτηρίου t-test.

***Πίνακας 4.5** Σύγκριση μέσων τιμών διαιτητικής πρόσληψης*

	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=20)	ASD (n=18)	p-value
Ενέργεια (kcal/ ημέρα)	1677 ± 333	1718 ± 344	0,717
Πρωτεΐνες (% ενέργειας)	15,0 ± 2,3	15,2 ± 3,1	0,839
Υδατάνθρακες (% ενέργειας)	45,0 ± 6,0	46,4 ± 9,2	0,585
Λιπίδια (% ενέργειας)	41,1 ± 5,0	39,4 ± 6,2	0,371
Διαιτητικές ίνες (g/ ημέρα)	10,8 ± 4,5	12,1 ± 6,6	0,495
ΣΚΓ (γεύματα/ημέρα)	5,8 ± 1,1	6,2 ± 1,1	0,240

Κατόπιν, το ίδιο στατιστικό κριτήριο πραγματοποιήθηκε για τα επιμέρους συστατικά της διατροφικής συμπεριφοράς, και σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνουν τα παιδιά μόνα τους ($p=0,004$) και του ποσοστού αυτών που καταναλώνουν με κάποιο μέλος της οικογένειας ($p=0,013$). Ειδικότερα, τα παιδιά με ASD καταναλώνουν κατά μέσο όρο το $40,7 \pm 24,4\%$ των γευμάτων τους μόνα τους και το $48,1 \pm 24,8\%$ με την οικογένεια σε αντίθεση με το $19,9 \pm 14,2\%$ και το $66,1 \pm 15,1\%$ των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, αντίστοιχα. Τέλος, στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των υποομάδων ($p=0,002$) παρατηρείται για το ποσοστό των γευμάτων που οι γονείς επέλεξαν μεταξύ άλλων, τον όρο «καθιστός και ανήσυχος» για να περιγράψουν τη στάση του παιδιού κατά τη διάρκεια του γεύματος. Στον **Πίνακα 4.6** παρατίθεται η σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ των δύο υποομάδων για το σύνολο των διατροφικών συμπεριφορών.

Πίνακας 4.6 Σύγκριση μέσων τιμών παραμέτρων διατροφικής συμπεριφοράς

		Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=19)	ASD (n=17)	p-value
Τόπος κατανάλωσης γεμάτων				
	% σπίτι	80,8 ± 8,8	84,4 ± 11,8	0,312
	% σχολείο	10,0 ± 9,4	7,0 ± 7,7	0,298
	% άλλοι δημόσιοι χώροι	9,2 ± 8,9	8,7 ± 6,5	0,833
Παράλληλες δραστηριότητες κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% τίποτα	63,8 ± 22,1	61,4 ± 25,6	0,763
	% παιχνίδι	13,1 ± 11,1	9,0 ± 9,6	0,242
	% tv/pc	19,4 ± 19,2	25,7 ± 20,8	0,356
	% άλλο	3,6 ± 5,9	3,9 ± 7,4	0,900
Κοινωνική συναναστροφή κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% μόνος	19,9 ± 14,2	40,7 ± 24,4	0,004
	% οικογένεια	66,1 ± 15,1	48,1 ± 24,8	0,013
	% φίλοι	14,0 ± 9,5	11,2 ± 9,6	0,366
Ανησυχία παιδιού κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% καθιστός & ήσυχος	76,9 ± 14,1	71,4 ± 19,4	0,335
	% όχι καθιστός	22,1 ± 13,9	18,7 ± 14,4	0,467
	% καθιστός & ανήσυχος	0,9 ± 2,4	9,9 ± 10,6	0,002
Ανησυχία πριν το γεύμα		1,2 ± 1,2	2,0 ± 1,6	0,114
Ανησυχία μετά το γεύμα		1,3 ± 1,1	1,9 ± 1,6	0,182
Μεταβολή ανησυχίας (πριν- μετά) το γεύμα		-0,5 ± 0,3	0,1 ± 0,5	0,278
Είδος γευμάτων				
	% τύπου «μαγειρευτό»	30,0 ± 7,5	27,6 ± 9,3	0,392
	% τύπου «σάντουιτς»	8,4 ± 8,4	10,3 ± 7,9	0,475
	% τύπου «σνακ»	20,4 ± 11,9	22,1 ± 12,4	0,685
	% τύπου «πρωινό»	31,0 ± 9,7	28,2 ± 11,0	0,419
	% τύπου «πάρτυ»	1,1 ± 2,6	0,7 ± 2,0	0,634
	% τύπου «ρόφημα»	2,1 ± 4,5	3,4 ± 5,5	0,420
	% τύπου «φρούτο»	7,1 ± 10,3	7,4 ± 7,9	0,905
	% τύπου «εξεζητημένο»	0,0 ± 0,0	0,3 ± 1,2	0,331

Αναφορικά με την εντερική μικροχλωρίδα, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για κανένα από τους επιμέρους μικροοργανισμούς (**Πίνακας 4.7**), αλλά ούτε και για τη συχνότητα κενώσεων.

Πίνακας 4.7 Σύγκριση μέσων τιμών μικροοργανισμών εντερικής μικροχλωρίδας

	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=19)	ASD (n=17)	p-value
Συχνότητα κενώσεων (κενώσεις/ ημέρα)	1,2 ± 0,7	1,0 ± 0,5	0,459
Log (C. perfringens)	4,3 ± 1,0	4,8 ± 1,2	0,250
Log (Lactobacillus)	4,2 ± 1,3	5,0 ± 1,0	0,069
Log (Ολικά Αναερόβια)	9,3 ± 0,6	9,3 ± 0,5	0,927
Log (Bifidobacterium)	8,5 ± 0,7	8,2 ± 1,3	0,434
Log (C. albicans)	1,0 ± 1,1	1,5 ± 1,2	0,303

Στη συνέχεια, με την εφαρμογή της διαχωριστικής ανάλυσης (Discriminant Analysis), με διαχωριστική μεταβλητή την ύπαρξη ή μη ASD, για κάθε κατηγορία διατροφικής συμπεριφοράς ξεχωριστά, αναδείχθηκε η στατιστικά σημαντική συνεισφορά του ποσοστού των γευμάτων που το παιδί καταναλώνει μόνο του ($\lambda=0,773$, $p=0,003$), με την οικογένεια του ($\lambda=0,829$, $p=0,011$) και είναι καθιστό και ανήσυχο ($\lambda=0,731$, $p=0,001$). Παρόλο που δεν είναι στατιστικά σημαντική η συνεισφορά των μεταβλητών «ανησυχία πριν το γεύμα» ($\lambda=0,925$, $p=0,107$) και «ανησυχία μετά το γεύμα» ($\lambda=0,946$, $p=0,171$) αξίζει να σημειωθεί η παρατηρούμενη τάση.

4.4. Σύγκριση Κλασσική Μορφής Αυτισμού με Υπόλοιπες Διαταραχές ASD

Σε αυτή την υποενότητα εξετάστηκαν οι διαφορές των παιδιών με την κλασσική μορφή του αυτισμού και των παιδιών με τις υπόλοιπες διαταραχές του φάσματος, ενώ έγινε προσπάθεια ανάδειξης της συνεισφοράς της βαρύτητας της νόσου στις υπό εξέταση μεταβλητές. Συγκεκριμένα βρέθηκε στα παιδιά με αυτισμό σε σχέση με τα παιδιά με τις υπόλοιπες διαταραχές, μια τάση για υψηλότερο ΔΜΣ ($17,9 \pm 2,1 \text{ kg/m}^2$ vs $16,1 \pm 1,4 \text{ kg/m}^2$, αντίστοιχα, $p=0,067$) και μεγαλύτερη ηλικία ($7,6 \pm 2,7$ έτη vs $5,7 \pm 1,9$ έτη, αντίστοιχα, $p=0,151$), ενώ και για καμία άλλη από τις μεταβλητές της διαιτητικής πρόσληψης δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο υποομάδων, όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 4.8**.

Πίνακας 4.8 Σύγκριση μέσων τιμών παραμέτρων διαιτητικής πρόσληψης

	Αυτισμός (n=9)	Υπόλοιπες ASD (n=7)	p-value
Ενέργεια (kcal/ ημέρα)	1757 ± 359	1688 ± 314	0,691
Πρωτεΐνες (% ενέργειας)	$14,5 \pm 2,8$	$15,2 \pm 3,3$	0,650
Υδατάνθρακες (% ενέργειας)	$49,7 \pm 9,0$	$45,5 \pm 8,3$	0,354
Λιπίδια (% ενέργειας)	$37,1 \pm 6,2$	$40,2 \pm 5,2$	0,292
Διαιτητικές ίνες (g/ ημέρα)	$13,7 \pm 8,1$	$10,6 \pm 4,6$	0,344
ΣΚΓ (γεύματα/ημέρα)	$6,5 \pm 1,3$	$6,1 \pm 0,7$	0,431

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε και πάλι σύγκριση των μέσων για τις επιμέρους μεταβλητές της διατροφικής συμπεριφοράς (**Πίνακας 4.9**). Παρόλο που δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο επίπεδο σημαντικότητας $p \leq 0,05$, η τάση ήταν σαφής για μεγαλύτερο ποσοστό: κατανάλωσης γευμάτων σε άλλους χώρους πέρα του σπιτιού και του σχολείου ($11,6 \pm 7,6\%$ vs $6,5 \pm 3,3\%$, $p=0,093$), καμίας παράλληλης δραστηριότητας κατά τη διάρκεια του γεύματος ($71,3 \pm 23,2\%$ vs $43,9 \pm 31,3\%$ $p=0,079$) και γευμάτων που είναι καθιστά και ήσυχα $75,7 \pm 21,3\%$ vs $61,8 \pm 14,1\%$, $p=0,141$), των παιδιών με την κλασσική μορφή αυτισμού συγκριτικά με τα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος. Επιπλέον, από τα είδη των γευμάτων τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε για τον τύπο των «μαγειρευτών» ($p=0,118$), των «ροφημάτων» ($p=0,107$) και των «σνακ» ($p=0,209$).

Πίνακας 4.9 Σύγκριση μέσων τιμών διατροφικής συμπεριφοράς

		Αυτισμός (n=9)	Υπόλοιπες ASD (n=7)	p-value
Τόπος κατανάλωσης γεμάτων				
	% σπίτι	81,5 ± 11,9	84,5 ± 11,6	0,618
	% σχολείο	6,9 ± 7,0	9,1 ± 9,1	0,614
	% άλλοι δημόσιοι χώροι	11,6 ± 7,6	6,5 ± 3,3	0,093
Παράλληλες δραστηριότητες κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% τίποτα	71,3 ± 23,2	51,2 ± 26,9	0,168
	% παιχνίδι	6,8 ± 9,4	11,3 ± 10,7	0,427
	% tv/pc	17,8 ± 17,3	32,8 ± 20,1	0,167
	% άλλο	4,2 ± 8,8	4,8 ± 6,8	0,887
Κοινωνική συναναστροφή κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% μόνος	39,5 ± 24,1	41,5 ± 28,7	0,882
	% οικογένεια	49,8 ± 20,3	44,3 ± 32,3	0,700
	% φίλοι	10,7 ± 11,0	14,2 ± 7,9	0,471
Ανησυχία παιδιού κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% καθιστός & ήσυχος	75,7 ± 21,3	61,8 ± 14,1	0,141
	% όχι καθιστός	17,1 ± 14,2	23,9 ± 14,9	0,378
	% καθιστός & ανήσυχος	7,2 ± 9,4	14,3 ± 12,2	0,226
Ανησυχία πριν το γεύμα		1,9 ± 2,2	2,4 ± 0,6	0,590
Ανησυχία μετά το γεύμα		1,7 ± 2,1	2,3 ± 0,9	0,504
Μεταβολή ανησυχίας (πριν- μετά) το γεύμα		0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,7	0,649
Είδος γευμάτων				
	% τύπου «μαγειρευτά»	23,8 ± 4,9	31,0 ± 10,0	0,118
	% τύπου «σάντουιτς»	11,8 ± 7,4	8,6 ± 8,4	0,441
	% τύπου «σνακ»	19,5 ± 9,5	28,1 ± 14,8	0,209
	% τύπου «πρωινό»	28,2 ± 8,3	25,1 ± 13,4	0,609
	% τύπου «πάρτυ»	0,7 ± 2,2	0,8 ± 2,2	0,931
	% τύπου «ρόφημα»	5,8 ± 6,9	1,5 ± 2,6	0,117
	% τύπου «φρούτο»	9,7 ± 7,6	4,8 ± 8,4	0,252
	% τύπου «εξεζητημένο»	0,6 ± 1,7	0,0 ± 0,0	0,347

Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε ούτε και σε αυτή την επιμέρους στατιστική επεξεργασία για τη συχνότητα κενώσεων. (**Πίνακας 4.10**). Από τις μεταβλητές, όμως, που αφορούν στην εντερική μικροχλωρίδα, ο δεκαδικός λογάριθμος των λακτοβακίλλων βρέθηκε υψηλότερος στα παιδιά με αυτισμό συγκριτικά με τα παιδιά με άλλες διαταραχές του φάσματος, σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο ($5,484 \pm 1,134$ και $4,340 \pm 0,186$, αντίστοιχα, $p=0,037$).

Πίνακας 4.10 Σύγκριση μέσων τιμών μικροοργανισμών εντερικής μικροχλωρίδας

	Αυτισμός (n=9)	Υπόλοιπες ASD (n=7)	p-value
Συχνότητα κενώσεων (κενώσεις/ ημέρα)	$1,0 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,6$	0,972
Log (C. perfringens)	$4,7 \pm 1,3$	$4,8 \pm 1,3$	0,842
Log (Lactobacillus)	$5,5 \pm 1,1$	$4,3 \pm 0,2$	0,037
Log (Ολικά Αναερόβια)	$9,3 \pm 0,6$	$9,2 \pm 0,5$	0,584
Log (Bifidobacterium)	$8,5 \pm 0,5$	$7,5 \pm 1,9$	0,265
Log (C. albicans)	$1,6 \pm 1,2$	$1,5 \pm 1,5$	0,968

Έπειτα, εφαρμόστηκε και πάλι η μέθοδος της διαχωριστικής ανάλυσης για κάθε επιμέρους κατηγορία της διατροφικής συμπεριφοράς και οι παράγοντες που αναδείχθηκαν και συμπεριλήφθηκαν στο τελικό μοντέλο έχουν ως εξής: Μεγαλύτερη τάση συνεισφοράς στο μοντέλο αυτό που διαχωρίζει τα παιδιά ανάλογα με το είδος της διαταραχής φαίνεται να έχει η καμία παράλληλη δραστηριότητα κατά τη διάρκεια κατανάλωσης των γευμάτων ($\lambda=0,775$, $p=0,064$) και από τα είδη των γευμάτων τα «μαγειρευτά» ($\lambda=0,795$, $p=0,078$). Επιπροσθέτως, θα πρέπει να αναφερθεί η συνεισφορά του ποσοστού κατανάλωσης γευμάτων σε δημόσιους χώρους πέρα του σπιτιού και του σχολείου ($\lambda=0,833$, $p=0,116$), του ποσοστού κατανάλωσης γευμάτων «καθιστός και ήσυχος» ($\lambda=0,864$, $p=0,160$) και «καθιστός και ανήσυχος» ($\lambda=0,888$, $p=0,206$), καθώς και αναφορικά με τους τύπους των γευμάτων, το ποσοστό των «σνακ» ($\lambda=0,874$, $p=0,176$) και των ροφημάτων ($\lambda=0,855$, $p=0,145$).

4.5. Σύγκριση μεταξύ αδελφών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων

Σε αυτή την τρίτη υποενοότητα επεξεργασίας των δεδομένων η υποομάδα που μελετάται είναι επτά ζεύγη αδελφών εκ των οποίων το ένα έχει διαγνωσθεί με ASD και το άλλο θεωρείται τυπικά αναπτυσσόμενο. Η ηλικία ($5,6 \pm 1,3$ έτη και $6,7 \pm 2,6$ έτη, $p=0,415$) και ο ΔΜΣ ($17,4 \pm 2,2$ kg/m² και $16,8 \pm 2,7$ kg/m², $p=0,711$) δε διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο μεταξύ των υποομάδων, ενώ από τις μεταβλητές που αφορούν στη διαιτητική πρόσληψη (Πίνακας 4.11) μόνο για την κατανάλωση διαιτητικών ινών παρατηρείται μια τάση μεγαλύτερης κατανάλωσης στα παιδιά με ASD σε σχέση με τα τυπικά αναπτυσσόμενα ($p=0,131$).

Πίνακας 4.11 Σύγκριση μέσων τιμών παραμέτρων διαιτητικής πρόσληψης

	Αδέρφια		
	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=7)	ASD (n=7)	p-value
Ενέργεια (kcal/ ημέρα)	1678 ± 411	1717 ± 305	0,842
Πρωτεΐνες (% ενέργειας)	$13,9 \pm 1,9$	$13,9 \pm 2,9$	0,999
Υδατάνθρακες (% ενέργειας)	$46,9 \pm 8,4$	$49,1 \pm 8,2$	0,624
Λιπίδια (% ενέργειας)	$40,4 \pm 7,2$	$38,1 \pm 5,5$	0,520
Διαιτητικές ίνες (g/ ημέρα)	$8,8 \pm 2,6$	$12,0 \pm 4,4$	0,131
ΣΚΓ (γεύματα/ημέρα)	$5,8 \pm 0,9$	$6,0 \pm 1,0$	0,780

Από τις μεταβλητές τώρα που περιγράφουν τη διατροφική συμπεριφορά καμία δε διαφέρει σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο μεταξύ των υποομάδων (Πίνακας 4.12). Να αναφερθεί, όμως η τάση για μεγαλύτερο ποσοστό των γευμάτων να καταναλώνεται χωρίς κάποια κοινωνική συναναστροφή από τα παιδιά με ASD συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα αδέλφια τους ($15,9 \pm 9,0\%$ και $26,3 \pm 16,8\%$ αντίστοιχα, $p= 0,182$), καθώς και μεγαλύτερο ποσοστό των γευμάτων που καταναλώνουν καθιστά και ανήσυχα ($1,3 \pm 3,3\%$ και $8,0 \pm 10,3$, αντίστοιχα , $p= 0,143$).

Πίνακας 4.12 Σύγκριση μέσων τιμών παραμέτρων διατροφικής συμπεριφοράς

		Αδέρφια		
		Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=7)	ASD (n=7)	p-value
Τόπος κατανάλωσης γεμάτων				
	% σπίτι	81,6 ± 11,7	85,2 ± 13,8	0,607
	% σχολείο	6,0 ± 9,6	7,4 ± 9,5	0,785
	% άλλοι δημόσιοι χώροι	12,5 ± 7,6	7,4 ± 6,4	0,205
Παράλληλες δραστηριότητες κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% τίποτα	67,9 ± 27,3	69,2 ± 24,9	0,926
	% παιχνίδι	11,5 ± 11,5	11,7 ± 11,7	0,978
	% tv/pc	19,7 ± 24,8	15,9 ± 15,1	0,737
	% άλλο	0,9 ± 2,4	3,2 ± 3,0	0,146
Κοινωνική συναναστροφή κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% μόνος	15,9 ± 9,0	26,3 ± 16,8	0,182
	% οικογένεια	69,4 ± 16,1	61,6 ± 18,1	0,413
	% φίλοι	14,7 ± 13,3	12,1 ± 12,0	0,707
Ανησυχία παιδιού κατά τη διάρκεια του γεύματος				
	% καθιστός & ήσυχος	81,5 ± 15,8	77,0 ± 21,9	0,666
	% όχι καθιστός	17,3 ± 16,2	15,0 ± 13,7	0,787
	% καθιστός & ανήσυχος	1,3 ± 3,3	8,0 ± 10,3	0,143
Ανησυχία πριν το γεύμα		1,5 ± 1,8	1,9 ± 2,2	0,755
Ανησυχία μετά το γεύμα		1,5 ± 1,5	1,7 ± 2,7	0,878
Μεταβολή ανησυχίας (πριν- μετά) το γεύμα		-0,0 ± 0,3	0,2 ± 0,3	0,291
Είδος γεύματος				
	% τύπου «μαγειρευτά»	26,5 ± 7,5	23,4 ± 5,8	0,403
	% τύπου «σάντουιτς»	9,5 ± 6,8	12,5 ± 8,0	0,463
	% τύπου «σνακ»	17,2 ± 13,9	20,9 ± 12,5	0,608
	% τύπου «πρωινό»	33,0 ± 6,6	31,4 ± 8,1	0,692
	% τύπου «πάρτυ»	2,1 ± 3,7	1,0 ± 2,5	0,501
	% τύπου «ρόφημα»	1,7 ± 3,0	0,8 ± 2,2	0,536
	% τύπου «φρούτο»	9,9 ± 11,9	9,9 ± 7,6	0,990
	% τύπου «εξεζητημένο»	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	-

Από τη σύγκριση των επιμέρους υποομάδων αναφορικά με τις μεταβλητές που αφορούν στην εντερική μικροχλωρίδα δεν αναδείχθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 4.13).

Πίνακας 4.13 Σύγκριση μέσων τιμών μικροοργανισμών εντερικής μικροχλωρίδας

	Αδέρφια		
	Τυπικά αναπτυσσόμενα (n=7)	ASD (n=7)	p-value
Συχνότητα κενώσεων	1,3 ± 1,0	1,2 ± 0,6	0,736
Log (C. perfringens)	4,4 ± 0,8	4,6 ± 1,4	0,744
Log (Lactobacillus)	4,1 ± 1,1	4,8 ± 0,7	0,267
Log (Ολικά Αναερόβια)	9,6 ± 0,3	9,5 ± 0,3	0,692
Log (Bifidobacterium)	8,9 ± 0,4	8,7 ± 0,7	0,558
Log (C. albicans)	1,6 ± 1,7	1,3 ± 1,2	0,679

Τέλος, ούτε η διαχωριστική ανάλυση ανέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική συνεισφορά των διατροφικών συμπεριφορών που εξετάστηκαν στα διαφορετικά χαρακτηριστικά των παιδιών με ASD και των τυπικά αναπτυσσόμενων, όταν αυτά προέρχονται από την ίδια οικογένεια. Και σε αυτή την περίπτωση όμως, να αναφερθούν ορισμένες τάσεις που παρατηρήθηκαν από την αναφερόμενη ανάλυση, όπως η συνεισφορά του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνει το παιδί μόνο του ($\lambda=0,852$, $p=0,174$), το ποσοστό των γευμάτων που κάνει κάποια άλλη δραστηριότητα κατά τη διάρκεια του γεύματος εκτός παιχνιδιού ή τηλεθέασης ($\lambda=0,831$, $p=0,144$), και τέλος το ποσοστό των γευμάτων που καταναλώνει καθιστό και ανήσυχο ($\lambda=0,816$, $p=0,126$).

4.6. Μοντέλο Λογαριθμικής Παλινδρόμησης

Επειδή πρωταρχικός στόχος της παρούσας εργασίας είναι η ανάδειξη παραγόντων διατροφικής συμπεριφοράς που διαφέρουν μεταξύ παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών ακολούθησε η εφαρμογή λογαριθμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή την ύπαρξη ή μη, ASD. Αφότου δοκιμάστηκαν οι παράγοντες που αναδείχθηκαν από τις παραπάνω επιμέρους συγκρίσεις, τελικά το μοντέλο της λογαριθμικής παλινδρόμησης έχει τη μορφή που παρουσιάζεται στον **Πίνακα 4.14**.

Πίνακας 4.14. Λογαριθμική Παλινδρόμηση

	p-value	Exp (B)	95% C.I.for EXP(B)	
			Lower	Upper
Φύλο	0,220	4,774	0,393	58,031
Ηλικία	0,382	0,733	0,366	1,471
Ενεργειακή πρόσληψη	0,470	0,999	0,995	1,002
% μόνος	0,014	1,129	1,025	1,243
% καθιστός και ανήσυχος	0,015	1,435	1,072	1,922

4.7. Συσχετίσεις με εντερική μικροχλωρίδα

Ακολουθεί η διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων (Partial Correlation), διορθώνοντας ως προς την ηλικία και το φύλο, των μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας με το σύνολο των παραγόντων που βρέθηκαν να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ή να διαφαίνεται κάποια τάση στις παραπάνω επιμέρους αναλύσεις.

Αρχικά, λοιπόν, στο σύνολο του δείγματος (**Πίνακας 4.15.**) παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνεται σε άλλους δημόσιους χώρους εκτός του σχολείου και των λακτοβακίλλων ($r= 0,430$, $p= 0,028$). Για το ποσοστό των γευμάτων που το παιδί καταναλώνει καθιστό και ανήσυχο βρέθηκε τάση για αρνητική συσχέτιση με τα μπιφιδοβακτήρια ($r= -0,354$, $p= 0,076$) και θετική με την *Candida Albicans* ($r= 0,326$, $p= 0,097$), ενώ να αναφερθεί και η ασθενής και όχι στατιστικά σημαντική τάση για θετική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων που κατανάλωσαν μόνο τους τα παιδιά και των *C. Perfringens* ($r= 0,284$, $p= 0,151$). Τέλος, από τους δύο τύπους γευμάτων που εξετάστηκαν, βρέθηκε μια τάση για αρνητική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων τύπου «σνακ» με την *Candida Albicans* ($r= -0,310$, $p= 0,116$).

***Πίνακας 4.15.** Μερική συσχέτιση διατροφικής συμπεριφοράς και εντερικής μικροχλωρίδας στο σύνολο του δείγματος*

Σύνολο Δείγματος	% μόνος	% καθιστός & ανήσυχος	% δημόσιοι χώροι	% «μαγειρευτά»	% «σνακ»
Log (C. perfringens)	$r= 0,284$ ($p=0,151$)	$r= 0,055$ ($p=0,784$)	$r= 0,220$ ($p=0,271$)	$r= -0,191$ ($p=0,341$)	$r= 0,097$ ($p=0,628$)
Log (Lactobacillus)	$r= 0,096$ ($p=0,640$)	$r= 0,095$ ($p=0,644$)	$r= 0,430$ ($p=0,028$)	$r= -0,057$ ($p=0,782$)	$r= 0,157$ ($p=0,443$)
Log (Ολικά Αναερόβια)	$r= -0,045$ ($p=0,823$)	$r= 0,193$ ($p=0,335$)	$r= -0,147$ ($p=0,463$)	$r= 0,107$ ($p=0,597$)	$r= -0,138$ ($p=0,492$)
Log (Bifidobacterium)	$r= 0,158$ ($p=0,441$)	$r= -0,354$ ($p= 0,076$)	$r= 0,230$ ($p=0,259$)	$r= 0,136$ ($p=0,506$)	$r= 0,182$ ($p=0,374$)
Log (C. albicans)	$r= 0,053$ ($p=0,794$)	$r= 0,326$ ($p=0,097$)	$r= 0,008$ ($p=0,967$)	$r= 0,157$ ($p=0,434$)	$r= -0,310$ ($p=0,116$)

Κατόπιν, χρησιμοποιήθηκε ως διαχωριστικός παράγοντας η ύπαρξη ή μη των ASD στο σύνολο του δείγματος, προκειμένου να διερευνηθεί σε ποια από τις δύο υποομάδες οφείλονται οι προαναφερθείσες συσχετίσεις. Από τις προαναφερθείσες συσχετίσεις, λοιπόν, βρέθηκε ότι η τάση για θετική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνει μόνο του το παιδί με το *C. Perfringens* και αυτή μεταξύ των γευμάτων που το παιδί καταναλώνει καθιστό και ανήσυχο με την *Candida Albicans*, οφείλεται, κυρίως, στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά ($r=0,456$, $p=0,117$ και $r=0,703$, $p=0,007$, αντίστοιχα) (Πίνακας 4.16.). Επιπλέον, για τη διατροφική συμπεριφορά της ανησυχίας, βρέθηκε τάση για θετική συσχέτιση με τους λακτοβάκιλλους ($r=0,550$, $p=0,051$), ενώ επιπλέον παρατηρήθηκε τάση για θετική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων τύπου «μαγειρευτά» με τα μπιφιδοβακτήρια ($r=0,412$, $p=0,161$) και για αρνητική συσχέτιση του ποσοστού των «σνακ» με τα ολικά αναερόβια βακτήρια ($r=-0,443$, $p=0,130$) και την *Candida Albicans* ($r=-0,420$, $p=0,162$).

Συγκεκριμένα για την *Candida Albicans*, δεν εντοπίστηκαν βιώσιμες μονάδες σε όλα τα δείγματα. Έτσι λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος ($n=10$) που εντοπίστηκε αυτός ο μικροοργανισμός, το μοντέλο των συσχετίσεων είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο. Σε ένα παιδί παρατηρήθηκε τέσσερις φορές υψηλότερη τιμή του δεκαδικού λογάριθμου από τον μέσο όρο του δείγματος (4,0 και 1,0, αντίστοιχα). Μολονότι, δεν μπορεί να θεωρηθεί ακραία τιμή και κατ' επέκταση δεν αποκλείεται από την ανάλυση των δεδομένων, αν αφαιρεθεί από τις συγκεκριμένες αναλύσεις, δεν υπάρχει πλέον τάση για αρνητική συσχέτιση με το ποσοστό των γευμάτων τύπου «σνακ» ($r=-0,002$, $p=0,997$).

Πίνακας 4.16. Μερική συσχέτιση διατροφικής συμπεριφοράς και εντερικής μικροχλωρίδας

Τυπικά αναπτυσσόμενα	% μόνος	% καθιστός & ανήσυχος	% δημόσιοι χώροι	% «μαγειρευτά»	% «σνακ»
Log (<i>C. perfringens</i>)	$r=0,456$ ($p=0,117$)	$r=0,192$ ($p=0,530$)	$r=0,282$ ($p=0,351$)	$r=-0,355$ ($p=0,234$)	$r=-0,382$ ($p=0,197$)
Log (<i>Lactobacillus</i>)	$r=-0,167$ ($p=0,584$)	$r=0,150$ ($p=0,624$)	$r=0,294$ ($p=0,329$)	$r=0,111$ ($p=0,718$)	$r=0,160$ ($p=0,601$)
Log (Ολικά Αναερόβια)	$r=-0,222$ ($p=0,467$)	$r=0,550$ ($p=0,051$)	$r=-0,269$ ($p=0,373$)	$r=0,179$ ($p=0,559$)	$r=-0,443$ ($p=0,130$)
Log (<i>Bifidobacterium</i>)	$r=-0,352$ ($p=0,238$)	$r=-0,056$ ($p=0,857$)	$r=0,223$ ($p=0,464$)	$r=0,412$ ($p=0,161$)	$r=-0,203$ ($p=0,505$)
Log (<i>C. albicans</i>)	$r=-0,232$ ($p=0,445$)	$r=0,703$ ($p=0,007$)	$r=-0,209$ ($p=0,493$)	$r=0,194$ ($p=0,525$)	$r=-0,420$ ($p=0,162$)

Στα παιδιά με ASD (**Πίνακας 4.17.**) βρέθηκε αρνητική συσχέτιση του ποσοστού των γευμάτων που το παιδί καταναλώνει καθιστό και ανήσυχο με τα μπιφιδοβακτήρια ($r = -0,647$, $p = 0,031$). Επίσης, παρατηρήθηκε τάση για θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνει μόνο του το παιδί και των μπιφιδοβακτηρίων ($r = 0,445$, $p = 0,170$) και μεταξύ του ποσοστού αυτού που καταναλώνει κάποιο γεύμα σε δημόσιους χώρους και των λακτοβακίλλων ($r = 0,513$, $p = 0,107$). Από τους τύπους των γευμάτων το ποσοστό των «σνακ» βρέθηκε να έχει την τάση να συσχετίζεται θετικά με τα ολικά αναερόβια βακτήρια ($r = 0,429$, $p = 0,164$) και τα μπιφιδοβακτήρια ($r = 0,423$, $p = 0,195$).

Παρατηρώντας τα δεδομένα ένα προς ένα εντοπίστηκε ένα παιδί με αρκετά χαμηλότερη τιμή του δεκαδικού λογάριθμου των μπιφιδοβακτηρίων από το μέσο όρο το δείγματος (4,7 και 8,5 αντίστοιχα). Αν αφαιρεθεί αυτή η τιμή από τις συγκεκριμένες αναλύσεις, ισχυροποιείται η συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των γευμάτων που καταναλώνει μόνο του το παιδί και των μπιφιδοβακτηρίων ($r = 0,659$, $p = 0,038$), ενώ οι συσχετίσεις αυτών με το ποσοστό των γευμάτων που το παιδί καταναλώνει καθιστό και ανήσυχο και με το ποσοστό των γευμάτων γευμάτων τύπου «σνακ» δεν είναι πλέον στατιστικά σημαντικές ($r = -0,200$, $p = 0,579$ και $r = 0,073$, $p = 0,842$, αντίστοιχα). Δεδομένου ότι δεν υπάρχει κάποιος εμφανής λόγος για να αποκλειστεί η τιμή αυτή από την ανάλυση των δεδομένων και είναι πιθανό να αποτελεί αποτέλεσμα των ατομικών χαρακτηριστικών, συμπεριλήφθηκε τόσο στις προηγούμενες, όσο και στις ακόλουθες στατιστικές αναλύσεις.

Πίνακας 4.17. Μερική συσχέτιση διατροφικής συμπεριφοράς και εντερικής μικροχλωρίδας

Παιδιά με ASD	% μόνος	% καθιστός & ανήσυχος	% δημόσιοι χώροι	% «μαγειρευτά»	% «σνακ»
Log (C. perfringens)	$r = 0,142$ ($p = 0,659$)	$r = -0,101$ ($p = 0,754$)	$r = 0,392$ ($p = 0,208$)	$r = 0,053$ ($p = 0,869$)	$r = -0,286$ ($p = 0,367$)
Log (Lactobacillus)	$r = 0,052$ ($p = 0,880$)	$r = -0,383$ ($p = 0,244$)	$r = 0,513$ ($p = 0,107$)	$r = -0,341$ ($p = 0,305$)	$r = 0,161$ ($p = 0,637$)
Log (Ολικά Αναερόβια)	$r = 0,047$ ($p = 0,883$)	$r = 0,158$ ($p = 0,623$)	$r = 0,240$ ($p = 0,452$)	$r = -0,353$ ($p = 0,260$)	$r = 0,429$ ($p = 0,164$)
Log (Bifidobacterium)	$r = 0,445$ ($p = 0,170$)	$r = -0,647$ ($p = 0,031$)	$r = -0,010$ ($p = 0,976$)	$r = -0,010$ ($p = 0,977$)	$r = 0,423$ ($p = 0,195$)
Log (C. albicans)	$r = 0,057$ ($p = 0,861$)	$r = 0,174$ ($p = 0,588$)	$r = -0,269$ ($p = 0,397$)	$r = 0,250$ ($p = 0,434$)	$r = -0,350$ ($p = 0,264$)

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην εργασία αυτή, επιλέχθηκε να μελετηθεί η διατροφική συμπεριφορά σε συνδυασμό με την εντερική μικροχλωρίδα, μιας πληθυσμιακής ομάδας με πληθώρα ιδιαίτερων χαρακτηριστικών, τα παιδιά με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού.

Η διαδικασία του «τρώγειν» (η ικανότητα δηλαδή να μπορεί να κρατηθεί και να χρησιμοποιηθεί με τον κατάλληλο τρόπο η τροφή και τα υγρά στο στόμα, και τέλος η κατάποση αυτών), καθώς και η διαδικασία της «σίτισης» (δηλαδή η επεξεργασία και η διευθέτηση που λαμβάνει χώρα έως ότου η τροφή ή το υγρό να φτάσει από το πιάτο ή το ποτήρι στο στόμα), αποτελούν δύο βασικές δραστηριότητες της καθημερινής ζωής (American Occupational Therapy Association 2008). Τα αίτια και τα αποτελέσματα των διαταραχών αυτών των βασικών καθημερινών δραστηριοτήτων ποικίλουν ευρέως, γεγονός που επιτάσσει την επιμέρους αξιολόγηση αυτών.

Η ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία υποστηρίζει την ύπαρξη ορισμένων διατροφικών προβλημάτων, όπως η επιλεκτική ή η άρνηση κατανάλωσης ορισμένων τροφίμων, που φαίνεται να αφορούν, όχι μόνο τα ίδια τα παιδιά με ASD, αλλά και τις οικογένειες αυτών, περισσότερο από τα τυπικά αναπτυσσόμενα (Volkert & Vaz 2010). Έναν επιμέρους στόχο αυτής της μελέτης αποτέλεσε η αξιολόγηση των συνθηκών που καλύπτουν τη διαδικασία κατανάλωσης τροφής. Έτσι, από όσα γνωρίζουμε, για πρώτη φορά μέχρι σήμερα γίνεται προσπάθεια να καταγραφεί ο τρόπος, η κοινωνική συναναστροφή, οι παράλληλες δραστηριότητες και η ανησυχία που ενδεχομένως να συνυπάρχουν κατά τη διαδικασία του τρώγειν και της σίτισης στα παιδιά με ASD και, επιπλέον, η σύγκριση αυτών με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά.

Στην καθημερινή ζωή μιας οικογένειας ο τρόπος κατανάλωσης των γευμάτων συχνά διαφέρει. Στην περίπτωση, όμως, των οικογενειών με παιδιά με ASD, οι επιλογές αυτές ενδεχομένως να είναι πιο περιορισμένες και να καθορίζονται από τις ιδιαίτερες ανάγκες και συμπεριφορές των παιδιών τους (DeMyer 1979). Για παράδειγμα στην πρόσφατη μελέτη των Provost et al.(2010), παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση γευμάτων σε κάποιο τυπικό εστιατόριο θεωρούνταν ιδιαίτερα δύσκολη από τους γονείς για περισσότερα από τα μισά παιδιά με ASD που έλαβαν μέρος, συγκριτικά με την κατανάλωση γευμάτων σε ταχυφαγία. Στην παρούσα μελέτη, αναφορικά με τον τρόπο κατανάλωσης των γευμάτων από τη σύγκριση μεταξύ των παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό των γευμάτων που καταναλώθηκε στο σπίτι, στο σχολείο ή σε άλλους δημόσιους χώρους. Και για τις δύο υποομάδες το 80% περίπου των γευμάτων καταναλώθηκε στο σπίτι. Από τους επιπρόσθετους διαχωρισμούς σε παιδιά με την κλασσική μορφή του

αυτισμού και παιδιά με άλλη διαταραχή του φάσματος, παρατηρήθηκε ότι τα πρώτα καταναλώσαν σχεδόν διπλάσιο ποσοστό των γευμάτων τους σε δημόσιους χώρους (11,6% και 6,5%, αντίστοιχα). Παρόμοια ποσοστά προέκυψαν και από το σύγκριση σε ζεύγη παιδιών της ίδιας οικογένειας όπου το ένα εξ' αυτών είχε κάποια ASD και το άλλο ήταν τυπικά αναπτυσσόμενο (7,4% και 12,5%, αντίστοιχα). Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της μελέτης των Nadon et al. (2010), οι οποίοι παρατήρησαν ότι οι διατροφικές προτιμήσεις των παιδιών με ASD επηρεάζονταν περισσότερο από τις περιβαλλοντικές συνθήκες συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα αδέρφια τους. Επιπροσθέτως των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που ενδεχομένως να ορίζουν τον κάθε εξωτερικό χώρο και όπως προκύπτει από τα προηγούμενα, πιθανώς να καθορίζουν την κατανάλωση τροφής εκτός σπιτιού, ο Cornish (1998) παρατήρησε ότι η πλειονότητα των παιδιών με ASD που συμπεριέλαβε στη μελέτη του, κατανάλωναν το σύνολο των γευμάτων τους στο ίδιο μέρος όταν βρίσκονταν στο σπίτι. Στη συμπεριφορά των παιδιών με ASD και κατ' επέκταση στην αντίδρασή τους σε εξωτερικά ερεθίσματα καθοριστικό ρόλο κατέχουν και οι φοβίες που αυτά εκδηλώνουν, όπως προκύπτει από τη μελέτη των Evans et al. 2010. Ειδικότερα, για τα παιδιά με ASD παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των συμπεριφοριστικών προβλημάτων και του άγχους με φοβίες αναφορικά με τον τόπο όπως για παράδειγμα τα πολυσύχναστα εμπορικά κέντρα και τα μικρά δωμάτια, και αρνητική συσχέτιση των σωματικών προβλημάτων με φοβίες για έκθεση σε συνθήκες κοινωνικοποίησης όπως η συναναστροφή με ενήλικες και η απόκριση σε ερωτήσεις που τους τίθενται. Μια πιθανή τέτοια συσχέτιση ενδεχομένως να εξηγεί το υψηλότερο ποσοστό των γευμάτων σε δημόσιους χώρους των παιδιών με AD συγκριτικά με αυτό των παιδιών με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος.

Σχετικά με τις παράλληλες δραστηριότητες, παρόλο που στο 60% των γευμάτων των παιδιών με ASD, αλλά και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών, τα παιδιά δεν έκαναν κάποια παράλληλη δραστηριότητα, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα κατόπιν του διαχωρισμού των παιδιών με ASD ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου. Τα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος πέρα της κλασσικής μορφής καταναλώνουν περίπου 20% λιγότερα γεύματα χωρίς να κάνουν τίποτα παράλληλα, συγκριτικά με τα αυτά με την κλασσική μορφή, ποσοστό που φαίνεται να αντικαθίσταται κατά κύριο λόγο από την τηλεθέαση.

Δυστυχώς, μέχρι σήμερα δεν έχουν διεξαχθεί άλλες μελέτες αναφορικά με αυτές τις δραστηριότητες κατά τη διάρκεια των γευμάτων προκειμένου να παρατεθεί κάποια σύγκριση σε αυτό το σημείο. Πάντως από δύο πολύ πρόσφατα δημοσιευμένες μελέτες (Chonhaiya et al. 2011, Orsmond & Kuo 2011) στο ανεξερεύνητο κομμάτι των καθημερινών δραστηριοτήτων

παιδιών και εφήβων με ASD, τα δεδομένα φαίνεται να ενισχύουν την εικόνα της παρούσας έρευνας. Στη μελέτη των Orsmond & Kuo 2011 δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο χρόνο τηλεθέασης μεταξύ των 103 εφήβων με και χωρίς ASD, ενώ η ικανότητα της λεκτικής τους επικοινωνίας συσχετίστηκε αρνητικά με την πιθανότητα να παρακολουθούν τηλεόραση τον ελεύθερο τους χρόνο. Στην άλλη μελέτη έλαβαν μέρος (Chonhaiya et al. 2011), παιδιά ηλικίας 1,5-3,5 ετών και ο χρόνος τηλεθέασης των παιδιών με ASD βρέθηκε στατιστικά σημαντικά υψηλότερος, συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά της ίδιας ηλικιακής ομάδας, αλλά και την ομάδα παιδιών με διανοητική καθυστέρηση. Εντούτοις, στη μελέτη αυτή δεν αξιολογήθηκε η βαρύτητα της νόσου ενώ, οι καθημερινές συνήθειες αυτής της ηλικιακής ομάδας ενδέχεται να απέχουν αρκετά από τα λίγο μεγαλύτερα παιδιά (4-10 ετών) που συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη, αφού τα μεγαλύτερα παιδιά αποκτούν και δραστηριότητες εκτός σπιτιού όπως το σχολείο.

Τέλος, αν και οι καθημερινές δραστηριότητες στο σύνολό τους δεν ταυτίζονται κατ' ανάγκη με αυτές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια των γευμάτων, οι 3-4 ώρες ημερησίως που φαίνεται να αφιερώνουν τα παιδιά στην τηλεθέαση (Christakis 2009) υπερβαίνει τις συστάσεις του Αμερικάνικου Συλλόγου Παιδιατρικής (American Academy of Pediatrics 2010) και πιθανώς να αλληλοεπικαλύπτεται και με τη διαδικασία της σίτισης.

Η κοινωνική συναναστροφή αποτέλεσε έναν από τους δύο παράγοντες που διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο μεταξύ των τυπικά αναπτυσσόμενων και των παιδιών με ASD, με τα πρώτα να καταναλώνουν περίπου το 20% των γευμάτων τους μόνα τους σε αντίθεση με το 40% των παιδιών με ASD. Το ποσοστό αυτό ήταν σχεδόν το ίδιο, ανεξάρτητα από τη βαρύτητα των συμπτωμάτων. Η διαφορά αυτή φαίνεται να αντικαθίσταται από το ποσοστό των γευμάτων που καταναλώνονταν με την οικογένεια (66,1% και 48,1%, αντίστοιχα). Από περαιτέρω διερεύνηση του ποσοστού των γευμάτων που τα παιδιά με ASD καταναλώνουν μόνα τους, φάνηκε ότι αυτό συσχετίζεται θετικά με το ποσοστό των γευμάτων που καταναλώνονται βλέποντας τηλεόραση και αρνητικά με το ποσοστό των γευμάτων που το παιδί παίζει παράλληλα. Επιπλέον των ελάχιστων κλινικών μελετών, όπως αυτή των Orsmond & Kuo (2011), η οποία αναδεικνύει μεταξύ άλλων και τη μοναχική φύση των εφήβων με ASD, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η ποιοτική μελέτη της DeGrace (2004) της καθημερινής ενασχόλησης της οικογένειας με αυτιστικό παιδί. Η σωματική και ψυχολογική κούραση της οικογένειας παιδιών με ASD δεν μπορεί να αμφισβητηθεί. Έτσι, φαίνεται, πως πολλές φορές οι γονείς χρησιμοποιούν διάφορα μέσα προκειμένου να αποφύγουν οποιοδήποτε ξέσπασμα των παιδιών αυτών και να διατηρήσουν τη συμπεριφορά τους σε μια κατάσταση που μπορούν

να διαχειριστούν. Η τηλεόραση είναι ένας από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους και πιο εύκολα εφαρμόσιμους τρόπους, όπου το παιδί όμως συνήθως παρακολουθεί μόνο του. Χαρακτηριστικό είναι το σχόλιο ενός μέλους οικογένειας με αυτιστικό παιδί που έλαβε μέρος στη μελέτη: «.. Θα ήταν ιδανικό να είχαμε κάποιον κάθε βράδυ να αλληλεπιδρά με το παιδί, να την κρατά απασχολημένη και να μη βλέπει απλώς τηλεόραση...». Γενικότερα πάντως η κοινωνικότητα και οι επικοινωνιακές ικανότητες των παιδιών αυτών είναι εξ' ορισμού διαταραγμένες. Από τη μια πλευρά, έχει φανεί ότι η βαρύτητα των συμπτωμάτων συσχετίζεται αρνητικά με την κοινωνική ζωή των ατόμων με αυτισμό (Orsmond et al. 2004), από την άλλη, όμως, ο χρόνος που αφιερώνεται σε παθητικές δραστηριότητες (πχ. τηλεθέαση) συσχετίζεται θετικά με συμπεριφοριστικά προβλήματα και αρνητικά με τις επικοινωνιακές ικανότητες (Mahoney & Stattin 2000).

Η ανησυχία των παιδιών κατά τη διάρκεια του γεύματος και ειδικότερα το ποσοστό των γευμάτων που κατανάλωναν τα παιδιά καθιστά μεν, αλλά ανήσυχα, είναι η άλλη παράμετρος της διατροφικής συμπεριφοράς που αναδείχθηκε η στατιστικά σημαντική συνεισφορά της στο διαχωρισμό μεταξύ των παιδιών με και αυτών χωρίς ASD (9,9% και 0,9%, αντίστοιχα). Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των παιδιών που βρίσκονται στην ίδια οικογένεια, ενώ το ποσοστό αυτών των γευμάτων στα παιδιά με την κλασική μορφή του είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο από τα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή. Όλα τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι η συμπεριφορά αυτή είναι χαρακτηριστική της φύσης ή/ και των συμπτωμάτων της νόσου. Στο πλαίσιο της διατροφικής συμπεριφοράς η παράμετρος αυτή έχει αξιολογηθεί και από άλλους ερευνητές με αντικρουόμενα όμως αποτελέσματα. Οι Provost et al. (2010) μελέτησαν παιδιά 3-6 ετών και δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τυπικά αναπτυσσόμενων και παιδιών με ASD όσον αφορά στο ποσοστό των γονέων που απάντησαν καταφατικά για αυτή τη συμπεριφορά, ενώ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό των γονέων που δήλωσαν πως το παιδί σηκώνεται συχνά ή αρνείται να καθίσει στο τραπέζι. Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν και από μια παλαιότερη μελέτη (Cornish 1998), ενώ οι Kerwin et al. 2005, οι οποίοι συμπεριέλαβαν στη μελέτη τους μια ετερογενή, ως προς τη συμπεριφορά, ηλικιακή ομάδα (3-18 ετών) αναφέρουν πως για το 88,8% οι γονείς δήλωσαν πως το παιδί κάθεται μαζί τους κατά τη διάρκεια των γευμάτων. Εντούτοις, πρέπει να σημειωθεί η διαφορετική μεθοδολογική φύση των ερευνών. Στην πλειονότητα των μελετών που έχουν διερευνήσει τη διατροφική συμπεριφορά παιδιών με ASD, η συλλογή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω κατάλληλα διαμορφωμένων ερωτηματολογίων, όπου η έκφραση της

ανησυχίας αυτής αποτυπώνεται σε μία ή δύο από το σύνολο των ερωτήσεων και ουσιαστικά εκφράζουν τις πεποιθήσεις των γονέων. Επιπλέον, σημαντικό στοιχείο αποτελεί η έλλειψη πολλές φορές του χρονικού πλαισίου των παρατηρούμενων συμπεριφορών. Αντιθέτως, στην παρούσα μελέτη η παρατήρηση αυτή καταγραφόταν για κάθε διατροφικό επεισόδιο ξεχωριστά και το συνολικό αποτέλεσμα αποτυπώνει το ποσοστό επί του συνόλου των γευμάτων, μεταβλητή διαφορετική από το αν το παιδί γενικά και αόριστα έχει αυτό το χαρακτηριστικό.

Τέλος, ο διαχωρισμός που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την εργασία αναφορικά με τον τύπο των γευμάτων, βασίζεται στην προσέγγιση της Anderson και των συνεργατών της (1997), η οποία ήθελε, μέσω αυτής της κατηγοριοποίησης, να διερευνήσει ορισμένα συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά/ επιλογές και όχι την επάρκεια της διαιτητικής πρόσληψης, σε υπέρβαρους ενήλικες. Γι' αυτόν ακριβώς το λόγο επιλέχθηκε αυτή η προσέγγιση και στην παρούσα εργασία, παρόλο που δεν έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης άλλων ερευνητών για αυτή την υποομάδα παιδιών. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν δεν ανέδειξαν κάποιες στατιστικά σημαντικές διαφορές. Εντούτοις, εξετάζοντας προσεκτικά τα ποσοστά για τον κάθε τύπο γευμάτων στις επιμέρους υποομάδες, παρατηρείται ότι στο σύνολο των γευμάτων, τα παιδιά με την κλασσική μορφή του αυτισμού κατανάλωσαν ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά γευμάτων τύπου «μαγειρευτά» και «σνακ» συγκριτικά με τα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος. Το ποσοστό αντικαθίσταται κυρίως από ροφήματα και φρούτα, εύρημα στο οποίο ενδεχομένως να εμπλέκονται σωματικά προβλήματα και προβλήματα στη χρήση σκευών (Schreck et al. 2004). Ενώ από ορισμένους ερευνητές έχει υποστηριχθεί ότι τα παιδιά με ASD ενδεχομένως να καταναλώνουν λιγότερα φρούτα και λαχανικά (Johnson et al. 2008), από άλλους (Martins et al. 2008) υποστηρίζεται ότι η αποφυγή αυτών των ομάδων τροφίμων είναι εξίσου έντονη και στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Η εικόνα αυτή, πάντως, ενδέχεται να μην είναι αντιφατική, αλλά να αντανακλά διαφορές στην ηλικία των παιδιών, τη βαρύτητα της νόσου, καθώς και σε πληθώρα άλλων παραγόντων. Το ποσοστό των γευμάτων τύπου «φρούτο» στην παρούσα μελέτη αντανάκλούσε μόλις το 5-10% του συνόλου των γευμάτων για όλες τις υποομάδες που εξετάστηκαν. Επιπλέον, ορισμένες τάσεις, οι οποίες παρατηρούνται από τη σύγκριση των παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών στο σύνολο του δείγματος, εξαλείφονται στο πλαίσιο της οικογένειας. Τα αποτελέσματα φαίνονται σύμφωνα με την διερεύνηση που εφάρμοσαν οι Schreck & Williams (2006), θέλοντας να εξετάσουν την προγνωστική ικανότητα της βαρύτητας της συμπτωματολογίας και των προτιμήσεων της οικογένειας, στην επιλεκτικότητα των τροφίμων που τα παιδιά με ASD εμφάνισαν. Για όλα τα είδη τροφίμων, οι προτιμήσεις της οικογένειας αποτελούσαν το

μόνο προγνωστικό παράγοντα. Επιπροσθέτως, ενδέχεται οι αντιλήψεις και οι πεποιθήσεις των γονέων με παιδιά στο φάσμα του αυτισμού να διαφέρουν από αυτές των γονέων με τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Έτσι, όπως συστήνεται και από τον Lockner et al. (2008), δεδομένης μιας επαρκούς σίτισης παρά τα διατροφικά προβλήματα που ενδεχομένως να συνυπάρχουν, οι γονείς θα πρέπει να εστιάσουν στη δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών προκειμένου η διαδικασία της σίτισης να είναι ευχάριστη.

Όλοι οι παραπάνω παράγοντες αποτελούν επιμέρους στοιχεία μιας και μόνο καθημερινής δραστηριότητας των παιδιών με ASD και των οικογενειών τους, της σίτισης. Το σύνολο αυτών θα πρέπει να παρατηρείται και να αξιολογείται από τους γονείς και τους επιστήμονες υγείας, με τέτοιο τρόπο, ώστε οι δυσκολίες και η ψυχολογική κούραση που συχνά συνοδεύει τις διαταραχές αυτές, να μειώνονται στο ελάχιστο, να διατηρείται ένα ήρεμο οικογενειακό περιβάλλον και να επιτυγχάνεται το μέγιστο αναφορικά με τη σωματική και διανοητική ανάπτυξη των παιδιών.

Όπως πολύ εύστοχα ειπώθηκε από τους Balser & Falkow (2009): « Ζούμε σε ένα μικροβιακό πλανήτη. Όταν εμφανίστηκαν τα ζώα, οι μικροοργανισμοί ήδη, και για περισσότερο από τρία δισεκατομμύρια χρόνια, ήταν μέρος μιας αχανούς κοινωνίας οργανισμών με πολύπλοκες ενδοσυμβιωτικές σχέσεις. Ειδικότερα η μικροβιακή χλωρίδα των σπονδυλωτών μπορεί να χαρακτηριστεί ως «αρχαία» με βαθιά (στο χρόνο) καταγωγή, διατηρημένη στο είδος του ξενιστή, συχνά παρούσα σε ορισμένα γεγονότα του κύκλου της ζωής ή επιμένουσα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής και εξειδικευμένη ως προς την περιοχή του ξενιστή. Οι ιδιότητες αυτές υπονοούν ότι η μικροβιακή χλωρίδα είναι επιλεγμένη, ενώ γίνεται όλο και πιο σαφές ότι παρόλο που διέπεται από αυτούς τους νόμους είναι επιπλέον ιδιαίτερα εξατομικευμένη.»

Συνοπτικά για την παρούσα μελέτη, η σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας δε βρέθηκε να διαφέρει σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο μεταξύ παιδιών με ASD και τυπικά αναπτυσσόμενων. Εντούτοις, λόγω του μικρότερου μεγέθους του δείγματος από του προβλεπόμενου, προκειμένου να εξασφαλιστεί η στατιστική ισχύς, τα δεδομένα διερευνήθηκαν σε βάθος. Στα παιδιά με ASD βρέθηκαν περισσότερα *C. perfringens*, *λακτοβάκιλλοι* και *C. albicans* και λιγότερα *μπιφιδοβακτήρια* συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Η εικόνα αυτή, σε γενικές γραμμές, είναι σύμφωνη με την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία και παρόλο που αιτιολογικές σχέσεις δεν είναι δυνατόν να αναδειχθούν από τη μελέτη αυτή, τα δεδομένα δεν αναιρούν τις διατυπωμένες υποθέσεις σχετικά με την εμπλοκή της εντερικής μικροχλωρίδας στις ASD.

Συγκεκριμένα, αν και ο πληθυσμός του *C. perfingens* είναι αυξημένος κατά μισή λογαριθμική μονάδα στα παιδιά με ASD, συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα, ανεξάρτητα από το αν έχουν αδέρφια με ASD ή όχι, τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία για αυξημένους μικροοργανισμούς του είδους των κλωστριδίων (π.χ. Finegold et al. 2002, Song et al. 2004). Μολονότι τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δεν υποδεικνύουν κάποια αιτιολογική σχέση, θα μπορούσαν από μια οπτική, να θεωρηθούν ενισχυτικά της υπόθεσης που διατύπωσε η Bolte (1998), περί συμμετοχής των κλωστριδίων ή άλλων παθογόνων μικροοργανισμών στην αιτιολογία των διαταραχών αυτών και εξακολουθεί να διερευνάται μέχρι και σήμερα (Finegold et al. 2010).

Επιπλέον, βρέθηκε ως τάση τα ευεργετικά, όπως συχνά αποκαλούνται, βακτηριακά είδη των λακτοβακίλλων και των μπιφιδοβακτηρίων, να διαφέρουν μεταξύ των υποομάδων. Ειδικότερα για τους λακτοβάκιλλους, βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα στα παιδιά με ASD συγκριτικά με τα τυπικά αναπτυσσόμενα και από την επιμέρους αξιολόγηση τα παιδιά με την κλασσική μορφή αυτισμού παρουσίασαν τους μεγαλύτερους πληθυσμούς, ενώ στα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος παρόμοιους με αυτούς των τυπικά αναπτυσσόμενων. Η συγκεκριμένη παρατήρηση έρχεται σε συμφωνία με τη μελέτη των Adams et al. (2011a) που χρησιμοποίησαν καλλιεργητικές μεθόδους και οι βακτηριακοί πληθυσμοί εκφράστηκαν ως κατηγορική μεταβλητή. Η διαφορά αυτή αποδόθηκε στη λήψη προβιοτικών, καθώς αυτά δεν αποτέλεσαν κριτήριο αποκλεισμού, ενώ επιπλέον παρατηρήθηκε ότι τα άτομα που κατανάλωναν ψάρια και θαλασσινά περισσότερες από 2 φορές το μήνα (το 57% αυτών λάμβανε και ιχθυέλαιο) είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές λακτοβακίλλων. Η μελέτη των Parracho et al. (2005) δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές για αυτό το είδος μικροοργανισμών. Εντούτοις, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν την τεχνική F.I.S.H. για τον ποσοτικό προσδιορισμό των βακτηρίων και σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί πως, πλέον, είναι κοινά αποδεκτό ότι οι παραδοσιακές καλλιεργητικές μέθοδοι, παρότι είναι εξαιρετικά σημαντικές, υποεκτιμούν σημαντικά τους βακτηριακούς πληθυσμούς στα δείγματα κοπράνων (Hayashi et al. 2002).

Όσον αφορά στους πληθυσμούς των μπιφιδοβακτηρίων, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν και τα αντίστοιχα από τη μελέτη των Parracho et al. 2005, οι οποίοι χρησιμοποίησαν τη μοριακή τεχνική FISH για τον προσδιορισμό των βακτηριακών πληθυσμών. Όμως, τα παιδιά με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος πέρα από την κλασσική μορφή, είχαν κατά μια λογαριθμική μονάδα χαμηλότερες τιμές συγκριτικά, όχι μόνο με τα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, αλλά και με τα αυτιστικά

παιδιά. Οι Finegold et al. 2010, παρατήρησαν και αυτοί διαφορά στους πληθυσμούς των μπιφιδοβακτηρίων ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου, με τα άτομα με μεγαλύτερη βαρύτητα της νόσου, όμως, να έχουν μικρότερους πληθυσμούς.

Τέλος, για τους πληθυσμούς της *C. albicans*, οι χαμηλότερες τιμές μεταξύ τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών που δεν είχαν αδέρφια με ASD σε σχέση με τις άλλες τρεις υποομάδες είναι αξιοσημείωτη. Ομοίως, οι Adams et al. (2010a) παρατήρησαν ότι τα επίπεδα του μικροοργανισμού αυτού ήταν σε φυσιολογικά επίπεδα στα παιδιά με ASD και συγκρίσιμα με αυτά των τυπικά αναπτυσσόμενων. Η ομοιότητα ως προς αυτό το βακτηριακό πληθυσμό μεταξύ των παιδιών της ίδιας οικογένειας, πιθανώς να υποδεικνύει την επίδραση ορισμένων ενδοοικογενειακών παραγόντων. Τα παραπάνω έρχονται σε αντιδιαστολή με τη διατύπωση της υπόθεσης Crook το 1986 (Levy & Hyman 2005) αναφορικά με την εμπλοκή της *Candida* στην αιτιολογία του αυτισμού, αλλά και τα πολύ πρόσφατα δεδομένα μελέτης του Ινστιτούτου Ερευνών του Αυτισμού (Autism Research Institute), όπου αναλύθηκαν δεδομένα από αναφορές περισσότερων των 25.000 γονέων και βρέθηκε η αντιμυκητιακή αγωγή να θεωρείται ως μια από τις πιο αποτελεσματικές θεραπείες για βελτίωση συμπεριφοριστικών παραγόντων (Edelson 2010). Έτσι, προκύπτει το συμπέρασμα ότι θα πρέπει να αξιολογείται κάθε φορά, όχι μόνο η βακτηριακή, αλλά το σύνολο της εντερικής μικροχλωρίδας.

Συνολικά, πάντως, δε θα πρέπει να διαφεύγει της προσοχής, η ταυτόχρονη ύπαρξη επιπλέον παραγόντων που ενδεχομένως να επιδρούν στον καθορισμό της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως ο γεωγραφικό τόπος, η ηλικία, η διαιτητική πρόσληψη, η λήψη προβιοτικών, η λήψη αντιβιοτικών στο παρελθόν αλλά και οποιασδήποτε άλλης φαρμακευτικής αγωγής (Mai 2004).

Δεδομένου του σκοπού της εργασίας αυτής, ακολούθησε η συνδυαστική προσέγγιση των δύο παραπάνω ενοτήτων: διατροφική συμπεριφορά και εντερική μικροχλωρίδα. Μεταξύ αυτών αναδείχθηκαν ορισμένες αξιοσημείωτες συσχετίσεις.

Καταρχάς, στο σύνολο του δείγματος, παρατηρήθηκαν ορισμένες συσχετίσεις, οι οποίες, όμως, τελικά οφείλονται, είτε στα τυπικά αναπτυσσόμενα, είτε στα παιδιά με ASD. Λόγω των διαφορών στη διατροφική συμπεριφορά και την εντερική μικροχλωρίδα μεταξύ των δύο ομάδων, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αλλά και από άλλους ερευνητές, διερευνήθηκαν οι συγκεκριμένες συσχετίσεις σε κάθε ομάδα ξεχωριστά.

Στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά, παρατηρήθηκε ότι η περισσότερη οικογενειακή και ήρεμη διατροφική συμπεριφορά έχει την τάση να σχετίζεται με πιο ευεργετική εντερική μικροχλωρίδα. Έτσι, όσο πιο λίγα γεύματα καταναλώνει το παιδί μόνο του, όσο λιγότερο ανήσυχο είναι κατά τη διάρκεια αυτών και όσο περισσότερα «μαγειρευτά» γεύματα και λιγότερα «σνακ» απαρτίζουν την καθημερινή διαίτα του, τόσο λιγότερα δυνητικά παθογόνα *C. perfringens*, λιγότεροι μύκητες, όπως η *C. albicans* και περισσότερα ολικά αναερόβια αλλά και μπιφιδοβακτήρια εντοπίζονται στα κόπρανα του. Ενδεχομένως, η συμβιωτική φύση των μελών μιας οικογένειας, να είναι ικανή να επιδράσει στη συμβιωτική φύση των μικροοργανισμών στην εντερική μικροχλωρίδα του ατόμου. Αυτό δε φαίνεται παράδοξο έστω και από την περιορισμένη γνώση που διατίθεται μέχρι σήμερα για την εντερική μικροχλωρίδα. Παράγοντες όπως η διατροφή, αλλά και η υπέρμετρη ανάπτυξη δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών, είναι πλέον γνωστό πως μπορούν να επιδράσουν ή και να διαταράξουν την ισορροπία της εντερικής μικροχλωρίδας (Mai 2004). Ειδικότερα για τη διατροφή, η επίδραση που ασκεί στη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας, οφείλεται είτε στην επιλογή των τροφίμων και επομένως στη σύσταση της διαίτας, παράμετρο που καθορίζεται από το οικογενειακό περιβάλλον, είτε στην τήρηση των κανόνων υγιεινής κατά τη διαδικασία παρασκευής των γευμάτων. Παρόλο που δεν έχει αποσαφηνιστεί εάν ο κίνδυνος για ενδεχόμενες μολύνσεις είναι μεγαλύτερος σε εξωτερικούς χώρους παρασκευής γευμάτων ή στο σπίτι, ένας λανθασμένος χειρισμός μπορεί να έχει αντίκτυπο στη σύσταση της μικροχλωρίδας. Η διαταραχή της εντερικής μικροχλωρίδας, μπορεί να προκύψει από παράγοντες πέραν των διατροφικών. Ενδεικτικά, η τήρηση των ατομικών κανόνων υγιεινής όπως το πλύσιμο των χεριών (Jefferson et al. 2011) , αλλά και η συχνή χορήγηση αντιβιοτικής θεραπείας λόγω λοιμώξεων (Moro et al. 2009) που πιθανώς να προκύπτουν από παράληψη τήρησης αυτών των κανόνων ή/ και από ελλειπείς προφυλάξεις σε δυσμενείς συνθήκες (πχ. κρύο), ενδεχομένως να αντανάκλα την ενασχόληση των γονέων με τα παιδιά.

Για τα παιδιά με ASD, οι παρατηρούμενες συσχετίσεις αφορούν στα θεωρούμενα ευεργετικά βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας και φαίνεται να σχετίζονται με τα επιμέρους χαρακτηριστικά της βαρύτητας της συμπτωματολογίας των διαταραχών. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ότι όσο περισσότερα γεύματα καταναλώνει το παιδί ανήσυχο, τόσο λιγότερα μπιφιδοβακτήρια και όσο περισσότερα γεύματα της ημέρας καταναλώνει σε δημόσιους χώρους, τόσο περισσότεροι λακτοβάκιλλοι εντοπίζονται στα κόπρανά του. Για τις επιμέρους

διατροφικές συμπεριφορές αλλά και για τους επιμέρους μικροοργανισμούς οι διαφορές μεταξύ των παιδιών με την κλασσική μορφή του αυτισμού και των παιδιών με κάποια άλλη διαταραχή του φάσματος, ήταν σαφής. Τα παιδιά με την κλασσική μορφή καταναλώνουν διπλάσιο ποσοστό των γευμάτων τους σε δημόσιους χώρους και τα παιδιά με κάποια από τις άλλες διαταραχές είναι σε διπλάσιο ποσοστό των γευμάτων ανήσυχα, συγκριτικά με τη άλλη υποομάδα των παιδιών με ASD. Επίσης, τα παιδιά με αυτισμό είχαν υψηλότερα επίπεδα μπιφιδοβακτηρίων και λακτοβακίλων. Η διαφορά αυτή που παρατηρείται μεταξύ των υποομάδων μπορεί να εξηγηθεί λαμβάνοντας υπόψη την κινητοποίηση των γονέων ανάλογα με τη βαρύτητα της συμπτωματολογίας, καθώς και τις διαφορές στη φαρμακευτική αγωγή και άλλες θεραπείες που ενδεχομένως να επιχειρούνται από τους γονείς ή/ και να προτείνονται από τους επιστήμονες υγείας. Ένα παιδί που αρχικά διαγιγνώσκεται με έντονη συμπτωματολογία και κατατάχθηκε στην κλασσική μορφή του αυτισμού, είναι πιο πιθανό να λαμβάνει φαρμακευτική (Fankhauser et al. 1992, Masi et al. 2009) ή να ακολουθεί κάποια συμπεριφοριστική θεραπεία (Virués-Ortega 2010), γεγονός που πιθανώς να οδηγούσε σε λιγότερη ανησυχία, περισσότερη έκθεση στο κοινωνικό περιβάλλον και λιγότερα διατροφικά προβλήματα. Από το σύνολο του δείγματος, πάντως, φαίνεται ότι στα παιδιά με ASD οι τύποι των γευμάτων δεν συσχετίζονται με την εντερική μικροχλωρίδα, όπως συμβαίνει στα τυπικά αναπτυσσόμενα παιδιά. Η παρατήρηση αυτή ίσως να οφείλεται στο ότι τα διαφορετικά επίπεδα ορισμένων μικροοργανισμών της ήδη εγκατεστημένης μικροχλωρίδας από μη διαιτητικούς παράγοντες, ενδεχομένως να υπερκαλύπτουν την επίδραση των διατροφικών επιλογών.

Παρόλο που τα ερευνητικά πρωτόκολλα με σχεδιασμό παρεμφερή με αυτόν της παρούσας μελέτης, ενδεχομένως να συνεισφέρουν αρκετά στη γνώση αναφορικά με την εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών με ASD, εντούτοις, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να διεξαχθούν επιπλέον μελέτες, προκειμένου να αποσαφηνιστεί η αιτιολογική σχέση, εάν και εφόσον αυτή υπάρχει, μεταξύ της εντερικής μικροχλωρίδας και της συμπτωματολογίας των ASD, καθώς η ύπαρξη ή μη διαφορών δεν αναιρεί την πιθανή διαφορετική ευαισθησία του υποπληθυσμού αυτού.

Μέχρι σήμερα, από όσα γνωρίζουμε, δεν είχε μελετηθεί ο τρόπος, η κοινωνική συναναστροφή και οι παράλληλες δραστηριότητες που συνοδεύουν την ημερήσια κατανάλωση των γευμάτων

σε παιδιά με ASD. Έτσι, αυτό επιχειρείται για πρώτη φορά, στην παρούσα εργασία, ενώ επιπλέον διερευνώνται και οι πιθανές συσχετίσεις με την εντερική μικροχλωρίδα. Ίσως το μεγαλύτερο πλεονέκτημα αυτού του πρωτοκόλλου, να αποτελεί το γεγονός ότι συμπεριλήφθηκαν διαφορετικές υποομάδες τόσο των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών (παιδιά με αδέρφια με ASD και χωρίς αδέρφια με ASD), όσο και των παιδιών με ASD (παιδιά με κλασσική μορφή αυτισμού και παιδιά με κάποια άλλη ASD), που επέτρεψαν την περαιτέρω και ορθότερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Επιπροσθέτως, αναφορικά με τη συλλογή των δεδομένων για τους παράγοντες διατροφικής συμπεριφοράς χρησιμοποιήθηκε κατάλληλα διαμορφωμένο τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων, όπου απλώς καταγράφηκαν από τους γονείς οι συνθήκες γύρω από κάθε γέυμα. Με τον τρόπο, αποφευχθήκαν κατά το δυνατό, σφάλματα που έγκειται στις αντιλήψεις των γονέων και συχνά προκαλούν σύγχυση στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα θα πρέπει να αξιολογηθούν λαμβάνοντας υπόψη και τους περιορισμούς του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Αρχικά, η επιλογή του δείγματος δεν ήταν αντιπροσωπευτική του πληθυσμού παιδιών με ASD, αλλά ούτε και των τυπικά αναπτυσσόμενων παιδιών. Σε συνδυασμό μάλιστα με το μικρό αριθμό του δείγματος τα αποτελέσματα δεν μπορούν να γενικευθούν στους αντίστοιχους πληθυσμούς. Δεδομένου, όμως, του σχετικά χαμηλού επιπολασμού των ASD καθώς και της δυσκολίας στη συλλογή δείγματος κοπράνων από τα παιδιά αυτά, η συνεισφορά της μελέτης μπορεί να θεωρηθεί αξιοσημείωτη. Εντούτοις, καμία μελέτη για τη εντερική μικροχλωρίδα παιδιών με ASD μέχρι σήμερα δεν έχει πραγματοποιηθεί σε αντιπροσωπευτικό δείγμα, ενώ στην πλειονότητα των μελετών ο αριθμός των συμμετεχόντων είναι συγκρίσιμος με αυτόν της παρούσας μελέτης (Kerwin et al. 2005). Επιπροσθέτως, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, δεδομένου ότι η φύση του ερευνητικού πρωτοκόλλου (συγχρονική μελέτη), αδυνατούν να αναδείξει οποιαδήποτε σχέση αιτίας/ αποτελέσματος μεταξύ των επιμέρους μεταβλητών. Τα παραπάνω αποτελούν υποθέσεις και πιθανές εξηγήσεις, βασισμένες στην περιορισμένη γνώση που υπάρχει μέχρι σήμερα για το υπό μελέτη θέμα, καθώς και την προσωπική κρίση.

Επιπλέον, να γίνει αναφορά σε δύο μεθοδολογικές παρατηρήσεις οι οποίες όμως δεν αποτελούν κατ' ανάγκη περιορισμούς της έρευνας αυτής. Πρώτον, το μέγεθος των τυπικών αποκλίσεων στις παραμέτρους της διατροφικής συμπεριφοράς ήταν ιδιαίτερα μεγάλο και σε ορισμένες περιπτώσεις υπερέβαινε τη μέση τιμή, παρατήρηση που υποδεικνύει την ευρεία

διασπορά των παρατηρήσεων και επομένως τη μεγάλη ποικιλία στο ποσοστό των γευμάτων με την εκάστοτε συμπεριφορά. Αντίστοιχη παρατήρηση αναφέρεται και από τους Martin et al. 2008 για το σύνολο των διατροφικών προβλημάτων που εξέτασαν. Και δεύτερον, λόγω της διερευνητικής φύσης της μελέτης σχολιάστηκε και η τάση ορισμένων μη στατιστικά σημαντικά αποτελεσμάτων. Άλλωστε, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων καθορίζεται περισσότερο από τους συντελεστές συσχέτισης παρά από το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (Cohen, 1994).

Μέχρι σήμερα, οι κανόνες που διέπουν και καθορίζουν τη ζωή γύρω και μέσα στον άνθρωπο είναι σε πολύ μικρό βαθμό κατανοητές (Blaser & Falkow 2009). Επιπλέον ερευνητική δραστηριότητα, απαιτείται σε όλους τους τομείς προκειμένου να διερευνηθεί η πολυπλοκότητα της ανθρώπινης οντότητας, με ένα από τα χαρακτηριστικότερα παραδείγματα, αυτό των ανθρώπων με διαταραχές του φάσματος του αυτισμού.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams JB, Audhya T, Vogelaar T. (2003) "Nutritional abnormalities in autism and effects of nutritional supplementation: 2003 conference proceedings of the National Autism Society of America, Pittsburgh, PA, July 16–20
- Adams & Holloway C. (2004) "Pilot study of a moderate dose multivitamin/ mineral supplement for children with autistic spectrum disorder" *J Altern Complement Med* 10:1033–1039.
- Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. (2011a) "Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity." *BMC Gastroenterol.* 16;11:22.
- Adams, T Audhya, S McDonough-Means, RA Rubin, D Quig, E Geis, E Gehn, M Loresto, J Mitchell, S Atwood, S Barnhouse, W Lee (2011b) "Nutritional and metabolic status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity" *Nutrition & Metabolism* 8:34
- 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 and Developmental Disorders*, 31(5), 505–511.
- Andersson, I. (1997). Eating habits, weight reduction and long-term treatment results in obese men. The "Gustaf" study. Doctoral thesis from the Obesity Unit and Health Behaviour Research, Department of medicine, Huddinge Hospital, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.
- American Academy of Pediatrics, Council on Communications and Media (2010). Policy statement-media education. *Pediatrics* 126: 1012–7.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition (DSM-IV). Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 1994
- Archer, L. A., Rosenbaum, P. L., & Streiner, D. L. (1991). The children's eating behavior inventory. *Journal of Pediatric Psychology*, 16, 629–642.
- Badawi N, Dixon G, Felix JF, et al. (2006) "Autism following a history of newborn encephalopathy: more than a coincidence?" *Dev Med Child Neurol.* 48:85–89
- Bailey A, Phillips W, Rutter M. (1996) "Autism: towards an integration of clinical, genetic, neuropsychological, and neurobiological perspectives. *J Child Psychol Psychiatry.*" 37:89–126
- Ball LK, Ball R, Pratt RD. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. *Pediatrics* 2001;107:1147–1154.
- Bandini LG, Anderson SE, Curtin C, Cermak S, Evans EW, Scampini R, Maslin M, Must A (2010) "Food selectivity in children with autism spectrum disorders and typically developing children." *J Pediatr.* 157(2):259–64.
- Barrett-Connor, E. (1991). Nutrition epidemiology: How do we know what they ate? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54, 182S–187S.
- Benvenuto A, Manzi B, Alessandrelli R, Galasso C, Curatolo P. (2009) "Recent advances in the pathogenesis of syndromic autisms." *Int J Pediatr.*
- Black, C., Kaye, J. A., & Jick, H. (2002). "Relation of childhood gastrointestinal disorders to autism: Nested case-control study using data from the UK General Practice Research Database." *British Medical Journal*, 325, 419–421.
- Blaser MJ & Falkow S. (2009) "What are the consequences of the disappearing human microbiota?" *Nat Rev Microbiol* 7(12):887–94.
- Bohm HV & Stewart MG (2009) "Brief report: on the concordance percentages for autistic spectrum disorder of twins" *J Autism Dev Disord* 39:806–808
- Bolte ER. (1998) "Autism and *Clostridium tetani*" *Med Hypotheses* 51:133–44.
- Bölte S, Ozkara N, Poustka F. (2002) "Autism spectrum disorders and low body weight: is there really a systematic association?" *Int J Eat Disord.* ;31(3):349–51.
- Borriello SP, Larson HE, Welch AR, Barclay F, Stringer MF, Bartholomew BA. (1984) "Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: a possible cause of antibiotic associated diarrhoea." *Lancet* i : 305–7.
- Bowers L. (2002) "An audit of referrals of children with autistic spectrum disorder to the dietetic service." *J Hum Nutr Diet.* 15:141–144.
- Budd KS, McGraw TE, Farbisz R et al.(1992) "Psychosocial concomitants of children's feeding disorders" *J. Pediatr Psychol.* 17: 81–94.)
- Buie T, Campbell DB, Fuchs GJ 3rd, Furuta GT, Levy J et al (2010). "Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report". *Pediatrics.* 125 Suppl 1:S1–18.
- Burklow, K. A., Phelps, A. N., Schultz, J. R., McConnell, K., & Rudolph, C. (1998). Classifying complex feeding disorders. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 27, 143–147.
- Carman RJ. (1997) "*Clostridium perfringens* in spontaneous and antibiotic-associated diarrhoea of man and other animals." *Rev Med Microbiol* 1997; 8 (Suppl): S43–5.

- Centers for Disease Control and Prevention (2009) Autism information center. http://www.cdc.gov/ncbddd/autism/faq_prevalence.htm
- Cermak SA, Curtin C, Bandini LG. (2010) "Food selectivity and sensory sensitivity in children with autism spectrum disorders" *J Am Diet Assoc.* 110(2):238-46.
- Chakrabarti S. & Fombonne E. (2001) "Pervasive developmental disorders in preschool children" *Journal of the American Medical Association* 285: 3093-9
- Chakrabarti S & Fombonne E. (2005) "Pervasive developmental disorders in preschool children: confirmation of high prevalence" *Am J Psychiatry.* 162(6):1133-41.
- Charles S. Thomas, Phelan AT (2002) "MMR and autism: an overview of the debate to date" *Br J Nurs* 11(9):621-5.
- Chen JR, Hsu SF, Hsu CD, et al. (2004) "Dietary patterns and blood fatty acid composition in children with attention-deficit hyperactivity disorder in Taiwan." *J Nutr Biochem* 15:467-472.
- Chess S. (1977) "Follow-up report on autism in congenital rubella." *Journal of Autism and Childhood Schizophrenia* 7:69-81
- Chonchaiya W, Nuntanarumit P, Pruksananonda C. (2011) "Comparison of television viewing between children with autism spectrum disorder and controls." *Acta Paediatr.* 100(7):1033-7
- Christakis DA. (2009) "The effects of infant media usage: what do we know and what should we learn?" *Acta Paediatr.* 98(1):8-16
- Coenen C, Wegener M, Wedmann B, Schmidt G, Hoffmann S. (1992) "Does physical exercise influence bowel transit time in healthy young men?" *Am J Gastroenterol.* 87:292-295.
- Cohen, J. (1994). The earth is round ($p < .05$). *American Psychologist*, 49, 997-1003.
- Comstock LE. (2007) "Microbiology: the inside story" *Nature.* 448(7153):542-4.
- Cornish (1998) "A balanced approach towards healthy eating in autism" *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 11, 501-509
- Cummings JH, Macfarlane GT. (1991) "The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon" *J Appl Bacteriol.* 70(6):443-59.
- Currenti S.A. (2010) "Understanding and Determining the Etiology of Autism" *Cell Mol Neurobiol* 30:161-171
- DeGrace BW. (2004) "The everyday occupation of families with children with autism." *Am J Occup Ther.* 2004 Sep-Oct;58(5):543-50.
- DeMagistris L, Familiari V, Pascotto A, Sapone A, Frolli A, Iardino P, Carteni M, De Rosa M, Francavilla R, Riegler G, Militerni R, Bravaccio C. (2010) "Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives." *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 51(4):418-24.
- De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, Collini S, Pieraccini G, Lionetti P. (2010) "Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa." *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(33):12107-12111
- Drummond SE, Crombie NE, Cursiter MC, Kirk TR. (1998) "Evidence that eating frequency is inversely related to body weight status in male, but not female, non-obese adults reporting valid dietary intakes." *Int J Obes Relat Metab Disord.* 22(2):105-12.
- Dunn, W. (1999). *The Sensory Profile: User's manual*. San Antonio, TX: Psychological Corporation.
- Edelson S (2010) "Parent Ratings of Behavioral Effects of Biomedical Interventions." Autism Research Institute, Publication 34, San Diego, CA;
- Elder (2008) "The Gluten-Free, Casein-Free Diet in Autism: An Overview With Clinical Implications" *Nutr Clin Pract* 23: 583
- Emond, Pauline Emmett, Colin Steer, Jean Golding (2010) "Autism Spectrum Disorders; Feeding Symptoms, Dietary Patterns, and Growth in Young Children With" *Pediatrics* 126:337-342
- Evans, D., Canavera, K., Kleinpeter, F., Maccubbin, E., & Taga, K. (2005). The fears, phobias, and anxieties of children with autism spectrum disorders and Down syndrome: Comparisons with developmentally and chronologically age matched children. *Child Psychiatry and Human Development*, 36(1), 3-26.
- European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. Directorate C - Public Health and Risk Assessment C2 - Health information "Some elements about the prevalence of Autism Spectrum Disorders (ASD) in the European Union" Luxembourg, February 2005. (http://ec.europa.eu/health/archive/ph_information/dissemination/diseases/autism_1.pdf)
- Fankhauser MP, Karumanchi VC, German ML, Yates A, Karumanchi SD. (1992) "A double-blind, placebo-controlled study of the efficacy of transdermal clonidine in autism." *J Clin Psychiatry.* 53(3):77-82.
- Faras H, Nahed Al Ateeqi, L. Tidmarsh (2010) "Autism Spectrum Disorders" *Ann Saudi Med* 30 (4): 295-300

- Favier CF, De Vos WM, Akkermans ADL. (2003) "Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies." *Anaerobe*;9:219–229.
- Field, M Garland and K Williams (2003) "Correlates of specific childhood feeding problems" *J. Paediatr. Child Health* 39, 299–304
- Filipek PA, Juarenk J, Nguyen MT, et al. (2004) "Relative carnitine deficiency in autism" *J Autism Dev Disord* 34:615–623.
- Finegold, S. M., Attebery, H. R. & Sutler, V. L. (1974) "Effect of diet on human fecal flora: comparison of Japanese and American diets" *Am. J. Clin. Nutr.* 27: 1456-1469.
- Finegold, S.M., Sutter, V.L., and Mathisen, G.E. (1983), Normal indigenous intestinal flora, in *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*, Hentges, D.J., ed., Academic Press, New York, NY, p. 3.
- Finegold, S. M., Molitoris, D., Song, Y. et al (2002). Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 35 (Suppl. 1), S6–S16.
- Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, Youn E, Summanen PH, Granpeesheh D, Dixon D, Liu M, Molitoris DR, Green JA 3rd. (2010) "Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children." *Anaerobe*. 16(4):444-53.
- Finegold SM. (2011) "Desulfovibrio species are potentially important in regressive autism." *Med Hypotheses*. 77(2):270-4.
- Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P (2007). "Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health." *Environ Microbiol.* 9(5):1101-11.
- Fombonne E, Zakarian R, Bennett A, Meng L, McLean-Heywood D (2006) "Pervasive developmental disorders in Montreal, Quebec, Canada: prevalence and links with immunizations" *Pediatrics* 118(1):e139-50.
- Franks AH, Harmsen HJ, Raangs GC, Jansen GJ, Schut F, Welling GW (1998) "Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes." *Appl Environ Microbiol.* 64(9):3336-45.
- Geier DA, Geier MR. An evaluation of the effects of thimerosal on neurodevelopmental disorders reported following DTP and Hib vaccines in comparison to DPTH vaccine in the United States. *J Toxicol Environ Health* 2006;69:1481–1495.
- Gibson & Roberfroid MB. (1994) "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics." *J Nutr.* 125(6):1401-12.
- Glasson EJ, Bower C, Petterson B, De Klerk N, Chaney G, Hallmayer JF. (2004) "Perinatal factors and the development of autism: a population study" *Arch Gen Psychiatry.* 61:618–627
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1992), Probiotics for humans, in *Probiotics. The Scientific Basis*, Fuller, R., ed., Chapman and Hall, London, p. 355.
- Hammons S, Oh PL, Martínez I, Clark K, Schlegel VL, Sitorius E, Scheideler SE, Walter J. (2010) "A small variation in diet influences the Lactobacillus strain composition in the crop of broiler chickens." *Syst Appl Microbiol.* 33(5):275-81.
- 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* 30: 61–67.
- Hayashi, H., M. Sakamoto, and Y. Benno. (2002) "Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods." *Microbiol. Immunol.* 46:535–548.
- Heavey PM & Rowland IR (1999) "The gut microflora of the developing infant: microbiology and metabolism" *Microbial Ecology in Health and Disease* 11, 75–83.
- Hébuterne X. (2003) 'Gut changes attributed to ageing: effects on intestinal microflora.' *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 6(1):49-54
- Heijtz RD, Wang S, Anuar F, Qian Y, et al. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 3047–52.
- Hentges DJ. (1980) "Does diet influence human fecal microflora composition?" *Nutr Rev.* 38(10):329-36.
- Herbert MR et al (2006) Autism and environmental genomics. *NeuroToxicology* 27:671–684
- Hill, E. (2004). Executive dysfunction in autism. *TRENDS in Cognitive Sciences*, 8(1), 26–32.
- Iarocci, & McDonald, J. (2006). Sensory integration and the perceptual experience of persons with autism [Electronic version]. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 36(1), 77–90.
- Institute of Medicine. (2001). Dietary reference intakes: Applications in dietary assessment. Washington, DC: National Academy Press.
- Ivanov & Littman DR. (2011). Modulation of immune homeostasis by commensal bacteria. *Curr Opin Microbiol* 14: 106–14.

- Jefferson T, Del Mar CB, Dooley L, Ferroni E, Al-Ansary LA, Bawazeer GA, van Driel ML, Nair S, Jones MA, Thorning S, Conly JM. (2011) "Physical interventions to interrupt or reduce the spread of respiratory viruses. *Cochrane Database Syst Rev*. 6;(7):CD006207.
- Johnson CP, Myers SM; American Academy of Pediatrics Council on Children With Disabilities (2007) "Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders." *Pediatrics*. 120(5):1183-215.
- Johnson, Benjamin L. Handen, Meg Mayer-Costa, Kelley Sacco (2008) "Eating Habits and Dietary Status in Young Children with Autism" *J Dev and Phys Disabil* 20: 437-448
- Just, M. A., Cherkassky, V. L., Keller, T. A., & Minshew, N. J. (2004). Cortical activation and synchronization during sentence comprehension in high-functioning autism: Evidence of underconnectivity. *Brain*, 127(8), 1811–1821.
- Kandler, O. and Weiss, N. (1986), Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL, in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, ME., and Holt, J.G., eds., Williams and Wilkins, Baltimore, MD, p. 1209.
- Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child* 1943;2:217-250.
- Kau, PP. Ahern, NW. Griffin, AL. Goodman, JI. Gordon (2011) "Human nutrition, the gut microbiome and the immune system" *Nature* 474:327-36
- Kennedy MJ, Volz PA, Edwards CA, Yancey RJ. (1987) "Mechanisms of association of *Candida albicans* with intestinal mucosa" *J Med Microbiol*. 24(4):333-41.
- Kerwin, M. E., Eicher, P. S., & Gelsinger, J. (2005). Parental report of eating problems and gastrointestinal symptoms in children with pervasive developmental disorders. *Children's Health Care*, 34(3), 217–234.
- Kidd (2002) "Autism, An Extreme Challenge to Integrative Medicine. Part 1: The Knowledge Base" *Altern Med Rev* 7(6):472-499
- Klin A. (2003) "Asperger syndrome: an update" *Rev Bras Psiquiatr* 25;103-9
- Koenig, J. E. et al. (2011) "Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome." *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 108, 4578–4585
- Kuschner, E., Bennetto, L., & Silverman, L. (2005). Gustatory function and food preferences in high-functioning autism. *International Meeting for Autism Research*. (Abstract No. P3A.1.13) 118–119
- Landrigan PJ. (2010) "What causes autism? Exploring the environmental contribution." *Curr Opin Pediatr*. 22(2):219-25.
- Lane, S. J., Miller, L. J., & Hanft, B. E. (2000). Toward a consensus in terminology in sensory integration theory and practice: Part 2: Sensory integration patterns of function and dysfunction. *Sensory Integration Special Interest Section*, 23(2), 1–3.
- Larriba G, Rubio Coque JJ, Ciudad A, Andaluz E (2000) "Candida albicans molecular biology reaches its maturity." *Int Microbiol* 3:247–252
- Laud, R. B., Girolami, P. A., Boscoe, J. H., & Gulotta, C. S. (2009). Treatment outcomes for severe feeding problems in children with autism spectrum disorder. *Behavior Modification*, 33, 520–536.
- Lenoir P, Bodier C, Desombre H, Malvy J, Abert B, Ould Taleb M, Sauvage D. (2009) "Prevalence of pervasive developmental disorders. A review" *Encephale*. 35(1):36-42.
- Levy & Hyman (2005) "Novel treatments for autistic spectrum disorders." *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 11(2):131-42.
- Levy SE, Mandell DS, Schultz RT. (2009) "Autism" 7;374:1627-38.
- Lim CS, Rosli R, Seow HF, Chong PP. (2011) "Candida and invasive candidiasis: back to basics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. [Epub ahead of print]
- Lockner DW, Crowe TK, Skipper BJ. (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*. 108(8):1360-3.
- Lopez, B. R., Lincoln, A. J., Ozonoff, S., & Lai, Z. (2005). Examining the relationship between executive functions and restricted, repetitive symptoms of autistic disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 35(4), 445–460.
- Lord C, Risi S. (1998) Frameworks and methods in diagnosing autism spectrum disorders. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 4:90-96
- Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ (2007) "Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine" *J Appl Microbiol*. 102(5):1197-208.
- Mahoney, J.L. & Stattin, H. (2000) 'Leisure Activities and Adolescent Antisocial Behavior: The Role of Structure and Social Context', *Journal of Adolescence* 23: 113–127.
- Mai V, Colbert L, Berrigan D, et al. (2002) Effects of calorie restriction and diet composition on intestinal carcinogenesis in *ApcMin* (Min) mice. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11:1184S.
- Mai V. (2004) "Dietary modification of the intestinal microbiota." *Nutr Rev*. 62(6 Pt 1):235-42.

- Mai V, Katki HA, Harmsen H, Gallaher D, Schatzkin A, Baer DJ, Clevidence B (2004) "Effects of a controlled diet and black tea drinking on the fecal microflora composition and the fecal bile acid profile of human volunteers in a double-blinded randomized feeding study." *J Nutr.* 134(2):473-8.
- Martins Y, Young RL, Robson DC. (2008) "Feeding and eating behaviors in children with autism and typically developing children" *J Autism Dev Disord.* 38(10):1878-87.
- Martirosian G, Ekiel A, Aptekorz M, Wiechula B, Kazek B, Jankowska-Steifer E, Jóźwiak J, Moskalewski (2011) "Fecal lactoferrin and *Clostridium* spp. in stools of autistic children. *Anaerobe.* 17(1):43-5.
- Masi G, Cosenza A, Millepiedi S, Muratori F, Pari C, Salvadori F. (2009) "Aripiprazole monotherapy in children and young adolescents with pervasive developmental disorders: a retrospective study." *CNS Drugs.* 23(6):511-21.
- McClane B.A., Lyerly D.M., Wilkins T.D. (2000) "Enterotoxigenic *Clostridium* perfringens type A and *Clostridium difficile*." *Gram positive Pathogens.* ASM press Washington. DC. pp:551-562
- McClane BA (2001) "The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions." *Toxicon.* 39(11):1781-91.
- McCracken VJ, Simpson JM, Mackie RI, Gaskins HR. Molecular ecological analysis of dietary and antibiotic-induced alterations of the mouse intestinal microbiota. *J Nutr.* 2001;131:1862–1870.
- McDonel J. L. (1980) "Clostridium perfringens toxins (type A, B, C, D, E)" *Pharmacol. Ther.* 10:617-635.
- McDonel, J. L. 1986. Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D and E, p. 477-517. In F. Dorner and J. Drews (ed.), *Pharmacology of bacterial toxins.* Pergamon Press, Oxford.
- MacFabe DF, Cain DP, Rodriguez-Capote K, et al. (2007) Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behav Brain Res* 176:149–69.
- MacFarlane G.T. & Gibson G.R. (1997) Carbohydrate fermentation, energy transduction and gas metabolism in the human large intestine. In *Gastrointestinal Microbiology*, Vol. 1. Mackie, R.I., and White, B.A. (eds). London, UK: Chapman and Hall, pp. 269–318.
- Medical Research Council (2001) *MRC Review of Autism Research: Epidemiology and Causes.* MRC, London.
- Minshew, N. J., Sweeney, J., & Luna, B. (2002). Autism as a disorder of complex information processing and underdevelopment of neocortical systems. *Molecular Psychiatry*, 7, S14–S15.
- Moore WE & Holdeman LV. (1972) "Identification of anaerobic bacteria" *Am J Clin Nutr.* 25(12):1306-13.
- Moro ML, Marchi M, Gagliotti C, Di Mario S, Resi D; "Progetto Bambini e Antibiotici [ProBA]" Regional Group (2009) "Why do paediatricians prescribe antibiotics? Results of an Italian regional project" *BMC Pediatr.* 6:9:69.
- Mountzouris KC, McCartney AL, Gibson GR. (2002) "Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation." *Br J Nutr.* 87(5):405-20.
- Mousain-Bosc M, Roche M, Polge A, et al. (2006) "Improvement of neurobehavioral disorders in children supplemented with magnesium- vitamin B6". *Pervasive developmental disorder— autism. Magnes Res* 19:53–62
- Mouridsen SE, Rich B, Isager T. (2002) "Body mass index in male and female children with infantile autism." *Autism.* 6(2):197-205.
- Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. (2004) "The genetics of autism." *Pediatrics.* 113(5)
- Munk, D. D., & Repp, A. C. (1994). Behavioral assessment of feeding problems of individuals with severe disabilities. *Journal of Applied Behavior Analysis*, 27, 241–250.
- Nadon G, Feldman DE, Dunn W, Gisel E. (2011) "Mealtime problems in children with autism spectrum disorder and their typically developing siblings: a comparison study." *Autism.* 15(1):98-113. 18
- Neut C, Bezirtzoglou E, Romond C, Beerens H, Delcroix M, Noel AM (1987) "Bacterial colonization of the large intestine in newborns delivered by cesarean section." *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 266(3-4):330-7.
- Ornitz, E. M., & Ritvo, E. R. (1985). Perceptual inconstancy in early infantile autism. In A. M. Donnellan (Ed.), *Classic readings in autism* (pp. 142–177). New York: Teachers College Press. (Reprinted from *Archives of General Psychology*, 18 (January, 1968), pp. 76–98.
- Orsmond, G.I., Krauss, M.W. & Seltzer, M.M. (2004) 'Peer Relationships and Social and Recreational Activities among Adolescents and Adults with Autism', *Journal of Autism and Developmental Disorders* 34: 245–256.
- Orsmond GI, Kuo HY. (2011) "The daily lives of adolescents with an autism spectrum disorder: Discretionary time use and activity partners." *Autism.* [Epub ahead of print]
- Ozonoff, S., & Jensen, J. (1999). Brief report: Specific executive function profiles in three neurodevelopmental disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 29(2), 171–177.
- Parker JC Jr, McCloskey JJ, Knauer KA (1976) "Pathobiologic features of human candidiasis. A common deep mycosis of the brain, heart and kidney in the altered host." *Am J Clin Pathol* 65:991–1000

- Parker SK, Schwartz B, Todd J, Pickering LK. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: A critical review of published original data. *Pediatrics* 2004;114:793–804.
- Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. (2005) Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol* 54:987–91.
- Phelan AT. (2002) “MMR and autism: an overview of the debate to date.” *Br J Nurs*. 22;11(9):621-5.
- Porter & Rettger (1940) “Influence of Diet on the Distribution of Bacteria in The Stomach, Small Intestine and Cecum of the White Rat *J Infect Dis*. 66(2): 104-110
- Provost B, Crowe TK, Osbourn PL, McClain C, Skipper BJ. (2010) “Mealtime behaviors of preschool children: comparison of children with autism spectrum disorder and children with typical development.” *Phys Occup Ther Pediatr*. 30(3):220-33.
- Raiten, D. J., & Massaro, T. (1986). Perspectives on the nutritional ecology of autistic children. *Journal of Autism and Developmental Disabilities*, 16(2), 133–143.
- Rambaud, Buts J.P, Corthier G, Flourié B. (2006) “Gut microflora: digestive physiology and pathology” John Libbey Eurotext ISBN 2-7420-0585-4
- Reighelt & Knivsberg (2009) “The possibility and probability of a gut-to-brain connection in autism” *Annals of Clinical Psychiatry* 21(4):205-211
- Reiss A.L. & Dant C.C. (2003) “The behavioral neurogenetics of Fragile X syndrome: analyzing gene-behavior relationships in child developmental psychopathologies.” *Development and Psychopathology* 15: 927-68
- Rogers, S., Hepburn, S., & Wehner, E. (2003). Parent reports of sensory symptoms in toddlers with autism and those with other developmental disorders. *Journal of Autism and Developmental Disabilities*, 33(6), 631–642.
- Rood JJ & Cole ST.(1991) “Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*.” *Microbiol Rev*.55(4):621-48
- Rutter M. (2004) “Incidence of autism spectrum disorders: changes over time and their meaning.” *Acta Paediatr*. 94(1):2-15.
- Rutter M (2005) “Aetiology of autism: findings and questions.” *J Intellect Disabil Res*. 49(Pt 4):231-8.
- Ryan KJ, Ray CG (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. ISBN 0-8385-8529-9.
- Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, et al. (2000) Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol* 15:429–35.
- Scardovi, V. (1986), Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924, 472AL. In *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Sneath, P.H.A., Sharpe, M.E., and Holt, J.G., eds., Williams and Wilkins, Baltimore, MD, p. 1418
- Smith L.D. (1979) “Virulence factors of *Clostridium perfringens*.” *Rev. Infect. Dis*. 1:254-260.
- Schreck, K. A., Williams, K., & Smith, A. F. (2004). A comparison of eating behaviors between children with and without autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 34(4), 433–438.
- Schreck, K. A., & Williams, K. (2006). Food preferences and factors influencing food selectivity for children with autism spectrum disorders [Electronic version]. *Research in Developmental Disabilities*, 27(4), 353–363.
- Sghir A, Gramet G, Suau A, Rochet V, Pochart P, Dore J (2000) “Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization.” *Appl Environ Microbiol*.
- Shen Q, Chen YA, Tuohy KM (2010) “A comparative in vitro investigation into the effects of cooked meats on the human faecal microbiota” *Anaerobe*. 16(6):572-7.
- Song Y, Liu C, Finegold SM. (2004) Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl Environ Microbiol* 70:6459–65.
- Stark PL & Lee A (1982) “The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life” *Journal of Medical Microbiology* 15, 189–203.
- Strambi M, Longini M, Hayek J, et al. (2006) “Magnesium profile in autism.” *Biol Trace Elem Res* 109:97–104.
- Sudbery P, Gow N, Berman J (2004) “The distinct morphogenic states of *Candida albicans*.” *Trends Microbiol* 12:317–324
- Swigert, N. B. (1998). The source for pediatric dysphagia. East Moline, IL: LinguiSystems.
- Tannock GW (2002) “The bifidobacterial and *Lactobacillus* microflora of humans.” *Clin Rev Allergy Immunol*. 22(3):231-53. Review. No abstract available.
- Tomchek SD, Dunn W (2007) “Sensory processing in children with and without autism: A comparative study using the Short Sensory Profile.” *Am J Occup Ther*. 61:190-200.
- Trebichavsky I, Rada V, Splichalova A, Splichal I (2009).”Cross-talk of human gut with bifidobacteria.” *Nutr Rev*.67(2):77-82.
- Turner, M. (1999). Annotation: Repetitive behavior in autism: A review of psychological research. *Journal of Child Psychology & Psychiatry*, 40(6), 839–849.

- Twachtman-Reilly J, Amaral SC, Zebrowski PP (2008) “.Addressing feeding disorders in children on the autism spectrum in school-based settings: physiological and behavioral issues.” *Lang Speech Hear Serv Sch.* 39(2):261-72
- Τριχοπούλου Α, Γεωργιά Κ. “Πίνακες Σύνθεσης Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών”. 2004:(3η έκδοση). Αθήνα, Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.
- Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC.(2011) “Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components.” *J Nutr.*;141(5):769-76.
- Vaishnavi, Kaur, Singh (2005) “Clostridium perfringens type A & antibiotic associated diarrhoea” *Indian J Med Res* 122, July 2005, pp 52-56
- Vaughan EE, Heilig HG, Ben-Amor K, et al. Diversity, vitality and activities of intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria assessed by molecular approaches. *FEMS Microbiol Rev.* 2005;29:477–490.
- Virués-Ortega J. (2010) “Applied behavior analytic intervention for autism in early childhood: meta-analysis, meta-regression and dose-response meta-analysis of multiple outcomes.” *Clin Psychol Rev.* 30(4):387-99.
- Volkmar, F. R., & Wiesner, L. A. (2004). *Topics in autism: Healthcare for children on the autism spectrum: A guide to medical, nutritional, and behavioral issues.* Bethesda, MD: Woodbine House.
- Volkmar F, Chawarska K, Klin A. (2005) “Autism in infancy and early childhood.” *Annu Rev Psychol.* 56:315–336
- Volkert & Vaz PC (2010) “Recent studies on feeding problems in children with autism” *J Appl Behav Anal.* 43(1):155-9.
- Wallace TC, Guarner F, Madsen K, Cabana MD, Gibson G, Hentges E, Sanders ME. (2011) “Human gut microbiota and its relationship to health and disease” *Nutr Rev.*69(7):392-403
- Williams, P. G., Dalrymple, N., & Neal, J. (2000). Eating habits of children with autism. *Pediatric Nursing*, 26(3), 259–264.
- Williams, K., Gibbons, B., & Schreck, K. (2005). Comparing selective eaters with and without developmental disabilities. *Journal of Developmental and Physical Disabilities*, 17(3), 299–309.
- Wing, L. (1980). *Autistic children: A guide for parents and professionals.* Secaucus, NJ: The Citadel Press. (Original work published 1972)
- Wing L, Leekam SR, Libby SJ, Gould J, Larcombe M. (2002) “ The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use.” *J Child Psychol Psychiatry.* 43(3):307-25.
- World Health Organisation . *International Statistical Classification of Diseases and related Health Problems*, 10th Revision. World Health Organisation 2007
- Yap, M Angley, KA. Veselkov, E Holmes, JC. Lindon, JK. Nicholson (2010) “Urinary Metabolic Phenotyping Differentiates Children with Autism from Their Unaffected Siblings and Age-Matched Controls” *Journal of Proteome Research* 9, 2996–3004

7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

7.1. Συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής

Ο/Η δηλώνω τη συγκατάθεσή μου για τη συμμετοχή του παιδιού μου,, στην ερευνητική μελέτη με τίτλο «Μελέτη της εντερικής μικροχλωρίδας και των διατροφικών συμπεριφορών παιδιών με διαταραχή του φάσματος του αυτισμού» που διενεργείται από επιστημονικό προσωπικό του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, και συγκεκριμένα της Α' Παιδιατρικής Κλινικής και της Παιδοψυχιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία».

Κατανοώ πλήρως τη φύση και τον σκοπό της μελέτης και αντιλαμβάνομαι πως δεν υπάρχει κανένας απολύτως κίνδυνος από τη συμμετοχή του παιδιού μου στη μελέτη.

Κατά την διάρκεια συζήτησης με τον/την ιατρό ή/και τον/την ερευνητή/τρια είχα την ευκαιρία να κάνω ερωτήσεις για την μελέτη και μου δόθηκαν ικανοποιητικές απαντήσεις.

- **Οποιαδήποτε ερωτήματά μου** σχετικά με οποιαδήποτε διαδικασία της μελέτης προκύψουν στο μέλλον θα απαντηθούν πλήρως από τους επιστημονικούς συνεργάτες.
- Αν επιθυμώ, μπορώ να λάβω αναλυτικότερη περιγραφή των παραμέτρων που θα αξιολογηθούν και των μεθόδων που θα χρησιμοποιηθούν, οι οποίες **δεν ενέχουν κίνδυνο** για την υγεία του παιδιού μου.
- Διατηρώ το **δικαίωμα να διακόψω** ανά πάσα στιγμή τη συμμετοχή του παιδιού μου στη μελέτη, **χωρίς καμία επίπτωση** στην ιατρική του φροντίδα.
- Οποιαδήποτε πληροφορία που αφορά στο παιδί μου και σε αποτελέσματα των μετρήσεών του, τα οποία θα προκύψουν κατά τη διάρκεια της μελέτης, θα παραμείνουν **απόρρητα**.

Δηλώνω ότι υπογράφω αυτό το Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής με ελεύθερη βούληση και συμφωνώ να συνεργαστώ με εμπιστοσύνη και ειλικρίνεια με την ερευνητική ομάδα.

Η σημερινή ημερομηνία είναι/...../201...

Ο/Η κηδεμόνας

Ο/Η ερευνητής/τρια

(όνομα και υπογραφή)

(όνομα και υπογραφή)

7.2. Τροποποιημένο 3ήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων

ΠΡΙΝ ΤΟ ΦΑΓΗΤΟ		ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΦΑΓΗΤΟΥ		
Πολύ Ανήσυχος (ΠΑ)/ Πολύ Ήσυχος (ΠΗ) (σημειώστε πάνω στη γραμμή)		ΩΡΑ (πχ. 8:00-8:30)	ΤΡΟΦΙΜΟ (περιγραφή, μάρκα)	ΠΟΣΟ ΕΦΑΓΕ ? (πχ. ½ μερίδα, 1 φλιτζ.)
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς:		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		
ΠΑ	ΠΗ	Από: Εώς		

